

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Alimentaires  
Spécialité/Option : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

---

### Thème :

Analyse physico-chimique et bactériologique du lait de vache cru et du lait  
pasteurisé de la région de Guelma

---

Présenté par :

AYADI Roumayssa

TOUAHMIA Amira

Devant le jury composé de :

Président	Mr. GUETTAF.M	M.C. A	Université de Guelma
Examineur	Mr. MEZROUA. L	M.C. B	Université de Guelma
Encadrante	Mme. SOUIKI. L	Pr.	Université de Guelma
Co-encadrante	Mlle. LAOUAR. M	Doctorante	Université d'Annaba

Juillet 2021

## *Remerciements*

Tout d'abord, nous remercions Dieu de nous avoir accordé le succès dans l'accomplissement de ce travail et de nous avoir fourni la force, la patience et le courage.

Nous remercions également du fond du cœur notre Co-encadrante M<sup>lle</sup>. LAOUAR Meriem pour nous avoir guidées et données les conseils nécessaires afin d'accomplir ce travail et à qui on espère la réussite dans sa carrière scientifique.

Nous remercions aussi profondément :

Mr. GUETTAF.M qui a bien voulu honorer de sa présence et d'avoir accepté de présider le jury ainsi que Mr. MEZROUA.L, d'avoir examiné ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadrante Mme. SOUIKI Lynda pour avoir accepté de nous encadrer.

Nos remercions également Mr.GUEROUI Yacine qui nous a gentiment aidé et guidé au niveau du laboratoire.

Nous remercions Mr.FAIZI qui nous a ouvert les portes de sa ferme et grâce à qui nous avons réalisé cette analyse.

Enfin, un grand merci à Mme Bahia la technicienne du laboratoire (université 8 mai 1945Guelma) qui nous a fourni les conditions nécessaires au bon déroulement de notre travail.

## **Résumé**

Le lait possède une place importante dans l'alimentation de l'homme car ce dernier peut être consommé soit sous sa forme naturelle ou bien transformé (produits laitiers : fromages, yaourts, crèmes etc...).

Qu'il soit consommé cru ou après avoir subi un traitement thermique, le lait doit subir certains tests au laboratoire dans le but de confirmer si celui-ci est conforme aux normes ou si au contraire est altéré ou contaminé dans quel cas il pourrait provoquer une intoxication alimentaire à celui qui le consomme.

Le but de ce travail est l'analyse microbiologique et physico-chimique d'un échantillon de lait de vache cru prélevé à partir d'une ferme ainsi que l'analyse du lait pasteurisé au niveau de la région de Guelma en se référant aux normes AFNOR et celles citées par le JORA.

### **Mots clés**

Lait cru, lait pasteurisé, analyse physico-chimique, analyse bactériologique, qualité du lait, normes.

## **Abstract**

Milk has an important place in the human diet because it can be consumed in its natural form or processed (dairy products: cheeses, yoghurts, creams etc...).

Whether it is consumed raw or after having undergone a heat treatment, the milk must undergo certain tests in the laboratory in order to confirm if it is in conformity with the standards or if on the contrary is altered in which case it could cause a food poisoning to the one who consumes it.

The purpose of this work is the microbiological and physico-chemical analysis of a sample of raw cow's milk taken from a farm as well as the analysis of pasteurized milk in the region of Guelma with reference to the AFNOR standards and those cited by the JORA.

### **Key words**

Raw milk, pasteurized milk, physicochemical analysis, microbiological analysis, milk quality, standards.

## ملخص

يعتبر الحليب اهم منتج في التغذية عند الانسان لأنه يستهلك في صيغته الاصلية او في صيغته المحولة (منتجات الحليب: اجبان، ياغورت، كريمة... الخ).

سواء تم استهلاكه نيئاً أو بعد خضوعه للمعالجة الحرارية، يجب أن يخضع الحليب لاختبارات معينة في المختبر من أجل تأكيد ما إذا كان يتوافق مع المعايير أو على العكس من ذلك، قد تم تغييره أو تلوثه في هذه الحالة يمكن أن يتسبب في تسبب غذائي لمن يستهلكه.

الهدف من هذا العمل هو التحليل البكتريولوجي والفيزيائي الكيميائي لعينة من حليب البقر الخام المأخوذة من مزرعة والحليب كامل الدسم المبستر من ولاية قالمة بالرجوع الى المعايير المتمثلة في المنظمة العالمية للمعايير والمذكورة أيضا في الجريدة الرسمية للجمهورية الجزائرية

## الكلمات المفتاحية

الحليب الخام، الحليب المبستر، التحليل الفيزيائي الكيميائي، التحليل البكتريولوجي، جودة الحليب، المعايير

### Liste des abréviations :

- **CF** : Coliforme fécaux.
- **CT** : Cliforme totaux.
- **E.coli** : *Escherchia coli* .
- **MG** : matière grasse.
- **PCA**: Plate count agar.
- **pH** : potentiel d'hydrogène.
- **S.aureus** : *Staphyloccocus aureus*.
- **UFC** : Unité Formant Colonies.
- **UFT / ml** : Unité Formant Colonies par millilitre.
- **VF** : Viande Foie.
- **VRBL** : Violet Red Bile Lactose Agar.
- **°D** : degré Dornic
- **AFNOR** : Association Française de Normalisation
- **FAO**: Food and Agriculture Organization
- **FMAT** : flore mésophile aérobie totale
- **JORA** : journal officiel de la République Algérienne.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Composition du lait de vache .....	2
<b>Tableau 2:</b> La composition moyenne de la matière grasse du lait de vache .....	4
<b>Tableau 3:</b> Les principaux acides gras de la fonction lipidique du lait de vache (*).....	5
<b>Tableau 4:</b> Composition en acides aminés des caséines du lait .....	7
<b>Tableau 5:</b> Composition minérale du lait de vache.....	8
<b>Tableau 6:</b> Teneur moyenne des principales vitamines du lait.....	9
<b>Tableau 7:</b> La flore originale du lait cru .....	11
<b>Tableau 8:</b> résultat d'analyse physico-chimique du lait de vache cru.....	39
<b>Tableau 9:</b> Résultats des tests obtenus après recherche et mise en culture d' <i>Enterococcus</i> sp. .....	45
<b>Tableau 10:</b> Les résultats de l'analyse bactériologique du lait cru .....	49
<b>Tableau 11:</b> résultats de l'analyse physico-chimique du lait pasteurisé .....	51
<b>Tableau 12:</b> les résultats d'analyse bactériologique du lait pasteurisé .....	53

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> structure polaire de l'eau .....	3
<b>Figure 2:</b> Micelle de caséine et sous micelle de caséine .....	7
<b>Figure 3:</b> La structure biochimique d'une molécule de lactose. ....	10
<b>Figure 4:</b> Schéma récapitulatif des principaux facteurs de variation de la qualité du lait cru. .....	16
<b>Figure 5:</b> Lactoscan ULTRASONIC MILKANALYSER. ....	18
<b>Figure 6:</b> Recherche de la flore mésophile aérobie totale (FAMT). ....	21
<b>Figure 7:</b> Recherche des coliformes totaux et des coliformes fécaux. ....	23
<b>Figure 8:</b> Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	27
<b>Figure 9:</b> Recherche et dénombrement d' <i>Enterococcus</i> sp. ....	29
<b>Figure 10:</b> Recherche et de dénombrement des levures et de moisissures. ....	36
<b>Figure 11:</b> Colonies d' <i>E.coli</i> isolées à partir du lait cru (sur gélose Mac Conkey). ....	42
<b>Figure 12:</b> Observation microscopique d' <i>E.coli</i> objectif ×100 à l'immersion.....	43
<b>Figure 13:</b> <i>S. aureus</i> sur gélose Baird Parker en présence d'additifs. ....	43
<b>Figure 14:</b> <i>S. aureus</i> sur gélose Baird Parker en l'absence d'additifs. ....	44
<b>Figure 15:</b> observation microscopique de <i>S. aureus</i> (objectif ×100 à l'immersion) après coloration de Gram.....	44
<b>Figure 16:</b> Formation d'un trouble sur milieu Rothe due à la présence d' <i>Enterococcus</i> sp dans le lait cru.....	44
<b>Figure 17:</b> Présence de <i>Salmonella</i> sp sur Mac Conkey isolée à partir du lait cru. ....	46
<b>Figure 18:</b> observation microscopique de <i>Salmonella</i> sp objectif ×100 à l'immersion. ....	46
<b>Figure 19:</b> identification de <i>Salmonella</i> sp par galerie biochimique Api 20E. ....	47
<b>Figure 20:</b> Profil de l'espèce <i>Salmonella</i> sp obtenu à partir du logiciel d'identification.....	47
<b>Figure 21:</b> Recherche des clostridies sulfito-réductrices (gélose VF). ....	47
<b>Figure 22:</b> croissance des levures sur gélose Sabouraud donnant des colonies blanches (boite chargée/dilution 10 <sup>-1</sup> ) .....	48
<b>Figure 23:</b> colonies des moisissures ayant été obtenues sur gélose sabouraud (dilution 10 <sup>-6</sup> ) ( <i>Cladosporium</i> sp (à droite), <i>Saccharomyces</i> sp (à gauche en haut) et <i>Aspergillus</i> sp (à gauche en bas)) .....	48
<b>Figure 24:</b> Absence de trouble d' <i>Enterococcus</i> sp dans le lait pasteurisé. ....	52
<b>Figure 25:</b> la recherche des clostridies sulfito-réductrices. ....	52



# Sommaire

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction ..... 1

## Chapitre I : Revue Bibliographique

1. Définition du lait..... 2

2. La composition du lait de vache ..... 2

2.1. L'eau ..... 3

2.2. La matière grasse du lait..... 3

2.2.1. La matière grasse laitière ..... 6

2.3. Les protéines du lait ..... 6

2.3.1 La caséine..... 6

2.4. Les minéraux du lait ..... 8

2.5. Les vitamines du lait ..... 9

2.6. Les enzymes du lait..... 9

2.6.1 La lactoferrine ou LF ..... 9

3. La microbiologie du lait ..... 10

3.1. Origines des micro-organismes ..... 10

3.2. La flore originale ..... 11

3.3. La flore de contamination ..... 11

3.4. Les germes de contamination du lait ..... 12

3.4.1. La flore mésophile aérobie totale (FMAT)..... 12

3.4.2. Les coliformes totaux et les coliformes fécaux..... 13

3.4.2.1. Les coliformes totaux (CT) ..... 13

3.4.2.2. Les coliformes fécaux ..... 13

2.4.3. *Escherichia coli*..... 13

2.4.4. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
2.4.5. <i>Enterococcus sp</i> .....	13
2.4.6. <i>Salmonella sp</i> .....	14
2.4.7. Les Clostridies sulfito-réductrices .....	14
2.4.8. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	14
2.4.9. <i>Mycobacterium bovis</i> .....	14
2.4.10. <i>Bacillus sp</i> .....	14
2.4.11. <i>Brucella sp</i> .....	15
2.4.12. Les levures et les moisissures .....	15
2.4.12.1. Les levures.....	15
2.4.12.2. Les moisissures.....	15
3. Les facteurs de variation de la qualité du lait cru : .....	16

## Chapitre II : Matériel et méthodes

II. Matériel et méthode :.....	18
1. Point d'échantillonnage .....	18
2. Technique de prélèvement .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3. Qualité physicochimique du lait.....	18
3.1. Mesure de l'acidité titrable .....	18
4. Qualité microbiologique.....	19
4.1. Recherche de la flore mésophile aérobie totale(FAMT).....	20
A. Le milieu utilisé : La gélose PCA .....	20
B. Mode opératoire .....	20
C. Incubation : 24 à 72 h à 30°C.....	20
D. Lecture des résultats : Réalisée tous les jours (3 lectures).....	20
4.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux.....	22
A. Le milieu utilisé .....	22
B. Mode opératoire .....	22
C. Incubation .....	22
D. Lecture des résultats.....	22
4.3. Recherche d' <i>Escherichia coli</i> .....	23
E.1. La confirmation de l'espèce est réalisée par coloration de Gram .....	24
E.2. Test de l'oxydase .....	24
E.3. Teste de la catalase .....	25

4.4. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
A.Milieu de culture utilisé.....	25
B.Mode opératoire .....	25
C.Incubation .....	25
D.Lecture des résultats.....	25
4.5. Recherche d' <i>Enterococcus</i> sp.....	28
A.Milieu de culture utilisé.....	28
B.Mode opératoire .....	28
C.Incubation .....	28
D.Lecture des résultats.....	28
E.Test confirmatif.....	28
4.6. Recherche de <i>Salmonella</i> sp.....	30
A.Les milieux de culture et d'enrichissement utilisés .....	30
B.Mode opératoire .....	30
C.Incubation .....	30
D.Lecture des résultats.....	30
E.Confirmation.....	30
4.7. Recherche des clostridies sulfito-réductrices .....	33
A.Milieu de culture utilisé.....	33
B.Préparation des tubes.....	33
C.Incubation .....	33
D.Lecture des résultats.....	33
4-8. Recherche et dénombrement des levures et des moisissures .....	35
A.Milieu de culture utilisé.....	35
B.Lecture des résultats .....	35

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

III. Résultats et discussion.....	39
Le lait cru.....	39
1.Analyse physico-chimique du lait cru .....	39
2.Interprétation des résultats physico-chimiques obtenus pour le lait de vache cru.....	39
3.Analyse bactériologique du lait cru.....	41
3.1.La flore mésophile aérobie totale(FAMT).....	42
3.2. Les coliformes totaux et les coliformes fécaux.....	42

3.2.1. Les coliformes fécaux .....	42
3.1.1.Les coliformes totaux .....	42
3.2. <i>Escherichia coli</i> .....	42
3.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
3.5. <i>Salmonella sp</i> .....	46
3.6.Les clostrides sulfito-réductrices.....	47
3.7.Les levures et les moisissures .....	48
4.Interprétation des résultats bactériologiques obtenus pour le lait de vache cru .....	49
Le lait pasteurisé .....	51
1.Analyse physico-chimique du lait pasteurisé.....	51
2.Interprétation des résultats d'analyse physico-chimique du lait pasteurisé.....	51
3.Résultat d'analyse bactériologique du lait pasteurisé.....	52
3.1.La flore mésophile aérobie totale(FAMT).....	52
3.2.Les coliformes totaux et les coliformes fécaux .....	52
3.2.1.Les coliformes fécaux .....	52
1.2.2.Les coliformes totaux .....	52
3.3. <i>Enterococcus sp</i> .....	52
3.4.Clostrides sulfitoréductrices .....	52
4.Interprétation des résultats bactériologique du lait pasteurisé.....	53
Conclusion .....	54
Références bibliographiques.....	55
Annexe	

# **Introduction**

## **Introduction**

Le lait et les produits laitiers sont des aliments d'origine animale. Ces derniers sont riches en protéines, en calcium et en vitamines ce qui leur confère une très haute valeur nutritionnelle. **(Konte, 1999).**

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de trois milliards de litres par an. Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part des protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière lait connaît une croissance annuelle de 8 % en Algérie **(Hamiroune., et al, 2014).**

La consommation algérienne du lait connaît une évolution croissante depuis l'Indépendance, la poussée démographique ainsi que l'amélioration du niveau de vie de la population induit une forte demande de ce produit de base **(Remane., et al 2016).**

Cela dit, du fait qu'il soit riche en nutriments, il constitue un excellent milieu de culture pour les micro-organismes, en dégradant ses composants (protéines, lipides, lactose), les microorganismes peuvent libérer des composés indésirables et entraîner des transformations de cette matière première **(Kizi., et al, 2014).**

En effet, le lait est considéré comme étant un milieu biologique complexe, celui-ci est constitué de tous les composants nécessaires au développement microbien. Sa qualité peut donc être affectée en présence de microorganismes. Cette présence microbienne indésirable et cette contamination peuvent être dues à plusieurs facteurs (pendant ou après la traite). Pour cela, certaines mesures doivent être prises en compte afin d'assurer l'obtention d'un produit de qualité **(Bouarissa., et al, 2020).**

L'objectif de ce travail est de vérifier la conformité de la qualité du lait par une analyse physico-chimique et bactériologique du lait de vache cru de la région de Boumahra Ahmed-Guelma au niveau de la ferme de Mr.FAIZI et du lait pasteurisé commercialisé au niveau du marché de la Wilaya de Guelma.

# **Chapitre I :**

# **Revue Bibliographique**

## 1. Définition du lait

Le lait est un aliment sécrété au niveau des glandes mammaires des mammifères, c'est un aliment complet fournissant de l'énergie à celui qui le consomme (nouveau-nés...) (**Jeantet., et al, 2007**).

Il renferme des nutriments essentiels et est une source importante d'énergie alimentaire. Il contient des protéines et de la matière grasse et peut donc être utilisé et transformé en une variété de produits laitiers (produits fermentés, fromages, crèmes, beurre, etc.) (**FAO**).

Le lait cru ne peut être conservé pendant de longues périodes du fait qu'il soit un aliment périssable. Ce dernier est très vite altérable par les microorganismes en raison de sa composition : En effet, certaines bactéries sont responsables de la production d'acide lactique à partir du lactose. De plus, le lait peut contenir des microorganismes pathogènes pour l'homme (**Jeantet., et al, 2007**).

## 2. La composition du lait de vache

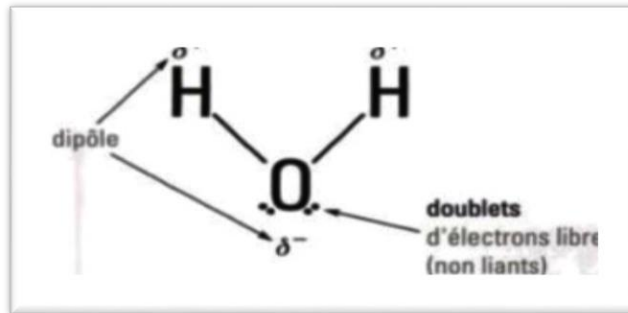
**Tableau 1:** Composition du lait de vache (**Jeantet., et al, 2007**).

	Composition (g/l)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre plus eau liée (3,7%)
Glucides (lactose)	49	Solution
Lipides	35	Émulsion des globules gras (345 Um)
Matière grasse proprement dite	34	
Lécithine (phospholipides)	0,5	
Insaponifiable (stérol, carotènes, tocophérols)	0,5	
Protéine	34	Suspension micellaire phosphocaseinate de calcium (0,08 à 0,12 Um) Solution (colloïdale) Solution (vraie)
Caséine	27	
Protéine « solubles » (globuline, albumines)	2,5	
Substance azotée non protéiques	1,5	
Sels	9	Solution ou état colloïdal
Acide citrique (en acide)	2	
Acide phosphorique (P <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	2,6	
Acide chlorhydrique (NaCl)	1,7	
Constituants divers (Vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	



## 2.1. L'eau

Proportionnellement, l'eau est l'ingrédient le plus important du lait. L'existence du dipôle et du double pic d'électrons libres le rend polaire. Cette caractéristique de polarité lui permet de former de vraies solutions avec des substances polaires telles que les glucides, les minéraux et les protéines, telles que des solutions colloïdales avec des protéines. (Vignola, 2002).



**Figure 1** : structure polaire de l'eau(Vignola,2002).

## 2.2. La matière grasse du lait

La teneur en matière grasse du lait varie entre 3,3 et 4,7% (p/p), selon la variété, le stade de lactation, la saison, etc. La matière grasse du lait se présente principalement sous forme de globules gras d'un diamètre compris entre 0,2 et 15 µm. Environ 75% des globules gras ont une taille inférieure à 1 µm, mais représentent moins de 10% du volume total de la matière grasse laitière. De même, le nombre de globules gras de plus de 8 µm est très faible, représentant moins de 3% de ce volume. Par conséquent, il a été constaté que près de 90% de la matière grasse du lait est contenue dans les globules gras et que la taille des globules gras varie entre 1 et 8 µm.

Le diamètre moyen des globules gras est d'environ 4 µm. Le cœur du globule gras contient presque tous les lipides neutres, tandis que la membrane du globule gras est composée de lipides complexes, mais aussi de protéines (Jeantet., et al, 2007).

**Tableau 2:** La composition moyenne de la matière grasse du lait de vache (Chrisitie,1995).

<b>Classes de lipides</b>	<b>pourcentage des lipides totaux (%)</b>
Triacylglycérols	97,5
Diacylglycérols	0,36
Monoacylglycérols	0,027
Acides gras libres	0,027
Phospholipides	0,6
Vitamines liposolubles	0,01
Cholestérol	0,31
Caroténoïdes	0,008
Hydrocarbures	Traces

**Tableau 3:** Les principaux acides gras de la fonction lipidique du lait de vache (\*) (**Alais., et al, 2008**).

Catégories		Nombre d'atomes de carbone	Proportion (% du total)	Etat physique à 20°C
<p>I. Acide gras saturés  <math>\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{n-2}-\text{COOH}</math></p> <p>A. Volatils solubles</p> <p>B. Volatils insolubles</p> <p>C. fixes</p>	Butyrique	C <sub>5</sub>	3 à 4 (tr)	Liquide
	Caproïque	C <sub>6</sub>	2 à 5 (tr)	Liquide
	Caprylique	C <sub>8</sub>	1 à 1,5 (tr)	Liquide-solide
	Caprique	C <sub>10</sub>	2 (2)	Solide
	Laurique	C <sub>13</sub>	3 (8)	Solide
	Myristique	C <sub>14</sub>	11 (10)	Solide
	Pentadécanoïque	C <sub>15</sub>	1,5	Solide
	Palmitique	C <sub>16</sub>	25 à 30 (23)	Solide
	Stéarique	C <sub>18</sub>	12 (7)	Solide
	Arachidique	C <sub>20</sub>	0,2	Solide
<p>II. Acide gras insaturés</p> <p>A. Monoènes <math>\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_z-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_y-\text{COOH}</math></p>	Palmitoléique	C <sub>16</sub>	2 (5)	Liquide
	Oléique	C <sub>18</sub>	23 (35)	Liquide-solide
	Vaccénique (trans)	C <sub>18</sub>	2 à 3	Solide
<p>B. Polyinsaturés non conjugués</p> <p><math>-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{---}-\text{COOH}</math></p>	Linoléique	C <sub>18</sub>	2 (8.5)	Liquide
	$\alpha$ -linoléique	C <sub>18</sub>	0,5 (2)	Liquide
	Arachidonique	C <sub>20</sub>	0,3	Liquide
<p>C. Polyinsaturés conjugués</p> <p><math>-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{---}-\text{COOH}</math></p>	Diène	C <sub>18</sub>	0,8	Liquide
	Triène et tétraéane	C <sub>18</sub>	Tr	Liquide

(\*) entre parenthèses, quelques moyennes (moins significatives) pour le lait humain ; (tr) : traces

### 2.2.1. La matière grasse laitière

La matière grasse laitière se caractérise par :

- une forte proportion en acides gras à courte chaîne (chaînes carbonées de 4 à 10 carbones) synthétisés à partir de l'acétate et du  $\beta$ - hydroxybutyrate produits par les microorganismes lors de la dégradation de la cellulose dans le rumen. Ces acides gras sont préférentiellement estérifiés en position Sn3 des triacylglycérols. Ils sont facilement libérés par l'action des lipases naturelles du lait ou des lipases microbiennes et participent activement à l'arôme des produits laitiers.
- une forte proportion d'acides gras saturés (à 14, 16 et 18 atomes de carbone) dont une partie provient de l'hydrogénation dans le rumen des acides gras insaturés d'origine alimentaire ;
- des acides gras insaturés qui proviennent soit de l'alimentation, soit de la désaturation des acides gras saturés par la  $\Delta^9$  - désaturase dans les cellules épithéliales ;
- des acides gras insaturés dont les doubles liaisons sont en configuration trans et/ou conjugués qui proviennent de l'hydrogénation des acides gras contenus dans la ration alimentaire par les microorganismes ;
- la présence d'acides gras d'origine bactérienne (acides gras à nombre impair de carbones, acides gras branchés) (**Jeantet., et al, 2007**).

### 2.3. Les protéines du lait

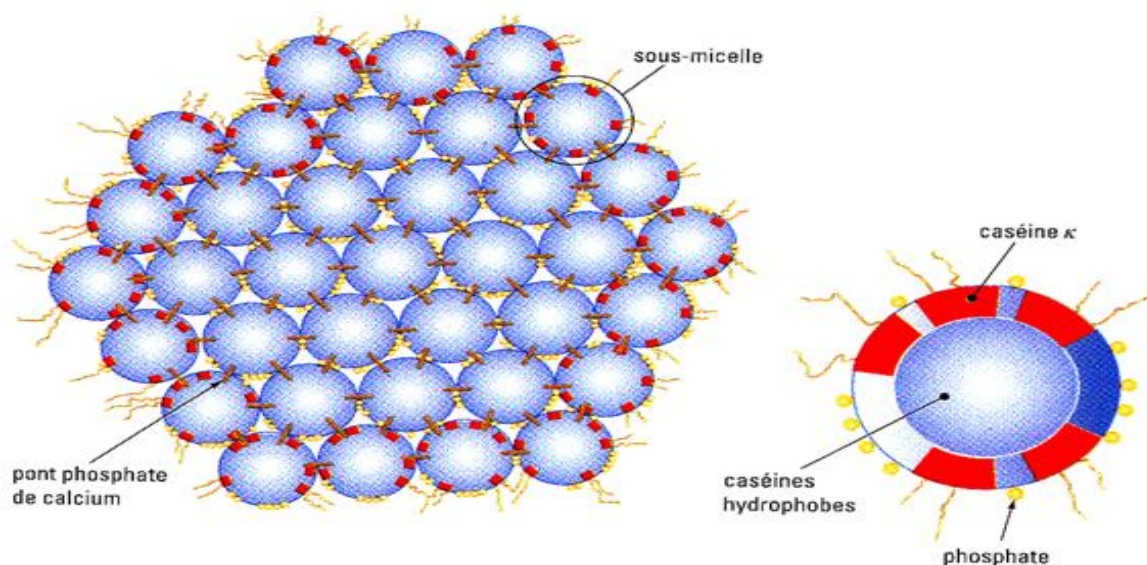
Le lait contient de 3,2% à 3,5% (p/p) de protéines, divisées en deux parties différentes :

- la caséine : celle-ci précipite à pH 4,6 et représente 80% des protéines totales.
- les protéines sériques : étant solubles à pH 4,6. Elles représentent 20% des protéines totales.

L'industrie a utilisé cette propriété de précipitation différentielle pour préparer de la caséine acide. La caséine est organisée sous forme de micelles, et la participation d'éléments minéraux colloïdaux se fait principalement sous forme de phosphate de calcium (**Jeantet., et al, 2007**).

#### 2.3.1 La caséine

Le terme caséine fait référence à un mélange hétérogène de protéines phosphorylées. Est de petite taille. L'abondance de ces protéines dans l'acide aspartique et l'acide glutamique et dans les ions phosphate donne au complexe protéique une acidité (**Lafitedupont, 2011**).



**Figure 2:** Micelle de caséine et sous micelle de caséine (vignola, 2002).

La caséine ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ ) est présente dans le lait dans des proportions de 37, 10, 35 et 12% (p/p) respectivement et est synthétisée par 4 gènes différents. L'existence de nombreuses variantes dues à des différences de polymorphismes génétiques et à des modifications post-traductionnelles (phosphorylation, glycosylation) augmente la diversité des protéines.

La caséine est une petite protéine d'un poids moléculaire de 19 à 25 kDa. Ils ont une proportion élevée d'acides aminés non polaires et une distribution inégale des acides aminés chargés (tableau 4), ce qui les rend amphipathiques (Jeantet., et al, 2007).

**Tableau 4:** Composition en acides aminés des caséines du lait (Jeantet., et al, 2007).

	Caséine			
	$\alpha^1(B)$	$\alpha^2(A)$	$\beta(A)$	$K$
Asp	7	4	4	4
Glu	24	25	18	13
Asn	8	14	5	7
Gln	15	15	21	14
Thr	5	15	9	14
Ser	8	6	11	12
Serp	8	11	5	1
Pro	17	10	35	20
Gly	9	2	5	2
Ala	9	8	5	15
Val	11	14	19	11

Ile	11	11	10	13
Leu	17	13	22	8
Phe	8	6	9	4
Tyr	10	12	4	9
Met	5	4	6	2
Cys	0	0	0	0 ou 2
Cystine/2	0	2	0	2 ou 0
Lys	14	24	11	9
His	5	3	5	3
Arg	6	6	4	5
Trp	2	2	1	1
Total	199	207	209	169

#### 2.4. Les minéraux du lait

Le lait est très riche en minéraux divers : Calcium, phosphore, sodium, potassium, chlore, magnésium, zinc, fer, sélénium ...etc. Le plus abondant étant le calcium,

Le lait de vache contient des minéraux dont les deux tiers sont retrouvés sous forme colloïdale, ce qui joue peu sur la pression osmotique (**Lafitedupont, 2011**).

**Tableau 5:** Composition minérale du lait de vache (**Gaucheron, 2005**).

Minéral	Concentration (mg · kg <sup>-1</sup> )	Concentration (mmol · kg <sup>-1</sup> )
Calcium	1043–1283	26–32
Magnésium	97-146	4–6
Phosphate inorganique	1805–2185	19-23
Phosphore total	930–992	30–32
Citrate	1323–2079	7–11
Sodium	391–644	17-28
Potassium	1212–1681	31–43
Chlorure	772–1207	22–34

## 2.5. Les vitamines du lait

Les vitamines sont des substances essentielles car elles participent aux réactions enzymatiques en tant que cofacteurs et participent également à l'échange à l'échelle des membranes cellulaires.

L'organisme de l'homme ne peut les synthétiser et doivent donc lui être fournis via l'alimentation (où elles sont présentes en très faibles quantités)

**Tableau 6:** Teneur moyenne des principales vitamines du lait (vignola,2002).

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamine liposoluble : Vitamine A (+ carotènes)	40µg/100 ml
Vitamine D	2,4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	5µg/100ml
Vitamines hydrosolubles : Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	1 75 µg/1 00ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0,45 µg/1 00ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350µg/1 00ml
Acide folique	5,5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3,5µg/100ml

## 2.6. Les enzymes du lait

### 2.6.1 La lactoferrine ou LF

La lactoferrine bovine est une glycoprotéine de 80 000 Da. Elle est constituée de 689 acides aminés et de 7,2 % de glucides (Lafitedupont, 2011).

Cette protéine contient au sein de sa structure tous les acides aminés naturels.

Cette enzyme possède plusieurs fonctions : activité antimicrobienne, immuno-modulatrice, effet anti-tumoral, absorption du fer et croissance osseuse (Pierce., et al, 2009).

## 2.6.2. La lactoperoxydase ou LP

La lactoperoxydase est une enzyme présente naturellement dans le lait (FAO., OMS, 2005).

C'est une glycoprotéine composée de 612 acides aminés et de 78000 Da, elle possède un hème lié à la partie protéique par des liaisons disulfures. Cette enzyme possède sept liaisons disulfures et un atome de fer par molécule. Sa teneur dans le lactosérum est de 0,070 g/L

Cette dernière possède un rôle bactériostatique en présence de peroxyde d'hydrogène et de thiocyanate, l'activation du système LP retarde la croissance des bactéries psychrotrophes (Lafitedupont, 2011).

## 2.7. Les glucides

La majorité des glucides possèdent la formule chimique suivante  $C_n(H_2O)_n$

Le lait contient des glucides libres (principalement du lactose) ainsi que des glucides liés aux protéines (Fernane, 2017).

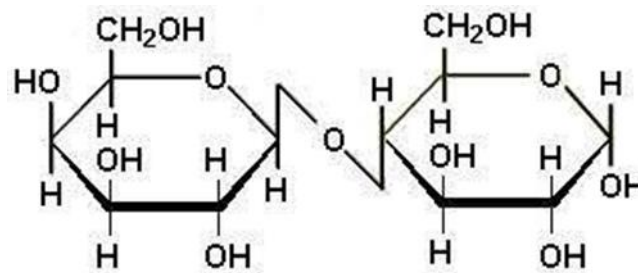


Figure 3: La structure biochimique d'une molécule de lactose.

## 3. La microbiologie du lait

Le lait (pH= 6,5) est un milieu favorable à la croissance des microorganismes. En effet, il permet aux bactéries, aux levures et aux moisissures de s'y développer. C'est donc une denrée très périssable (Nouale, 2001), ceci est dû à la richesse de sa composition en matière grasse, en lactose, en protéines, en minéraux, en vitamines et en eau (à 87 %) le rendant susceptible d'être altéré et attaqué par différents types de microorganismes (Guiraud, 2003).

Le lait ne doit pas contenir de bactéries pathogènes. Leur présence peut y représenter une menace pour la santé du consommateur.

À sa sortie du trayon, le lait est généralement de bonne qualité mais commence aussitôt à se dégrader dû à l'action des bactéries pouvant provenir de différentes sources de contamination (vignola, 2002).

### 3.1.Origines des micro-organismes

En domaine alimentaire, il existe trois sources possibles dû à la présence de microorganismes dans un aliment. Ils sont soit :

- Préexistants dans les matières premières ou dans la manipulation ou la transformation des aliments.
- Ajoutés accidentellement lors de la transformation ultérieure des aliments.



-Ajoutés volontairement (Naouale, 2001).

### 3.2.La flore originale

Lorsque le lait provient d'animaux sains et est collecté dans des conditions stériles, sa teneur est inférieure à 5000 UFC/ml. Les protozoaires des produits laitiers sont définis comme étant l'ensemble des micro-organismes présents dans le lait à la sortie de la mamelle. Ces microorganismes sont plus ou moins étroitement liés à des facteurs tels que l'alimentation, la race...etc (Kabir, 2015).

Le lait extrait d'animaux sains (moins de 1000 germes/ml), contient très peu de micro-organismes.

Il s'agit principalement de bactéries saprophytes : *Micrococcus lactis* (*Lactococcus* sp) et *Lactobacillus*. Le lait cru confère aux bactéries une protection en inhibant des substances appelées "protéines du lait", mais leur effet est très court (environ 1 heure).

D'autres microorganismes pathogènes peuvent également être retrouvés dans le lait : ceci étant dû à des pathologies liées aux bovins telles que les mammites (infections au niveau des mamelles) induisant la présence de *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium* sp dans le lait. *Staphylococcus aureus* peut être également présent en cas de mammites. Il peut aussi s'agir d'une infection systémique bactérienne, qui peut pénétrer dans le lait maternel sans anomalie mammaire.

Le lait peut également contenir des bactéries telles que : *Salmonella* sp ; *Brucella* sp (causant la fièvre de malte), et exceptionnellement *Listeria monocytogenes* (agent de la listériose); *Mycobacterium* sp (agent de la tuberculose), *Bacillus anthracis* (responsable de la maladie du charbon), *Coxiella burnetti* (agent de la fièvre Q « Query fever ») et quelques virus.

Les germes banaux du pis ne présentent pas de danger sanitaire mais peuvent se développer abondamment dans le lait. Les autres peuvent être responsables de maladies ou d'intoxications graves qui sont généralement limitées par la surveillance vétérinaire (Guiraud, 2003).

**Tableau 7:** La flore originale du lait cru (Bachtarzi, 2012).

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus</i> sp	30-90
<i>Lactobacillus</i> sp	10-30
<i>Streptococcus</i> sp ou <i>Lactococcus</i> sp	<10
Gram négatif	<10

### 3.3.La flore de contamination

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation.

Elle peut être constituée :

- D'une flore d'altération, qui causera, dans ce cas, des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits.
- D'une flore pathogène capable de provoquer des malaises chez les personnes consommant ces produits laitiers. On considère comme flore d'altération et pathogène du lait l'ensemble des microorganismes qui s'ajoutent au lait extrait du pis de la vache.

Remarque : La contamination à l'étable reste la plus importante de toutes (**kabir, 2015**).

La présence de microorganismes indésirables dans le lait peut être due à différentes sources de contamination :

- Les fèces et les téguments de l'animal induisent la présence des : Coliformes, des entérocoques, de *Clostridium* sp, et éventuellement la présence des entérobactéries pathogènes (*Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Yersinia* sp), etc.

- Le sol : *Streptomyces* sp, *Listeria* sp, les bactéries sporulées, les spores fongiques, etc.

- La litière et l'alimentation induisent la présence de la flore banale variée, en particulier les lactobacilles, *Clostridium butyricum* (ensilage).

- L'air et l'eau induisent la présence de flores diverses dont *Pseudomonas* sp, les bactéries sporulées, etc.

- L'équipement de traite et de stockage du lait peut induire la présence de microcoques, de levures et de la flore lactique (*Streptococcus* sp, *Lactococcus* sp, *Enterococcus* sp), *Leuconostoc* sp, etc. Cette flore étant souvent spécifique d'une usine.

- Le manipulateur : Présence des staphylocoques (dans le cas d'une traite manuelle). Ce dernier peut également contaminer le lait par des germes provenant d'expectorations, de contaminations fécales, etc.

- vecteurs divers (insectes en particulier) : Contamination par des germes fécaux.

D'un point de vue sanitaire, certains de ces microorganismes sont inoffensifs, d'autres peuvent seulement provoquer une altération-détérioration de la qualité du lait, tandis que d'autres peuvent être dangereux pour le consommateur en cas d'ingestion (Guiraud, 2003).

- Contamination au cours du transport : La collecte et le transport sont effectués par des camions-citernes réfrigérés qui récoltent régulièrement le lait à la ferme. Ces derniers doivent respecter certaines normes afin de fournir un lait de bonne qualité. Une mauvaise réfrigération pendant le transport entraîne une baisse de la qualité, ce qui aura un impact majeur sur la qualité du lait et entraînera également des pertes économiques (**bachtarzi, 2012**).

L'ajout volontaire : Certains aliments, comme le yaourt, sera inoculé par "fermentation", les bactéries le plus souvent utilisées sont les bactéries lactiques (Naouale, 2001).

### **3.4.Les germes de contamination du lait**

#### **3.4.1. La flore mésophile aérobie totale (FMAT)**

La flore mésophile aérobie totale est un groupe de micro-organismes capables de se reproduire dans l'air à des températures modérées. Leur température optimale de croissance se situe entre 25 et 40°C (**Gassama, 2002**).

### 3.4.2. Les coliformes totaux et les coliformes fécaux

#### 3.4.2.1. Les coliformes totaux (CT)

Sont traditionnellement définis selon leurs caractéristiques phénotypiques, par exemple, la capacité à fermenter le lactose en produisant du gaz et un acide, qui se caractérisent comme suit : anaérobies facultatifs, Bacilles Gram négatif, non sporulés, lactose fermenté en 48 heures à 35°C avec production de gaz et d'acide (**santé Canada**)

#### 3.4.2.2. Les coliformes fécaux

**Selon l'Institut national de la santé publique du Québec :** Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, forment un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C.

#### 2.4.3. *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des entérobactéries et tire son nom du fait qu'il soit souvent isolé à partir du tube digestif et/ou des excréments des mammifères. Les entérobactéries sont un grand groupe de bactéries rencontrées quotidiennement en bactériologie médicale (**Barka, 2012**).

La famille des Entérobactéries se définit par les caractères suivants :

- Bacilles à Gram négatif (2 à 4 µm de long sur 0.4 à 0.6µm de large)
  - Immobilés ou mobiles grâce à des flagelles disposés de manière péritriche
  - Poussent sur milieu ordinaire ; aérobies-anaérobies facultatifs ; réduisent le nitrate en nitrite
- Ont une réaction d'oxydase négative ; utilisent le glucose par voie fermentaire (**Barka, 2012**).

#### 2.4.4. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des organismes peu exigeants, ils ont un métabolisme aérobie facultatif et sont faciles à cultiver sur des milieux de culture ordinaires au laboratoire à 37°C. Ces bactéries présentent une activité catalasique, ce qui les distingue des streptocoques (**Bergon, 2016**).

*S. aureus* est une bactérie sphérique (coquille). Sous microscope optique, les cellules apparaissent sous formes de grappes de raisin (**Accarias, 2014**).

#### 2.4.5. *Enterococcus sp*

Ce sont des bactéries à Gram positif, non sporulées, qui se présentent sous forme de cocci isolés. Ce sont des anaérobies aérotolestants caractérisés par une oxydase et une catalase négative.

Leur température d'incubation est de 35°C, bien que la plupart des espèces de ce genre puissent croître à des températures allant de 10 à 45°C (**Isnard, 2017**).

#### 2.4.6. *Salmonella* sp

les salmonelles sont des bacilles Gram négatif non sporulés, proche d'*Escherichia coli*, dont la mobilité propre est assurée par des flagelles péritriches (à l'exception de *S. gallinarum* qui n'en possède pas)

Ce sont des aéro-anaérobies. Ces bâtonnets de 2 à 3 µm de long sont des bactéries mésophiles, ces bactéries réduisent les nitrates en nitrites ; sont oxydase négative et peuvent se contenter de citrate comme source de carbone. Sur milieu TSI, cette bactérie est connue pour fermenter le glucose uniquement avec production de gaz ; la synthèse d'H<sub>2</sub>S étant réalisée par certaines souches en particulier (David, 2009).

#### 2.4.7. Les Clostridies sulfito-réductrices

**Selon le journal officiel de la république algérienne 2013 :** *Clostridium* sp est une bactérie appartenant à la famille des *Bacillaceae*. Cette dernière est anaérobie stricte, sporulée et est sulfito-réductrice (réduit le sulfite en sulfure d'hydrogène)

#### 2.4.8. *Listeria monocytogenes*

**Selon l'anses :** *Listeria monocytogenes* est responsable de la listériose, une maladie qui touche aussi bien l'homme que les animaux.

Le genre *Listeria* comporte à ce jour 21 espèces mais seules 2 espèces sont pathogènes pour l'homme et les animaux dont *L.monocytogenes*.

*L. monocytogenes* est un petit bacille (0,5 - 2 µm x 0,5 µm), Gram positif, isolé ou en chaînettes, mobile entre 20 et 25°C et immobile à 37°C. non sporulé. Anaérobie facultative et micro-aérophile, catalase positive (exceptées de rares souches).

Cette bactérie hydrolyse l'esculine, est oxydase négative et fermente de nombreux glucides sans production de gaz.

#### 2.4.9. *Mycobacterium bovis*

Les mycobactéries se présentent sous forme de bâtonnets droits ou légèrement incurvés (0,2-0,6 x 1,0-10µm), non mobiles et ne sporulant pas. Les colonies observées sont de couleur blanche à crème, voire jaune à orangée pour les mycobactéries productrices de pigments. Elles fixent difficilement la coloration de Gram, et bien qu'elles soient apparentées aux bactéries Gram +, leur qualification exacte est « Bacilles Acido-Alcool-Résistants (BAAR) » car lors de la coloration, leur enveloppe particulière résiste à la décoloration à l'alcool et à l'acide. (Barbier, 2016).

*Mycobacterium bovis* est l'agent causal de la tuberculose bovine. Cependant, il peut également provoquer des cas de tuberculose chez l'homme et d'autres mammifères (Hauer, 2015).

#### 2.4.10. *Bacillus* sp

Les bactéries du genre *Bacillus* sont des bactéries aérobies sporulantes très répandues dans le sol, l'eau naturelle et l'air, où elles participent à diverses transformations chimiques. Ce sont des bâtonnets de tailles diverses qui forment des colonies de formes variées. Leur capacité à former des spores leur permet de résister aux conditions défavorables.

Ils sont à Gram positif en phase exponentielle de croissance, la plupart des catalases sont positives, l'oxydase est positive ou négative, aérobies ou anaérobies facultatifs, psychrophiles, mésophiles ou thermophiles, immobiles ou périphériques. Les cils capillaires bougent. Ils sont hétérotrophes et tirent leur énergie à partir de divers composés organiques par fermentation ou par respiration. (Sawadogo, 2013).

#### **2.4.11. *Brucella* sp**

*Brucella* sp est une bactérie cocci Gram négatif d'une taille de 0,6 à 1,5 µm x 0,5 à 0,7 µm, immobile, asporulée et acapsulée.

Ces bactéries sont catalase, oxydase et de la nitrite réductase positives. La plupart des espèces peuvent hydrolyser l'urée. *Brucella* peut survivre pendant des semaines voire des mois en environnement, ainsi que dans certains aliments (la viande et les produits laitiers) (Holzapfel, 2018).

Selon l'anses, *Brucella* est l'agent causal de la brucellose : une maladie infectieuse et contagieuse chez les animaux et pouvant être transmise à l'homme.

#### **2.4.12. Les levures et les moisissures**

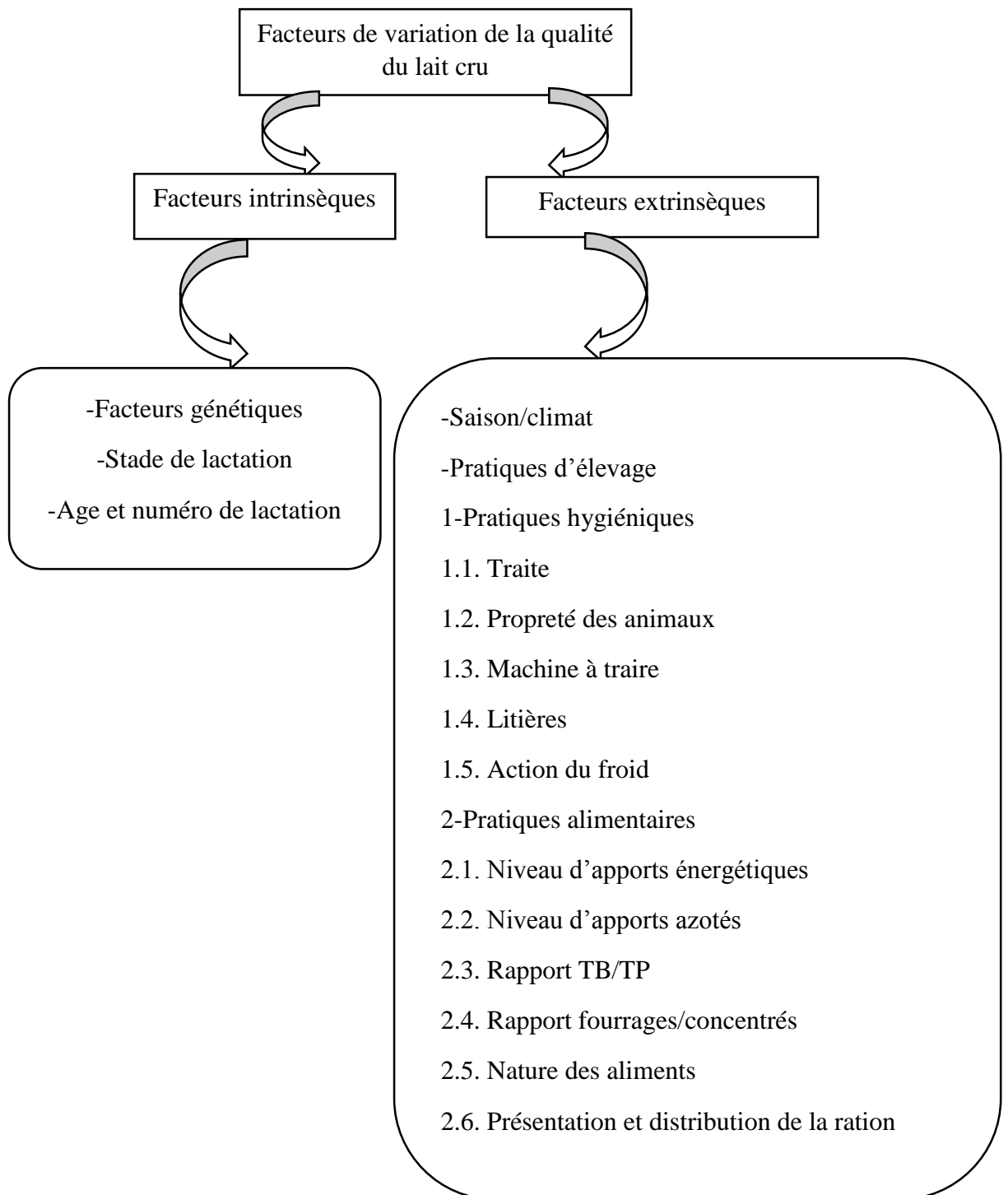
##### **2.4.12.1. Les levures**

Les levures sont des micro-organismes eucaryotes, non photosynthétiques, chimiquement hétérotrophes et des champignons unicellulaires immobiles. Les cellules de levure sont les organes végétatifs les plus simples. Elles n'ont pas de racines ou de tiges, pas de branches ressemblant à des feuilles. Leur morphologie est importante en taxonomie. Les alvéoles sont généralement ovales ou sphériques, et parfois cylindriques, allongées, pointues ou de formes plus spécifiques : ovale, en bouteille ou en citron (*Hanseniaspora* sp) Elles mesurent environ 20 µm de long et 1 à 1 de large. La levure sont plus volumineuses comparées aux bactéries (100 fois plus) (Hencké, 2000).

##### **2.4.12.2. Les moisissures**

Les moisissures sont des champignons microscopiques, ubiquistes à croissance filamenteuse qui regroupent des milliers d'espèces. Ce sont des saprophytes dont le rôle est de dégrader la matière organique morte ou parfois vivante (Salimi, 2011).

### 3. Les facteurs de variation de la qualité du lait cru :



**Figure 4:** Schéma récapitulatif des principaux facteurs de variation de la qualité du lait cru. (Kaouche, 2019).

# **Chapitre II :**

## **Matériel et méthodes**

## **II. Matériel et méthode :**

### **1. Echantillonnage**

Pour le lait de vache cru : un échantillon a été prélevé lors de la première traite matinale au niveau de la région de Boumahra Ahmed à Guelma.

Pour le lait pasteurisé : Un sachet de lait entier pasteurisé de la marque Safia récemment commercialisé (au niveau de la wilaya de Guelma) a été utilisé pour les analyses au laboratoire.

-Pour le prélèvement, des flacons propres et stérilisés (à col large) ont été nécessaires. Ces derniers ont été préalablement stérilisés au four Pasteur (180°C pendant 1h).

-Une fois le prélèvement réalisé, les flacons sont maintenus à 4°C pendant le transport en direction du laboratoire.

L'analyse des deux types de lait a été réalisée au mois d'avril :

4 prélèvements ont été réalisés pour l'analyse du lait cru mais un seul a été retenu pour l'analyse au laboratoire.

De manière générale, la qualité hygiénique de la ferme est bonne et les vaches sont propres et bien entretenues.

### **3. Qualité physicochimique du lait**

Pour l'analyse physicochimique des deux types de laits étudiés, le lactoscan ULTRASONIC MILKANALYSER a été utilisé pour la mesure des paramètres suivants :

- Le pH, la température, la densité, la matière grasse, le taux de lactose, de protéines, le point de congélation, les sels minéraux, la matière sèche, la quantité d'eau, et la conductivité.



**Figure 5:** Lactoscan ULTRASONIC MILKANALYSER.

#### **3.1. Mesure de l'acidité titrable**

Le lait de vache est légèrement acide en ce sens qu'il faut lui ajouter une solution basique pour le neutraliser, plus précisément pour entraîner le changement de couleur d'un indicateur coloré. L'acidité du lait est une acidité de titration.

L'acidité du lait est exprimée en degré Dornic sachant que :



1 °D = 0,1 g d'acide lactique par litre de lait (**Mathieu, 1998**)

L'acidité titrable est mesurée par titrage avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) de normalité N/9 en utilisant également de la phénophtaléine (à 1%) comme indicateur coloré.

Les résultats sont exprimés en degré Dornic (**AFNOR 1980**).

- La quantité de lait analysée est égale à 10 ml.
- Mesure de la quantité d'NaOH nécessaire pour neutraliser l'acide lactique
- Déduire la valeur de l'acidité :  $C_a V_a = C_b V_b$

$$C_a = C_b V_b / V_a$$

$$C_a = C_b \times 10$$

#### 4. Qualité microbiologique

L'analyse microbiologique permet la recherche et la caractérisation des microorganismes pathogènes potentiellement présents dans le lait cru et le lait pasteurisé.

Les bactéries ayant été recherchées sont les suivantes :

- La flore mésophile aérobie totale (FAMT)
- Les coliformes totaux et les coliformes fécaux
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Enterococcus* sp
- *Salmonella* sp
- *Clostridium* sulfito-réducteur
- Les levures et les moisissures

##### **Etape 1** : Préparation de la gamme de dilution

- Diluant utilisé : Tryptone sel (TSE)

-Près du bec Bunsen, 7 tubes à essai stériles sont tout d'abord remplis de 9 ml de diluant préalablement préparé et stérilisé afin d'obtenir une gamme de dilution allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-7}$

- 1 ml de l'échantillon initial est prélevé après homogénéisation et introduit dans le premier tube (dilution  $10^{-1}$ ).

- à partir de la première dilution, 1ml est prélevé avant d'être introduit dans le second tube de la gamme de dilution ( $10^{-2}$ ).

L'opération est répétée jusqu'à obtenir la dernière dilution.

#### **4.1. Recherche de la flore mésophile aérobie totale (FAMT)**

Le mode opératoire cité ci-dessous est extrait de la norme suivante : **NF V 08-051**.

**A. Le milieu utilisé :** La gélose PCA

**B. Mode opératoire**

Ensemencement de 2 boîtes par dilution.

Pour chaque dilution :

Un ensemencement par incorporation dans la masse et en double couche est réalisé soit :

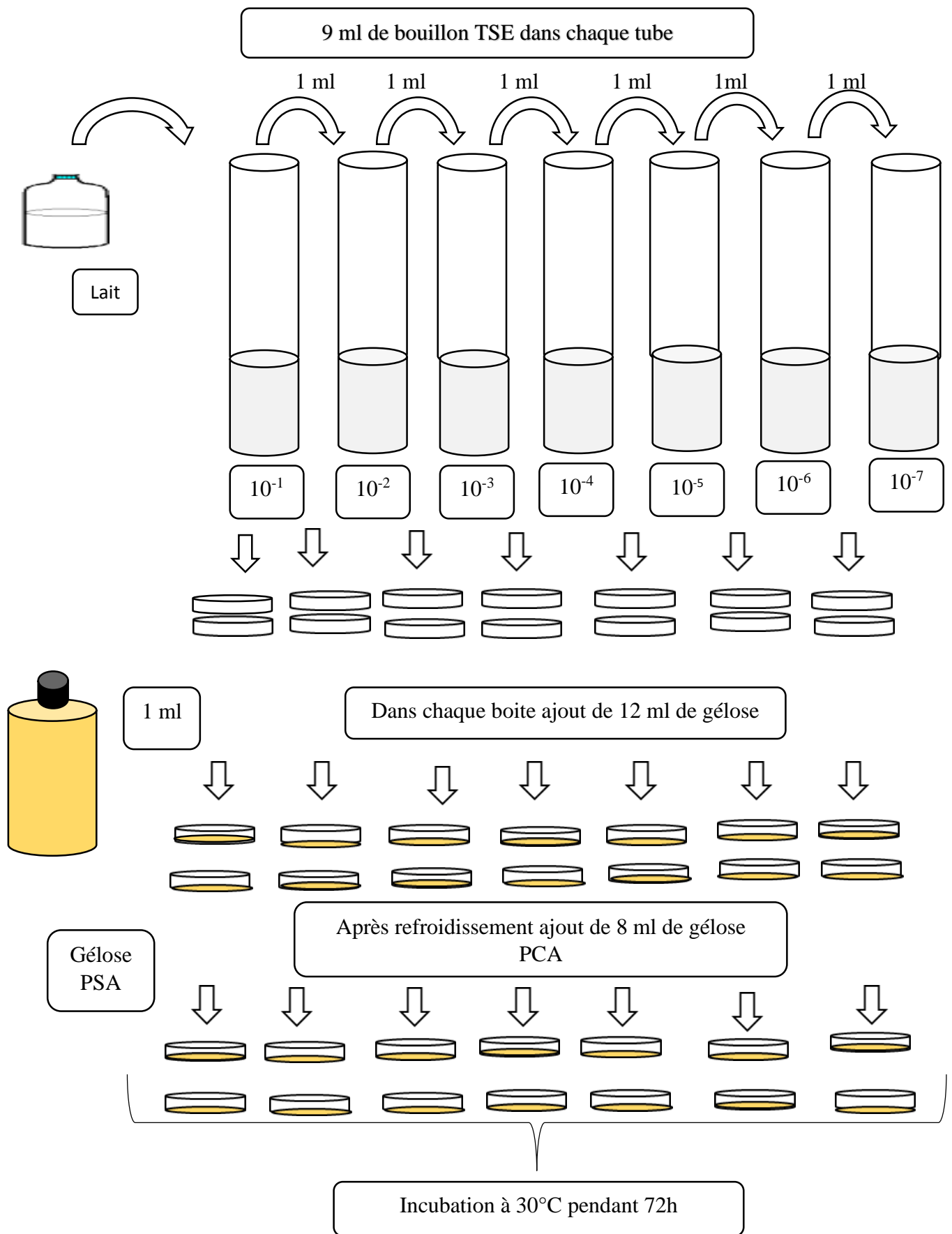
1 ml est prélevé et introduit dans une boîte de pétri vide avant l'ajout de 12 ml de gélose PCA.

L'homogénéisation du contenu de la boîte est réalisée par des mouvements en forme de 8 avant l'ajout final de 8 ml de milieu de culture.

Une fois solidifiées, les boîtes sont ensuite incubées entre 24 et 72h à 30°C.

**C. Incubation :** 24 à 72 h à 30°C

**D. Lecture des résultats :** Réalisée tous les jours (3 lectures) (voir figure 6).



**Figure 6:** Recherche de la flore mésophile aérobie totale (FAMT).

## **4.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux**

Le mode opératoire cité ci-dessous et extrait de la norme suivante : **NF V08-051**.

### **A. Le milieu utilisé**

Pour la recherche et dénombrement des coliformes présents dans le lait, le milieu de culture utilisé est la gélose VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre).

### **B. Mode opératoire**

Pour chaque dilution : 2 séries de 2 boîtes sontensemencées

Pour chaque dilution, 4 boîtes de pétri sontensemencées de la même manière que celleensemencées pour la recherche de la FMAT (soit un ensemencement par incorporation dans la masse et en double couche).

Deux d'entre elles sont destinées à la recherche des coliformes totaux, tandis que les deux autres sont destinées à la recherche des coliformes fécaux.

### **C. Incubation**

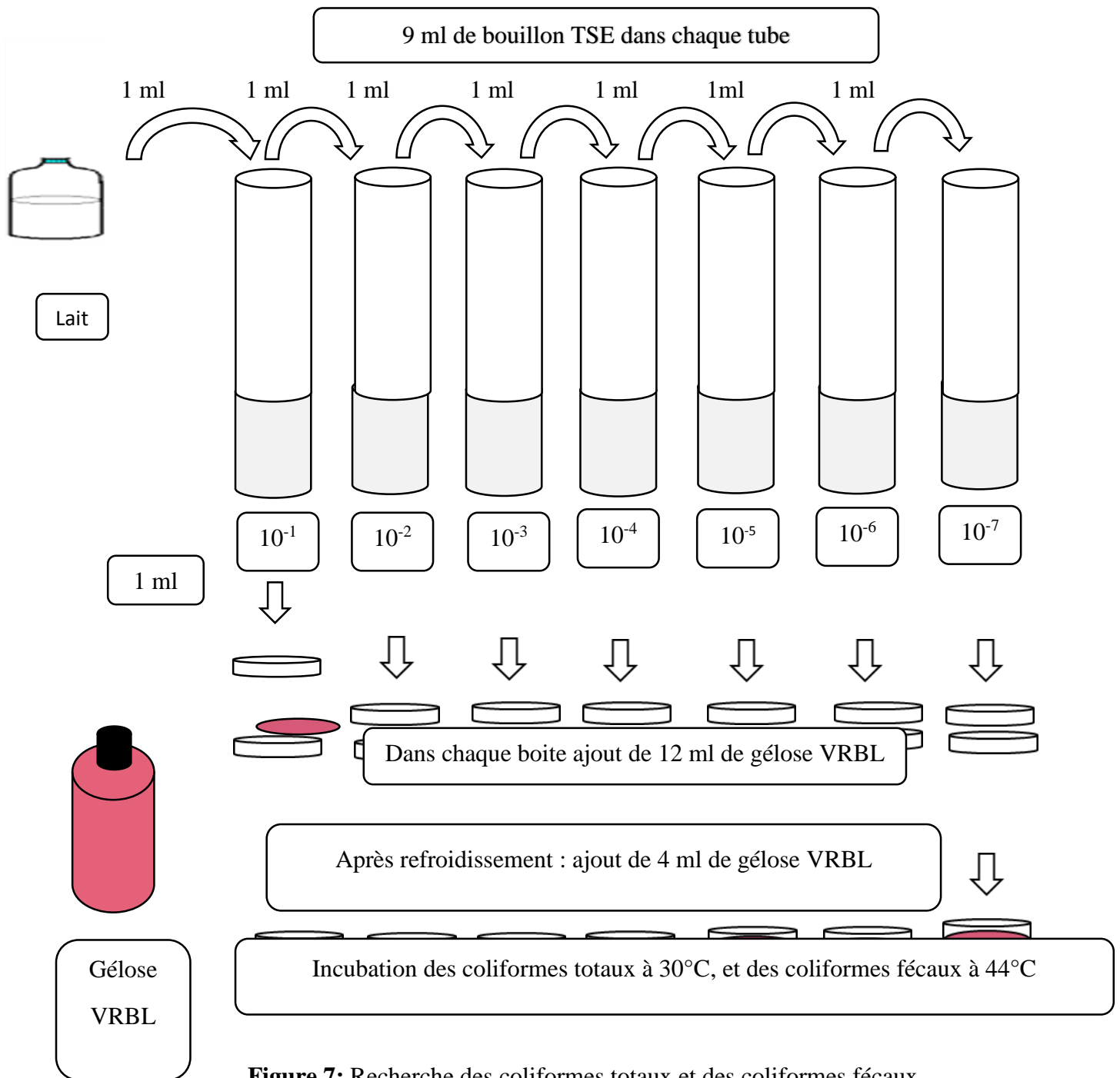
Pour les coliformes totaux : incubation de deux boîtes par dilution à 30°C durant 24-48-72h.

Pour les coliformes fécaux : incubation de deux boîtes par dilution à 44°C durant 24-48-72h.

### **D. Lecture des résultats**

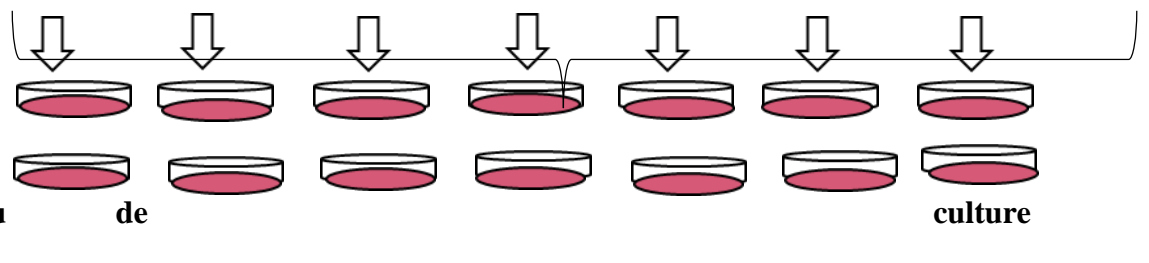
Réalisée tous les jours (3 lectures)

La figure ci-dessous résume toutes les étapes de la manipulation.



**Figure 7:** Recherche des coliformes totaux et des coliformes fécaux.

#### 4.3. Recherche d'*Escherichia coli*



Le milieu de culture utilisé : gélose Mac Conkey.

- **Mode opératoire**

La recherche du sérotype pathogène d'*Escherichia coli* est réalisée à partir de la culture positive des coliformes fécaux,

- Six colonies environ sont prélevées à partir de la culture des coliformes fécaux et sont repiquées sur gélose Mac Conkey (ensemencement par épuisement)

- **Incubation**

18-24h à 35°C.

- **Lecture des résultats**

Après 24h d'incubation.

- **Confirmation de l'espèce *E. coli***

### **E.1. La confirmation de l'espèce est réalisée par coloration de Gram**

- **Etapas**

- préparation d'un frottis bactérien

Sur une lame propre, une colonie bactérienne bien isolée est prélevée à l'aide d'une anse à boucle et est déposée sur la lame.

Une goutte d'eau distillée est ensuite ajoutée avant l'homogénéisation et la répartition des cellules sur la lame.

Les cellules sont finalement fixées à la chaleur du bec Bunsen.

- Coloration
- Coloration au violet de Gentiane (1min), rincer à l'eau,
- Mordançage : Fixation du colorant par le lugol (1min), rincer à l'eau,
- Décoloration à l'alcool, rincer à l'eau,
- Recoloration à la fuchsine (30 sec), rinçage à l'eau, séchage.

- **Observation microscopique**

Observation sous microscope après dépôt d'une goutte d'huile de cèdre sur la lame (Objectif × 100 à l'immersion).

### **E.2. Test de l'oxydase**

Ce test a pour rôle la recherche de l'enzyme cytochrome C-oxydase chez les bacilles à Gram négatif qui produisent ou non cette enzyme, telles que *Neisseria* sp et *Pseudomonas* sp.

- **Principe**

En présence de cytochrome oxydase chez la bactérie, le composé NN-diméthyl-paraphénylène diamine (incolore) forme un composé coloré en bleu après oxydation en présence d'oxygène ambiant.

- **Méthode**

A l'aide de pinces un disque d'oxydase est placé sur une lame porte objet. Une colonie bien isolée est prélevée et est déposée sur le disque.

L'apparition d'une coloration violette dans un délai ne dépassant pas les 10 secondes indique la positivité du test

- **Lecture**

Réaction positive : coloration bleu foncé à violette apparaissant dans un délai de 10 secondes.

Réaction négative : absence de coloration ou coloration au-delà de 10 secondes.

### **E.3. Teste de la catalase**

Ce test permet, en présence de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), de confirmer si une bactérie possède l'enzyme catalase permettant la décomposition du peroxyde d'hydrogène en  $H_2O$  et en  $O_2$ .

- **Technique**

Sur une lame propre et sèche : une goutte d'eau oxygénée y est déposée.

Une colonie bactérienne est ensuite prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée et mise en contact avec l' $H_2O_2$ .

- **Lecture**

La positivité du test est indiquée par la formation instantanée de bulles gazeuses.

### **4.4. Recherche de *Staphylococcus aureus***

Le mode opératoire cité ci-dessous et extrait de la norme suivante **NF V 08-057-1**.

#### **A. Milieu de culture utilisé**

La gélose Baird Parker additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium.

Remarque : pour ce travail, les additifs n'ont pas été ajoutés au milieu en raison de leur absence en laboratoire.

#### **B. Mode opératoire**

Ensemencement d'une boîte par dilution.

#### **C. Incubation**

37°C pendant 24 – 48 h

#### **D. Lecture des résultats**

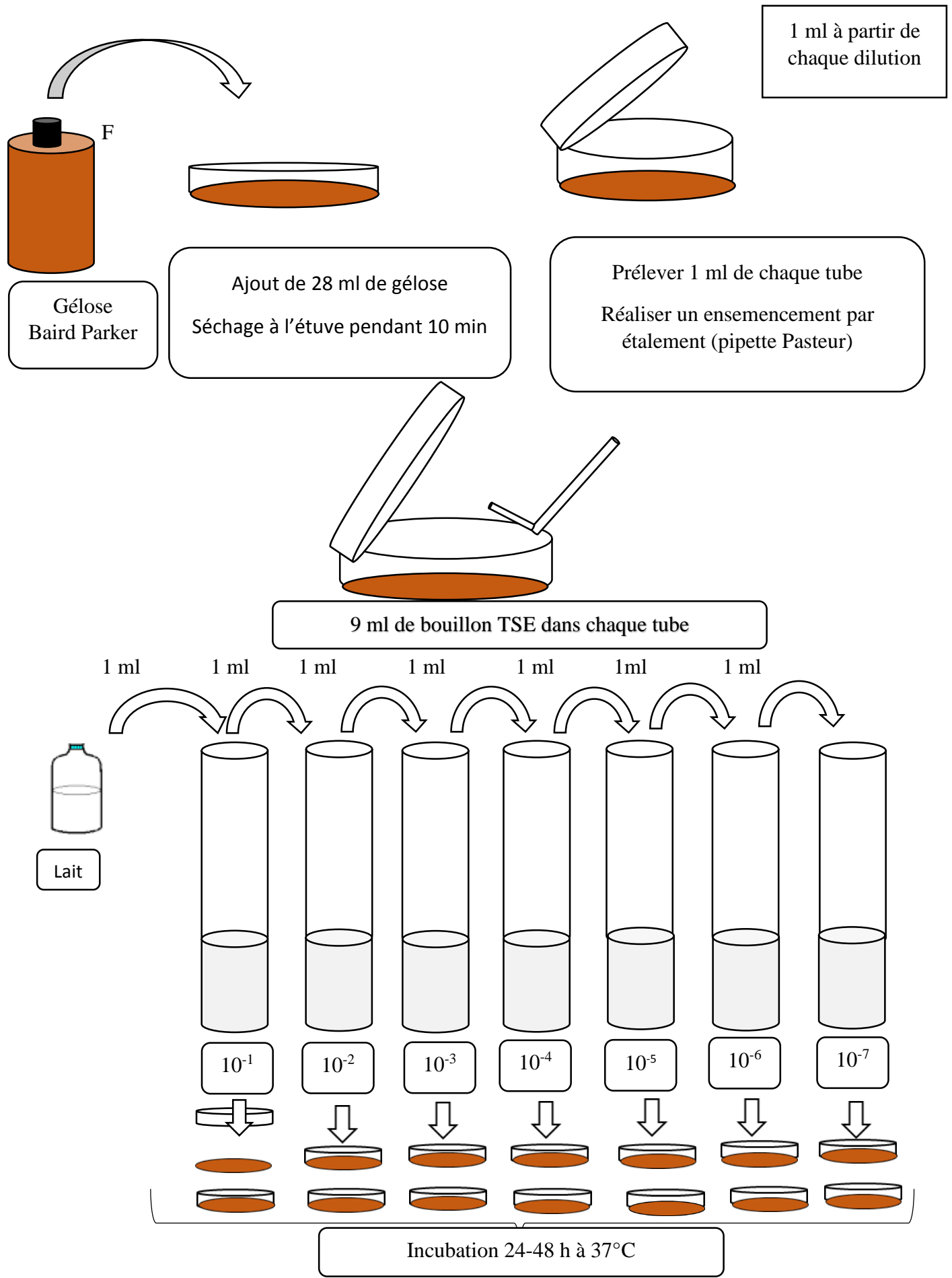
La lecture est réalisée une fois par jour.

En présence des additifs : les colonies recherchées auraient été : noires, brillantes, convexes, entourées d'une zone transparente.

Etant donné l'absence des additifs : les colonies recherchées sont de couleur blanche.

La figure suivante présente la méthode approuvée pour cette recherche.





**Figure 8:** Recherche de *Staphylococcus aureus*.

#### **4.5. Recherche d'*Enterococcus* sp**

##### **A. Milieu de culture utilisé**

Bouillon de Rothe (test présomptif) et milieu Litsky (test confirmatif).

##### **B. Mode opératoire**

Pour chaque tube de dilution : ensemencement de 3 tubes sur le bouillon de Rothe.

##### **C. Incubation**

Incubation 24-48 h à 37°.

##### **D. Lecture des résultats**

La dégradation du milieu est indiquée par la formation d'un trouble.

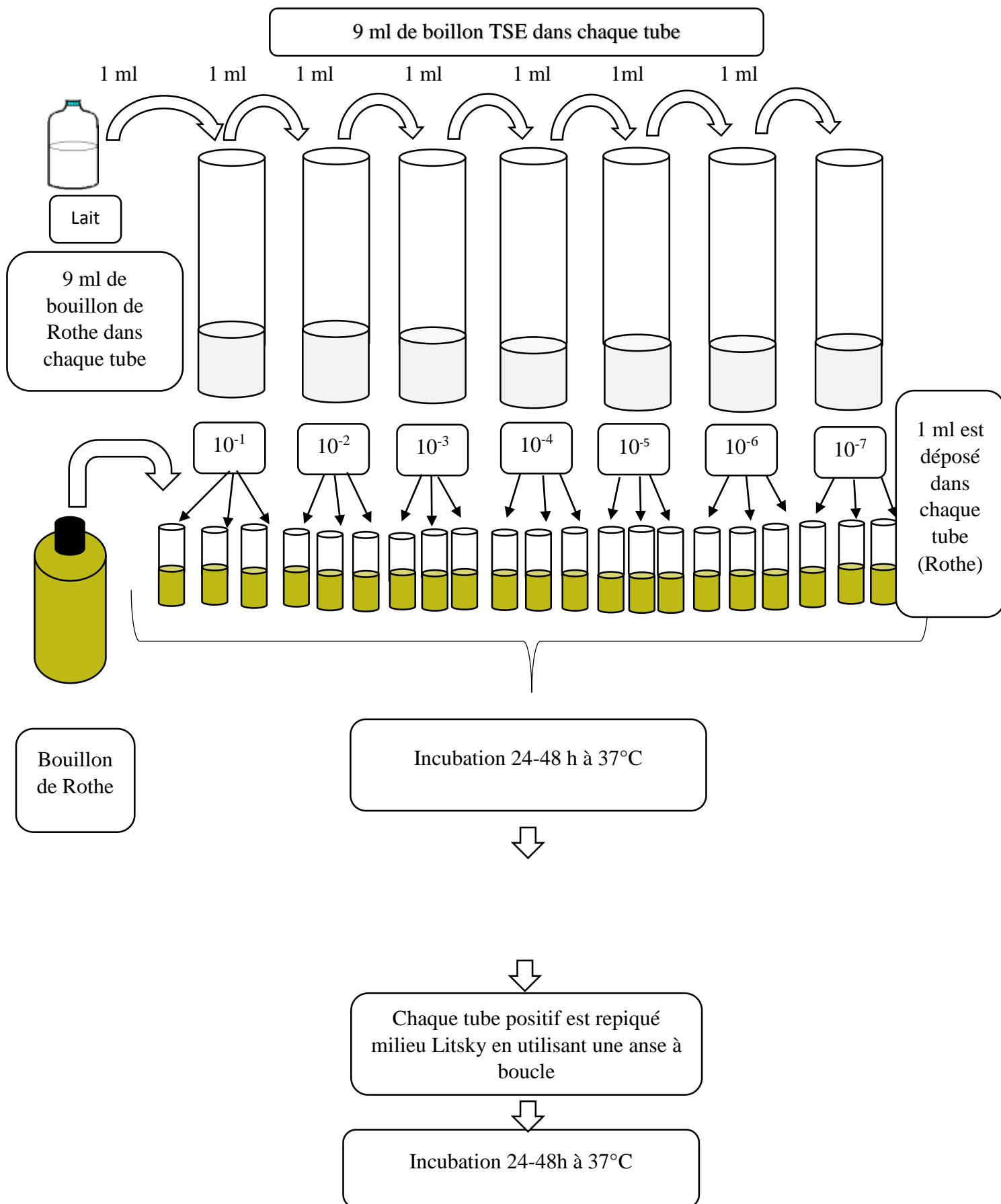
Remarque : tous les tubes positifs sont soumis à un test confirmatif sur milieu « Litsky ».

##### **E. Test confirmatif**

Chaque tube positif est repiqué sur milieu Litsky, et incubé à 37°C durant 24 à 48h.

Lecture des résultats : La présence des entérocoques est indiquée par un trouble ou par la formation d'un dépôt violet au fond du tube.

Le protocole suivi est schématisé dans la figure suivante.



**Figure 9:** Recherche et dénombrement d'*Enterococcus* sp.

#### **4.6. Recherche de *Salmonella* sp**

Le mode opératoire cité ci-dessous et extrait de la norme suivante : **NF V 08-052.**

##### **A. Les milieux de culture et d'enrichissement utilisés**

Eau peptonée tamponnée, bouillon Rappaport Vassiliadis.

Bouillon sélénite cystine, la gélose Mac Conkey.

##### **B. Mode opératoire**

- **Pré-enrichissement** : 25 ml de lait sont ajoutés à 225 ml d'eau peptonée.
- **Enrichissement** : 0.1 ml de la solution pré-enrichie est inoculé dans un tube contenant 10 ml de milieu Rappaport Vassiliadis,

Parallèlement 1 ml de la solution pré-enrichie est inoculé dans 10 ml de bouillon sélénite cystine.

- **Repiquage** : Repiquage sur gélose Mac Conkey, à l'aide d'une anse à boucle.

##### **C. Incubation**

-Pré-enrichissement :

Incubation entre 35 et 37°C pendant 16 à 20 h.

-Enrichissement :

Le milieu Rappaport Vassiliadis est incubé à 40 durant 24 h.

Le bouillon sélénite cystine est incubé à 37°C durant 24 à 48 h.

Repiquage : incubation de la gélose Mac Conkey durant 24 h à 37°C.

##### **D. Lecture des résultats**

La lecture des résultats est après la durée d'incubation.

##### **E. Confirmation**

- **Identification biochimique (Api 20 E)**

Le système API 20E est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries.

Elle permet l'identification des bacilles à Gram négatif (Entérobactéries).

Elle comprend 20 tests biochimiques.

##### **-Préparation de la galerie**

Les alvéoles sont remplies d'eau pour créer une atmosphère humide pendant l'incubation de la galerie.

##### **-Préparation de l'inoculum**

A partir de la culture, quelques colonies sont prélevées pour être introduites dans la suspension Medium permettant la réalisation d'une suspension bactérienne faible (capacité 0,5 sur l'échelle Mc Farland).

#### **-Inoculation de la galerie**

Les tubules et les cupules de la galerie sont remplis en respectant les indications :

Remplir tubule et cupule pour les tests : CIT, VP, GEL

Et créer l'anaérobiose pour les tests : ADH, LDC, URE, en utilisant l'huile de paraffine.

Résultats :

Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.

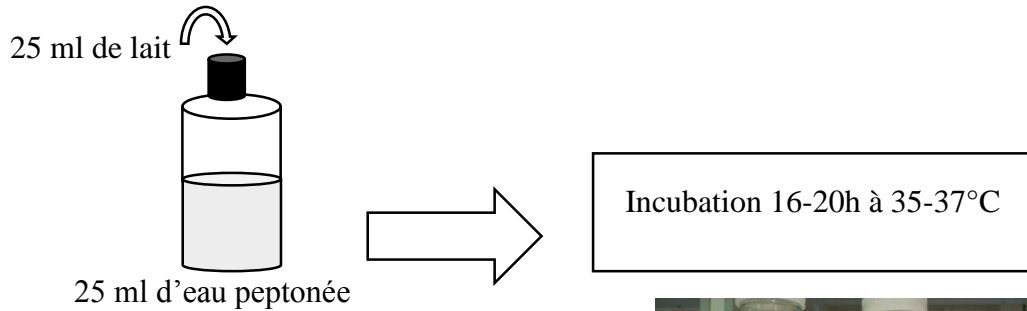
#### **-Ajout des réactifs nécessaires pour les tests**

VP, TDA, IND, Nitrate réductase.

La figure suivante présente le protocole pour la recherche des salmonelles.

## Recherche de *Salmonella* sp

### 1- Pré-enrichissement



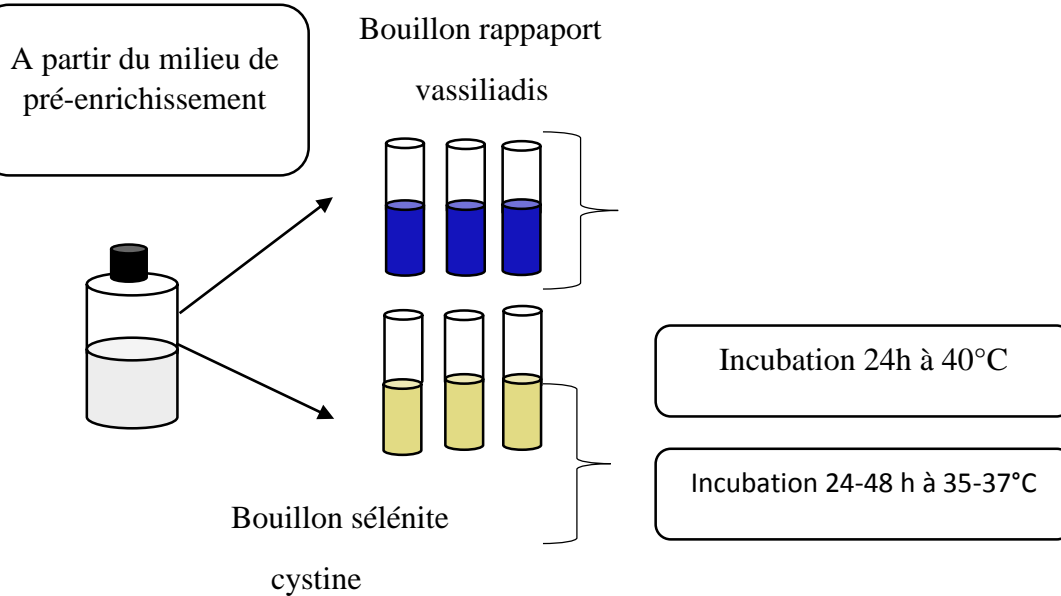
**Figure :** Avant incubation d'eau peptoné enrichisse



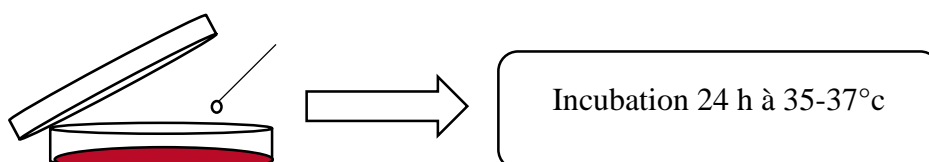
**figure :** Après incubation d'eau peptoné enrichisse

### Enrichissement

- Inoculer 0,1ml dans 10 ml de bouillon Rappaport Vassiliadis
- inoculer 1 ml dans 10 ml de bouillon sélénite cystine



- ### 2- Repiquage :
- à partir des deux cultures, prélever la quantité d'une anse à boucle et l'ensemencer sur gélose Mac Conkey



#### **4.7. Recherche des clostridies sulfito-réductrices**

Le mode opératoire cité ci-dessous et extrait de la norme suivante : **NF V 08-019**.

##### **A. Milieu de culture utilisé**

La gélose Viande-Foie (VF).

Additifs utilisés : alun de fer et sulfite de sodium.

##### **B. Préparation des tubes**

Le milieu VF est tout d'abord liquéfié dans un bain marie avant l'ajout de 4 gouttes d'alun de fer, et de 1 ml de sulfite de sodium à raison de 20 ml de milieu, ce dernier étant maintenu à l'étuve à une température de 45°C.

1 ml de lait est introduit dans un tube à essai puis chauffé à 80°C pendant 10 minutes environ.

15 ml de gélose VF sont ensuite ajoutés au tube et un ensemencement en spirale y est réalisé à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée.

Le tube est ensuite refroidi à l'eau courante avant la création de l'anaérobiose en utilisant de l'huile de paraffine.

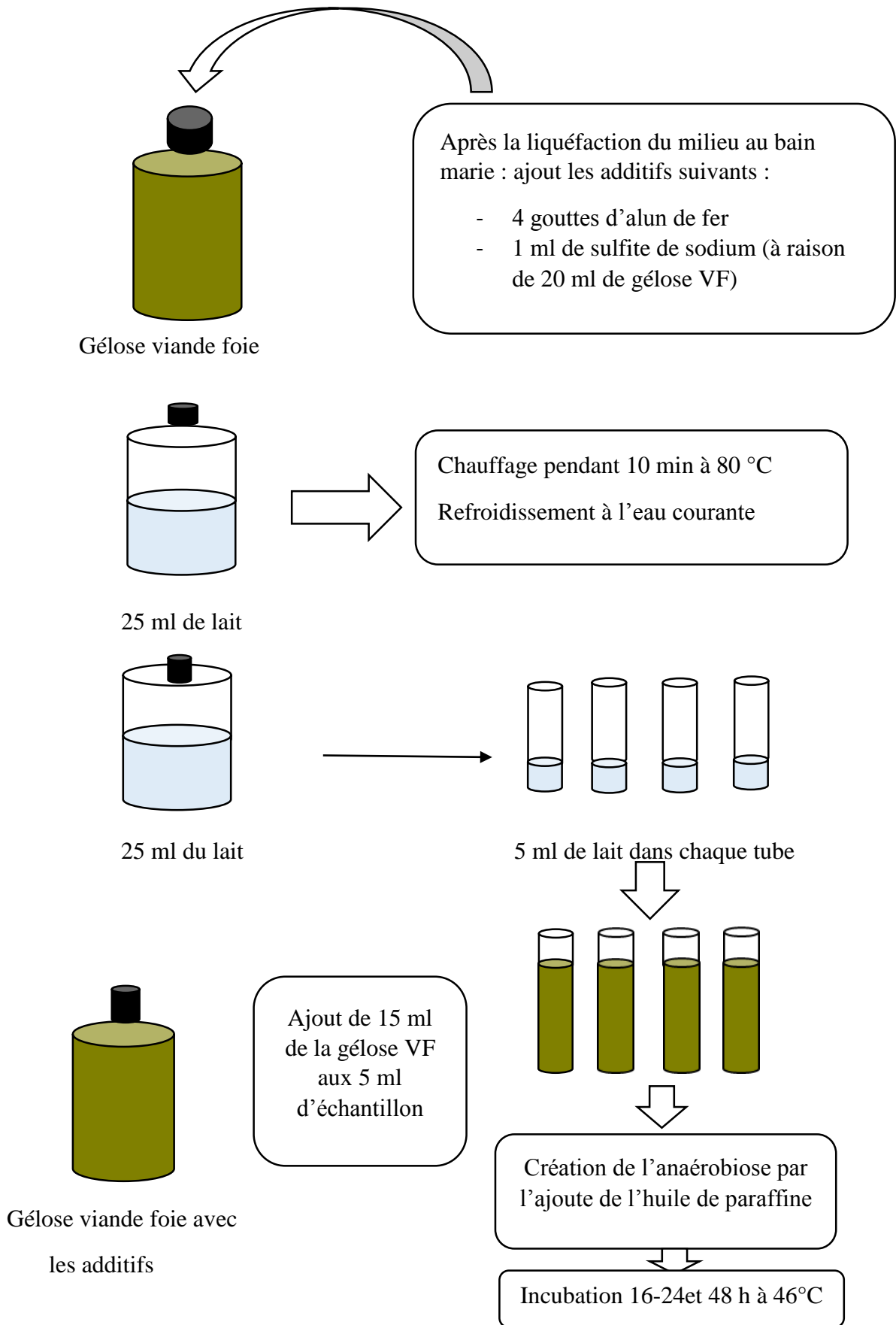
##### **C. Incubation**

À 46°C durant 16-24 et 48h.

##### **D. Lecture des résultats**

La lecture est réalisée une fois par jour. Les colonies recherchées sont de grosses colonies volumineuses de couleur noire (dû à la production d'H<sub>2</sub>S).

La figure 10 résume toutes les étapes de la recherche des clostrides sulfito-reductrices .



**Figure 10 :** Recherche des clostridies sulfito-réductrices.



#### **4-8. Recherche et dénombrement des levures et des moisissures**

##### **A. Milieu de culture utilisé**

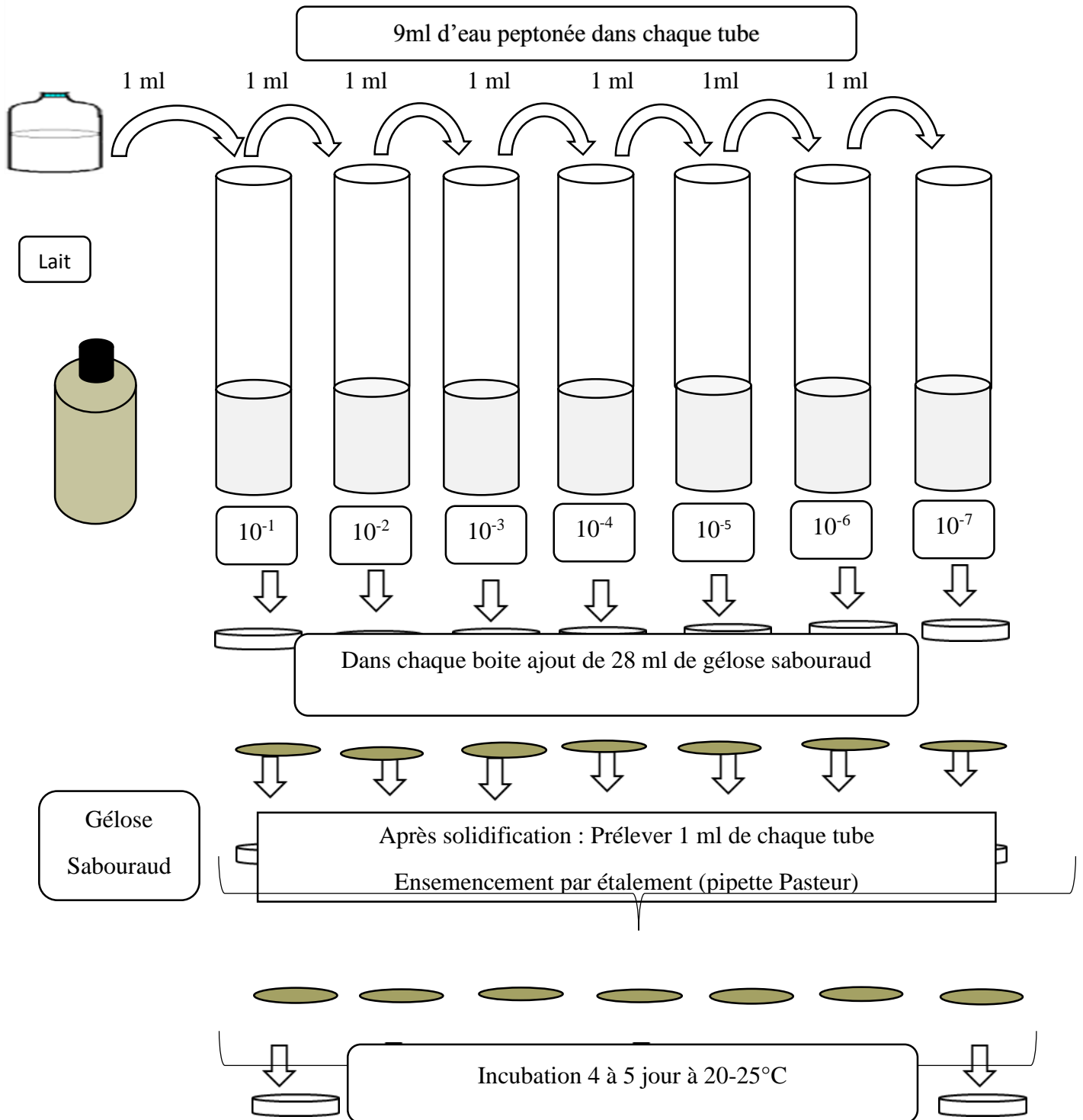
Le milieu Sabouraud additionné de chloramphénicol.

1 boîte par dilution estensemencée puis incubée pendant 4 à 5 jours à 20-25°C.

##### **B. Lecture des résultats**

Les levures donnent des colonies blanches et les moisissures donnent des colonies pigmentées (caractéristiques des moisissures).

La figure suivante présente la méthode approuvée pour la recherche des levures et des moisissures.



**Figure 11 :** Recherche et de dénombrement des levures et de moisissures.

# **Chapitre III :**

## **Résultats et discussion**

### III. Résultats et discussion

#### Le lait cru

##### 1. Analyse physico-chimique du lait cru

**Tableau 8:** résultat d'analyse physico-chimique du lait de vache cru

	Lait cru
pH	6,7
La matière grasse du lait (g/l)	53
La densité	1,049
l'acidité titrable (°D)	17
La conductivité (ms/cm)	4,71
La matière sèche (g/l)	86,7
Le taux de protéine (g/l)	23,4
L'eau (g/l)	0
La température (°C)	21,3
Le point de congélation (°C)	-0,653
Les sels minéraux (%)	0,75
Le taux de lactose (g/l)	55,5

##### 2. Interprétation des résultats physico-chimiques obtenus pour le lait de vache cru

###### • Le pH

Selon la norme ISO 7218 :2007, le pH du lait cru doit être compris entre [6,6 – 6,8],

Selon AFNOR le pH doit être compris entre [6,7 – 6,8].

Avec une valeur de 6,7, le résultat obtenu pour le pH pour l'échantillon du lait cru est conforme aux deux normes. Ce résultat étant similaire à celui obtenu par (**Tir et al., 2015**).

La variabilité du pH est liée au climat, au stade de lactation, aux disponibilités alimentaires et à l'état de santé des vaches, mais aussi à la fraîcheur du lait.

###### • L'acidité titrable

L'acidité titrable du lait cru est de 17°D. Cette valeur est conforme à la norme **AFNOR (1985)**, qui a fixé l'acidité titrable entre 16 et 18°D.

Le pH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions, des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et son activité métabolique et de la manutention du lait (**Matallah., et al, 2019**).

Cette valeur indique donc la non dégradation du lactose en acide lactique par la flore endogène du lait (bactéries lactiques).

###### • La densité

La densité du lait cru obtenue est égale à 1,049. Cette valeur dépasse les valeurs préconisées par l'AFNOR [1.030-1.033].

La densité dépend de la teneur en matière sèche, en matière grasse, de l'augmentation de la température et des disponibilités alimentaires (Labioui., et al, 2009)

- **La matière grasse**

Le taux de matière grasse obtenu pour le lait cru est de 53 g/l. Le résultat obtenu est supérieur à la norme AFNOR qui estime que le taux de matière grasse doit être compris dans un intervalle de [34 à 36] g/l.

D'après (Lederer,1983), un lait de très bonne qualité contient 40g/l de matière grasse. Une richesse en matière grasse peut être due à la race bovine exploitée, et à des conditions d'élevage telles que le stade de lactation, l'alimentation et la traite (Luquet, 1985).

- **La conductivité**

La conductivité du lait cru est égale à : 4.71 (ms/cm), cette valeur varie généralement entre [5,5 à 6,5] mS/cm (**Le point vétérinaire.fr**).

Le faible taux de conductivité est étroitement lié au taux de matière grasse.

La conductivité diminue lorsque le pourcentage de graisse augmente [41, 42]. Ceci est dû au fait que plus de 97% des lipides du lait sont sous la forme de gros globules couverts d'une membrane non conductrice. Il y a donc moins de volume et de mobilité pour les ions (**Jacquinet, 2009**).

- **La matière sèche**

La matière sèche du lait cru est de 86,7 g/l. Ce résultat est presque égal à celui de (Tir, 2015) qui a obtenu une valeur de 87,49g/l.

Des taux élevés de matière sèche ont cependant été notées. (**Matallah., et al, 2019**) ayant obtenus une valeur de 120 g/l.

- **Le taux de protéines**

Le taux de protéines du lait cru analysé est de 23.4 g/l soit 2.34% les résultat non conforme avec les normes du DDA dont l'intervalle est compris entre 2.8-3.6%.

La concentration en protéines est liée à la saison, au stade de lactation et au nombre de mises bas (Jeantet *et al.*, 2007), Elle varie aussi selon la race, la génétique et l'alimentation des vaches (**Courtet, 2010**).

- **L'eau :**

L'eau est absente dans le lait cru, soit présence de 0 g/l.

(Ce dernier n'ayant subi aucun traitement)

**Note :** l'eau mesuré par le lactoscane présente l'eau ajoutée dans le produit ou bien dans le lait.

- **La température**

La valeur indiquée est de 21.3°C. Ceci s'explique par le refroidissement de l'échantillon pendant le conditionnement au laboratoire (depuis sa sortie du pis  $\approx 38^{\circ}\text{C}$ ).

- **Le point de congélation**

Le point de congélation du lait cru est de -0.653 °C. Cette valeur est non conforme à la réglementation algérienne (1998) qui a fixé les valeurs entre [-0,520 et -0,510] °C.

Selon (**Parguel., et al,1994**) le point de congélation est liée au la quantité de l'eau présenter dans le lait.

- **Les sels minéraux**

La valeur obtenue est de 0.75%. Ce résultat est dans l'intervalle du résultat de (**Benchabane., et al, 2019**) Le taux de sels minéraux varie dans de larges gammes de mesure, selon l'apport alimentaire, il est de ce fait, plus faible dans le lait des aliments déshydratés.

- **Le taux de Lactose**

Le taux de lactose pour l'échantillon analysé est de 5.55% soit 55,5 g/l. Ce résultat est supérieur à la norme comprise entre 40-50 g/l (**Labiou., et al, 2009**).

Ce résultat est supérieur à l'étude de (**Labioui., et al, 2009**) a moyenne de 43.51 g/l.

### **3. Analyse bactériologique du lait cru**

Les résultats pour la FAMT, les CT, et les CF sont calculés suivant la formule AFNOR

$$N = \Sigma C / V (n1 + 0.1n2) d$$

#### **Soit**

$\Sigma c$  : somme totale des colonies comptées. (UFC/ml)

V : volume de l'inoculum (en ml).

n1: nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n2: nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

d : le facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus

Les résultats pour *S. aureus*, les levures et moisissures sont calculés en utilisant une norme qui officialise l'utilisation d'une seule boîte par dilution.

Le calcul du nombre d'UFC par mL ou par g de produit, consiste à faire la moyenne pondérée du nombre de colonies obtenues sur deux dilutions successives dont l'une, au moins, présente un minimum de 10 colonies.

NB : Le "nombre maximal de colonies en totalité est de 300 par boîte" ; en présence d'un agent de différenciation, le "nombre maximal des colonies caractéristiques ou présumées est de 150 par boîte " Equation aux grandeurs :

$$N = \Sigma c / (V \times 1,1 d)$$

#### **Avec**

N : concentration en nombre d'UFC par millilitres

$\Sigma c$  : somme des colonies comptées sur les deux boites retenues.

V : volume de l'inoculum appliqué à chaque boite en millilitres.

d = dilution correspondant à la première boite retenue ; avec l'inoculum le moins dilué.

Le résultat est arrondi à 2 chiffres, exprimé avec un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10 appropriée.

Pour les levures et moisissures : les dilutions retenues sont celles présentant entre 10 et 150 colonies par boite.

### **3.1. La flore mésophile aérobie totale(FAMT)**

Selon (JORA, 1998) la flore mésophile anaérobie totale ne doit pas dépasser  $10^5$ UFC/ml dans le lait cru.

Au total,  $8,8 \times 10^5$  UFC/ml ont été énumérées pour la FAMT dans l'échantillon du lait cru.

### **3.2. Les coliformes totaux et les coliformes fécaux**

#### **3.2.1. Les coliformes fécaux**

Selon JORA les coliformes fécaux ne doivent pas dépasser  $10^3$  UFC/ml dans le lait cru.

Après analyse : les coliformes sont présents au nombre de  $6,7 \times 10^5$  UFC/ml dans le lait cru.

#### **3.1.1. Les coliformes totaux**

Après analyse : les coliformes totaux sont présents au nombre de  $2,4 \times 10^6$  UFC/ml dans le lait cru.

### **3.2. *Escherichia coli***

La présence de *E. coli* sur milieu Mac Conkey est indiquée par des colonies rose rouge brique

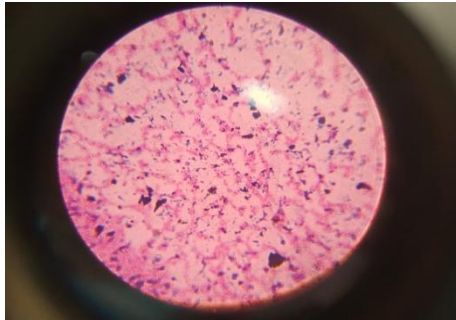


**Figure 10:** Colonies d'*E.coli* isolées à partir du lait cru (sur gélose Mac Conkey).

- **La confirmation de cette espèce est réalisée par les tests suivants**

#### **-La coloration de Gram**

Après coloration de Gram : observation sous microscope optique objectif  $\times 100$  à l'immersion



**Figure 11:** Observation microscopique d'*E.coli* objectif  $\times 100$  à l'immersion.

L'observation sous microscope indique bien la présence de Bacilles Gram négatifs.

#### **-Teste de l'oxydase**

Indique que la bactérie est oxydase négative.

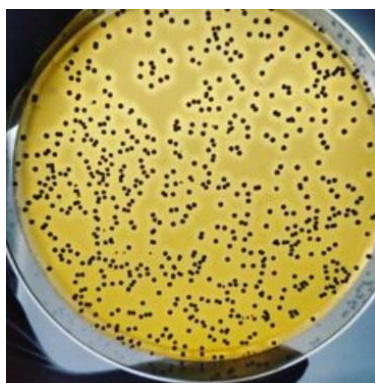
#### **-Teste de la catalase**

Indique que la bactérie est catalase positive.

### **3.3. *Staphylococcus aureus***

Après analyse : le nombre de *S. aureus* est de  $4,2 \times 10^5$  UFC/ml dans le lait cru.

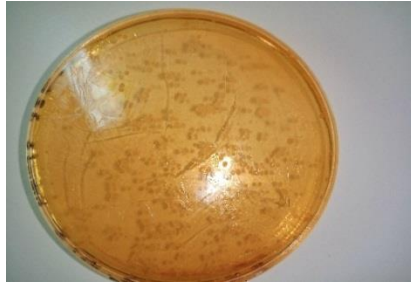
La bactérie présente des colonies noires, brillantes, convexes et entourées d'une zone transparente en présence des additifs (figure)



**Figure 12:** *S. aureus* sur gélose Baird Parker en présence d'additifs.

Vu l'absence d'additifs les colonies obtenues sont de couleur claire comme le montre l'image ci-dessous



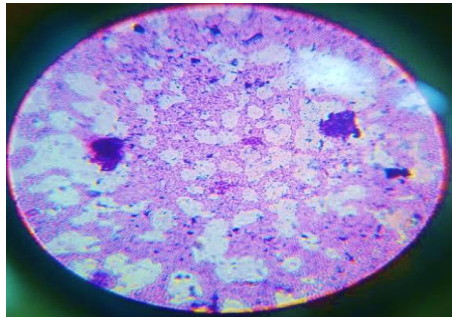


**Figure 13:** *S. aureus* sur gélose Baird Parker en l'absence d'additifs.

- **Confirmation de l'espèce *S. aureus***

**-La coloration de Gram**

Indique la présence de cocci Gram positifs donnant des colonies regroupées sous forme de grappes de raisin



**Figure 14:** observation microscopique de *S. aureus* (objectif  $\times 100$  à l'immersion) après coloration de Gram

**-Test de l'oxydase : négatif**

Après de le faire de teste d'oxydase on obtenir résultat d'oxydase négatif.

**-Test de la catalase : positif**

**3.4. *Enterococcus sp***

La présence d'*Enterococcus sp* est caractérisée par la formation d'un trouble après incubation sur bouillon de Rothe.

Pour le lait cru : tous les tubes ensemencés ont présenté un trouble indiquant la présence de la bactérie.



**Figure 15:** Formation d'un trouble sur milieu Rothe due à la présence d'*Enterococcus sp* dans le lait cru

- **Test confirmatif**

Sur milieu Litsky, la présence des entérocoques est indiquée par la formation d'un dépôt violet au fond du tube.



**Figure 18 :** Formation d'un dépôt violet au fond du tube lors du test confirmatif sur milieu Litsky.

Ce tableau résume les résultats obtenus après mise en culture des entérocoques :

- Après incubation des tubes : chaque tube positif + ou négatif – est noté.
- Les résultats positifs pour chaque dilution sont regroupés.

**Tableau 9:** Résultats des tests obtenus après recherche et mise en culture d'*Enterococcus* sp.

Dilution	10 <sup>1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>
Aspect des tubes								
Résultats	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	— — —
Nombre de résultats positifs	3	3	3	3	3	3	3	0
Regroupement	333	333	333	333	333	333	330	-

### Méthode de dénombrement

Le choix la dilution pour le calcul

Pour une série de 3 tubes par dilution, le nombre choisit doit être inférieur à 330.

Dans ce cas, tous les tubes sont positifs. Il faudra donc considérer que le dernier chiffre est un zéro (0).

Le facteur de dilution est celui pour lequel les trois tubes sont positifs et qui correspond à la plus forte dilution,

Dans ce cas : la dilution correspondante est la dilution :  $10^{-7}$

Détermination du NPP :

Dans la table de Mac Grady (Annexe III) le NPP correspondant à 330 est 20

- Volumeensemencé = 1 ml

Calcul

$$N = \frac{\text{NPP}}{V_{\text{ensemencé}}} \times Fd$$
$$N = \frac{20}{1} \times 10^{-7} = 20 \times 10^7 \text{ UFT/ml}$$
$$= 2 \times 10^8 \text{ UFT/ml}$$

### 3.5. *Salmonella sp*

A partir des milieux enrichis, la mise en culture de *Salmonella sp* est réalisée sur gélose Mac Conkey.

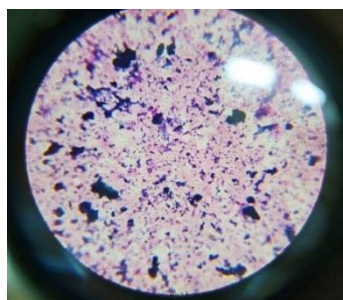


**Figure 16:** Présence de *Salmonella sp* sur Mac Conkey isolée à partir du lait cru.

- **Confirmation de la présence de la bactérie en utilisant les tests suivants**

#### **-Coloration de Gram**

Est observation objectif x100 à l'immersion.



**Figure 17:** observation microscopique de *Salmonella sp* objectif  $\times 100$  à l'immersion.

La coloration de Gram indique la présence de Bacille à Gram négatif.

Teste de l'oxydase : donnant un résultat négatif (caractéristique des entérobactéries)

Teste de la catalase : donnant un résultat positif

Confirmation par galerie biochimique Api 20 E



Figure 18: identification de *Salmonella sp* par galerie biochimique Api 20E.

résultats		Proba	typicité	Incompa.	Test sur proba
1	Hafnia alvei 1	0,662	-1,48	4	TB Id
2	Salmonella choleraesuis ssp arizonae	0,196	-1,66	4	mauvaise identifi
3	Proteus mirabilis	0,089	-1,69	5	mauvaise identifi
4	Pseudomonas luteola	0,015	-1,78	5	mauvaise identifi
5	Salmonella spp	0,010	-1,77	3	mauvaise identifi

API 20 E 4.1 02/2006	ONPG	ADH	LDC	ODC	GIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2
profil	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+

Figure 19: Profil de l'espèce *Salmonella sp* obtenu à partir du logiciel d'identification

### 3.6. Les clostridies sulfito-réductrices

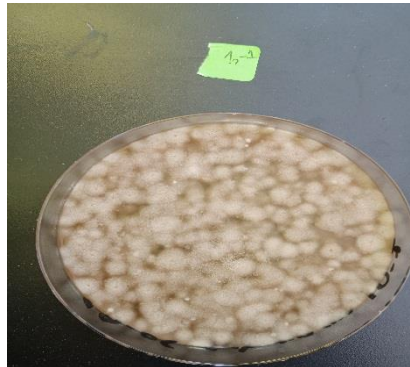
Après mise en culture sur milieu VF. Il a été noté que *Clostridium sp* est absent au l'échantillon du lait cru



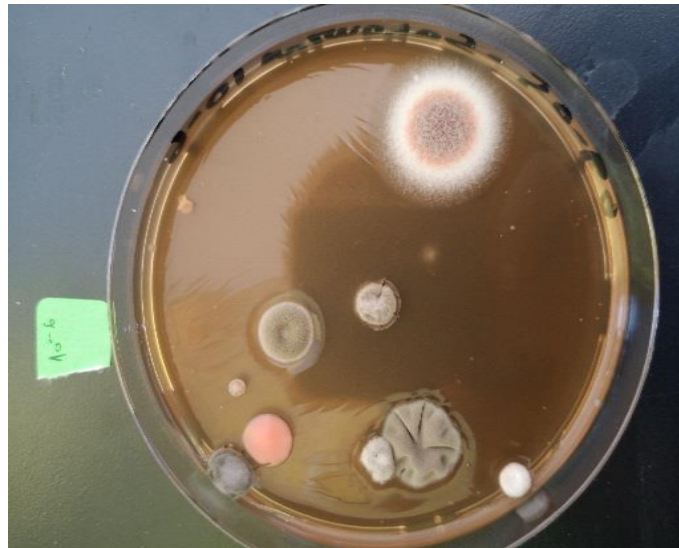
Figure 20: Recherche des clostridies sulfito-réductrices (géluse VF).

### 3.7. Les levures et les moisissures

Les levures sont présentes au nombre de  $4,9 \times 10^4$  UFC/ml, et les moisissures au nombre de  $2,6 \times 10^2$  UFC/ml.



**Figure 21:** croissance des levures sur gélose Sabouraud donnant des colonies blanches (boite chargée/dilution  $10^{-1}$ )



**Figure 22:** colonies des moisissures ayant été obtenues sur gélose sabouraud (dilution  $10^{-6}$ ) (*Cladosporium* sp (à droite), *Saccharomyces* sp (à gauche en haut) et *Aspergillus* sp (à gauche en bas))

#### 4. Interprétation des résultats bactériologiques obtenus pour le lait de vache cru

**Tableau 10:** Les résultats de l'analyse bactériologique du lait cru

	<b>Le lait cru</b>
La flore mésophile aérobie totale (UFC/ml)	$8,8 \times 10^5$
Les coliformes totaux (UFC/ml)	$2,4 \times 10^6$
Les coliformes fécaux (UFC/ml)	$6,7 \times 10^5$
<i>Escherichia coli</i>	Présence
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/ml)	$4,2 \times 10^5$
<i>Enterococcus</i> sp (UFT/ml)	$2 \times 10^8$
<i>Salmonella</i> sp	Présence
Clostridies sulfito-réductrices	Absence
Les levures (UFC/ml)	$4,9 \times 10^4$
Les moisissures (UFC/ml)	$2,6 \times 10^2$

- **La flore mésophile aérobie totale (FMAT)**

Au total,  $8,8 \times 10^5$  UFC/ml ont été énumérées pour la FAMT dans l'échantillon du lait cru.

Cette valeur est légèrement supérieure au seuil établi par JORA, 1998 qui indique que la flore mésophile aérobie totale ne doit pas dépasser les  $10^5$  UFC/ml dans le lait cru.

Ce résultat est cependant identique à celui de (Matallah., et al, 2019).

La flore mésophile aérobie totale est un bon indicateur de contamination globale. Elle nous renseigne sur la qualité hygiénique du lait cru (Hamiroune., Berber., Boubekeur, 2014).

La teneur élevée en flore totale et la variabilité de la qualité microbiologique de lait est lié à des facteurs d'élevage au sein des exploitations, l'état sanitaire de l'animal (Kizi., Makdoud, 2014).

- **Les coliformes totaux et les coliformes fécaux**

Les coliformes totaux sont dans le lait cru, présents au nombre de  $2,4 \times 10^6$  UFC/ml ce qui est très élevée comparé à l'étude de (Tir., et al, 2019).

Les coliformes fécaux sont présents au nombre de  $6,7 \times 10^5$  UFC/ml au niveau de l'échantillon. Cette valeur dépasse largement la valeur seuil établie par le JORA les qui est de  $10^3$  UFC/ml dans le lait cru, ce qui rend cette valeur non conforme à la norme algérienne.

Cette contamination du lait par les coliformes fécaux indique forcément une contamination par les fèces des vaches ou par les mains du trayeur (Farougou et al, 2011). et leur nombre est généralement proportionnel au degré de pollution produit par des matières fécales (Aggad et al., 2010).

- ***Staphylococcus aureus***

Les résultats obtenus indiquent la présence de  $4.2 \times 10^5$  UFC/ml dans le lait cru. Selon (JORA, 1998) *S.aureus* doit être absent dans le lait cru.

Cette contamination peut être due à l'excrétion directe des mamelles d'animaux atteints de mammites ou par l'environnement lors de la manipulation et de la transformation du lait cru (Aff et al., 2008).

NB : qu'il soit consommé cru ou traité par la chaleur, le lait renfermant *S.aureus* constitue un risque réel pour la santé publique dans les produits transformés car cette bactérie peut, dans certaines conditions, produire des entérotoxines thermostables qui peuvent résister aux traitements thermiques (Ghazi., Niar, 2011).

- ***Salmonella sp***

La présence de salmonelles dans le lait peut être expliquée par des élevages infectés qui constituent un réservoir potentiel de contamination du lait et des produits dérivés à base de lait cru. Cependant, il semblerait que la contamination ait lieu plus fréquemment à partir du milieu extérieur, de l'environnement ou par contact avec les animaux infectés au moment de la traite que par voie intra-mammaire (Brisabois., et al).

### ***Enterococcus sp***

Le critère algérien pour les entérocoques est l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru.

Le nombre de cellules présentes est de l'ordre de  $2.0 \times 10^8$  UFT/ml, ce qui est supérieur à la valeur moyenne obtenue par (Hamiroune., Berber., Boubekour, 2014) et qui est de  $2,8 \times 10^4$  UFC/ml,

(Hamiroune., Berber., Boubekour, 2014). Les entérocoques sont des indicateurs contamination fécale et élimination insalubre.

- **Les Clostridies sulfito-réductrices**

Selon JORA 1998 la présence de Clostridium sulfito-réducteur est tolérée si celle-ci ne dépasse pas les 50 UFC/ml.

(Tir., et al, 2015) a également noté l'absence totale de Clostridium sulfito-réducteur au niveau du lait cru. Cette absence peut être justifiée par la bonne santé des vaches, et notamment l'absence d'infections au niveau des mamelles.

- **Les levures et les moisissures**

Les levures sont présentes au nombre de  $4.9 \times 10^4$  UFC/ml, et les moisissures au nombre de  $2.6 \times 10^2$  UFC/ml.

Les levures et moisissures sont des contaminants courants des aliments. Ils peuvent être véhiculés par l'environnement et se retrouver dans le lait et les produits laitiers.

Bien que les levures ne causent pas d'intoxication alimentaire, elles peuvent provoquer une altération organoleptique de l'aliment. Un très grand nombre de moisissures produisent des substances toxiques dites mycotoxines, et dont certains sont reconnues comme étant les plus puissants cancérigènes naturels chez l'homme (El Marnisi,2013).

## Le lait pasteurisé

### 1. Analyse physico-chimique du lait pasteurisé

**Tableau 11:** résultats de l'analyse physico-chimique du lait pasteurisé

	<b>Lait pasteurisé</b>
pH	6,85
La matière grasse (g/l)	9,6
La densité	1,025
L'acidité titrable (°D)	16
La conductivité (ms/cm)	5
La matière sèche (g/l)	85
Le taux de protéine (g/l)	37,5
L'eau (g/l)	11,15
La température (°C)	18,1
Le point de congélation (°C)	-0,462
Les sels minéraux (%)	0,65
Le taux de lactose (g/l)	40,6

### 2. Interprétation des résultats d'analyse physico-chimique du lait pasteurisé

Comparé au lait cru, le lait pasteurisé présente des valeurs inférieures ou similaires à celles du lait cru en fonction des paramètres :

Le taux de la matière grasse est de 9,6 g/l ce qui est inférieur à la valeur trouvée pour du lait cru qui est de 53 g/l.

Le taux de sels minéraux est de 0,65% ce qui est proche du lait cru (0,75%).

La quantité en eau est de 11,15 g/l. Celle-ci étant absente dans le lait cru.

En effet, dans un aliment, le point de congélation augmente en fonction de la quantité en eau qui s'y trouve.

Le taux de lactose est de 40,6 g/l ce qui est inférieur à celui du lait cru qui est de 55,5 g/l : Cette différence de valeurs prouve que le traitement thermique que le lait pasteurisé a subi est à l'origine de la diminution du taux de lactose au niveau de ce dernier.



### 3. Résultat d'analyse bactériologique du lait pasteurisé

#### 3.1. La flore mésophile aérobie totale (FAMT)

Le lait pasteurisé renferme  $2,2 \times 10^5$  UFC/ml dans le lait pasteurisé.

#### 3.2. Les coliformes totaux et les coliformes fécaux

##### 3.2.1. Les coliformes fécaux

Les coliformes fécaux a été absence dans le lait pasteurisé

##### 1.2.2. Les coliformes totaux

Les coliformes totaux sont présents au nombre de  $1,3 \times 10^4$  UFC/ml.

#### 3.3. *Enterococcus* sp

La présence d'*Enterococcus* sp est caractérisée par la formation d'un trouble après incubation sur bouillon de Rothe.

Pour le lait pasteurisé : tous les tubes ensemencés ne présentent pas de trouble (figure 24) ce qui indique l'absence de la bactérie.



**Figure 23:** Absence de trouble d'*Enterococcus* sp dans le lait pasteurisé.

#### 3.4. Clostrides sulfitoréductrices

Après mise en culture sur milieu VF. Il a été noté que *Clostridium* sp est absent au niveau de l'échantillon du lait pasteurisé



**Figure 24:** la recherche des clostridies sulfito-réductrices.

#### 4. Interprétation des résultats bactériologique du lait pasteurisé

**Tableau 12:** les résultats d'analyse bactériologique du lait pasteurisé

	<b>Lait pasteurisé</b>
La flore mésophile aérobie totale (UFC/ml)	$2,2 \times 10^5$
Les coliformes totaux (UFC/ml)	$1,4 \times 10^4$
Les coliformes fécaux (UFC/ml)	Absence
<i>Escherichia coli</i>	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/ml)	Absence
<i>Enterococcus</i> sp (UFT/ml)	Absence
<i>Salmonella</i> sp	Absence
Clostridies sulfitoréductrices	Absence
Les levures (UFC/ml)	$1,1 \times 10^4$
Les moisissures (UFC/ml)	$1,7 \times 10^2$

- **La flore mésophile aérobie totale**

Le lait pasteurisé renferme  $2,2 \times 10^5$  UFC/ml cette valeur est élevée par rapport au seuil établi par la norme algérienne : Selon JORA 1998, la FAMT ne doit pas dépasser  $3 \times 10^4$  UFC/ml dans le lait pasteurisé.

- **Les coliformes totaux**

Les coliformes totaux sont présents au nombre de  $1,3 \times 10^4$  UFC/ml.

- **Les coliformes fécaux**

Les CF sont absents au niveau de l'échantillon analysé ce qui est conforme à la réglementation algérienne (**JORA 1998**).

Les autres bactéries pathogènes (*Salmonella* sp, *E.coli*, *S.aureus*, et les clostridies sulfito-réductrices) sont absentes... ceci étant grâce au procédé thermique ayant pour rôle la destruction et l'élimination des pathogènes.

La présence des levures et des moisissures dans le lait pasteurisé est de  $1,1 \times 10^4$  UFC/ml pour les levures et de  $1,7 \times 10^2$  UFC/ml pour les moisissures.

D'après (Tir., et al, 2015) La présence des levures et des moisissures dans tous les échantillons de lait analysés est normale, et permet la fermentation nécessaire à la production de dérivés laitiers.

Les autres bactéries pathogènes (*Salmonella* sp, *E.coli*, *S.aureus*, et les clostridies sulfito-réductrices) sont absentes... ceci étant grâce au procédé thermique ayant pour rôle la destruction et l'élimination des pathogènes.

La présence des levures et des moisissures dans le lait pasteurisé est de  $1,1 \times 10^4$  UFC/ml pour les levures et de  $1,7 \times 10^2$  UFC/ml pour les moisissures.

D'après (Tir., et al, 2015) La présence des levures et des moisissures dans tous les échantillons de lait analysés est normale, et permet la fermentation nécessaire à la production de dérivés laitiers.

# **Conclusion**

## Conclusion

De manière générale, les bienfaits du lait sur la santé humaine ne sont plus à démontrer. Cet aliment, ayant une place importante dans l'alimentation de l'homme, doit être soumis à différents tests dans le but de vérifier sa conformité avant qu'il ne soit consommé en toute sécurité.

L'objectif de ce travail est l'analyse physico-chimique et bactériologique du lait de vache cru et du lait pasteurisé au niveau de la région de Guelma dans le but de vérifier si les deux types de laits étaient conformes aux normes établies mais aussi pour comparer la qualité globale de l'un par rapport à l'autre.

Il a été démontré, dans le cadre de l'analyse bactériologique que le lait pasteurisé était, de manière générale, de meilleure qualité comparé au lait de vache cru qui possédait un nombre élevé au seuil établi pour la FMAT, les CT et les CF ainsi que la présence de *S.aureus*, *Salmonella sp* et *Enterococcus sp*.

L'analyse physico-chimique a révélé que les valeurs pour le lait de vache cru et pour le lait pasteurisé étaient presque similaires à la différence de certains paramètres (tels que la densité et le taux de matière grasse étant meilleurs dans le lait cru).

De manière générale, les résultats obtenus montrent que le lait cru possède une meilleure valeur nutritionnelle comparé au lait pasteurisé et que le lait pasteurisé possède une meilleure qualité hygiénique (microbiologique) que le lait cru.

Pour conclure, cette étude confirme l'importance des procédés thermiques dans la protection de l'aliment contre les bactéries pathogènes mais elle montre également que le lait cru est plus riche en nutriments comparé au lait pasteurisé « ayant subi » un traitement thermique avant sa commercialisation.

La qualité du lait cru peut être améliorée et cet aliment peut être consommé en toute sécurité si certaines consignes sont respectées notamment au niveau la ferme (lors de la traite, l'hygiène des locaux, l'alimentation des animaux.), le respect de la chaîne du froid etc... Ce qui permettra d'obtenir une matière première de bonne qualité ayant conservée les valeurs initiales de ses composants (Vitamines, protéines, matière grasse...).

# **Références bibliographiques**

## A

**Accarais S. (2014).** Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat : Université Paul Sabatier Toulouse III, 212p

**Afif A., Faid M., Najimi M, (2008).** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. Rev. Biol. Biotechnol., 7, 2-7.

**AFNOR., 1980.** Recueil des normes françaises. Laites et produits laitiers.

**Aggad H., Mahouz F., Ahmed Ammar Y., Kihal M, (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. Rev. Med. Vet., 160, 590-595.

**Alais C, Linden G, Mielo L. (2008).** Abrégé en biochimie alimentaire. Paris, Dunod, 260p.

## B

**Bachtarzi N, (2012).** Magister en Sciences Alimentaires Option : Biotechnologie Alimentaire. Thème « Qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien » Université MENTOURI. Constantine. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires.

**Barbier E, (2016).** Prévalence de *Mycobacterium bovis* dans les agroécosystèmes : analyse de réservoirs environnementaux potentiels (sol, eau douce, faune du sol et faune aquatique) et traçage de la circulation de cette bactérie entre les différents compartiments. Thèse de la garde de docteur de l'université de Bourgogne Franche-Comté 253p.

**Barka M. (2012).** Recherche et Caractérisation d'*Escherichia coli* Entérohémorragique O157:H7 dans les viandes bovines importées en Algérie, thèse de doctorat de l'université d'Oran. 98p

**Ben chabane., Soumendjl., Sahri, (2019).** Qualité bactériologique et physico-chimique du lait cru et impact sanitaire « cas de la Wilaya de Guelma » Université 8 Mai 1945 Guelma Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers. 110p

**Bergon L. (2016).** *S. capitis*, *S. caprae* et *S. lugdunensis* : rôle dans les infections ostéo-articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques. Thèse pour obtenir le diplôme de docteur d'en pharmacie, université TOULOUSE III Paul Sabatier faculté des sciences pharmaceutique. 93p.

**Bouarissa N., herizi S, (2020).** Analyse physico-chimique et microbiologique du lait cru collecté au niveau de deux régions Akbou et Sidi Aich (Bijaia) mémoire de fin de cycle en vue l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en génie biologique. 61p.

**Brisabios A., Lafarge A., Bouillaud A., Buysse M.L., Collette C., Garin-Bastuji B et Thorel M.F.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. Centre nationale d'études vétérinaires et alimentaires, Paris. Centre nationale d'études vétérinaires et alimentaires, Alfort. 16, 452-471p.

## C

**Christie WW, (1995).** Composition and structure of milk lipids, Dans “Fox PF. Advanced Dairy Chemistry”, volume 2, Lipids, 2<sup>nd</sup> ed, 1-28

**Courtet F, (2010).** Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d’amélioration par l’alimentation. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d’Alfort.128p.

## D

**David J, (2009).** Attribution des cas de salmonelloses humaines aux différentes filières de production animale en France.

**El Marnisi B., Blkhou R., Lalami E.L., Bennani L, (2013).** Technique de laboratoire. Volume 8, N°33.

## F

**FAO,** organisation des nations pour l’alimentation et l’agriculture

**Farougou S, Kpodékon T M, Sessou P, Youssao I, Boko C, Yèhouenou B et Sohounhloué D, (2011).** Qualité microbiologique du lait cru de vache élevée en milieu extensif au Bénin. Actes du 3<sup>ème</sup> Colloque des Sciences, Cultures et Technologies de l’UAC-Bénin ,1-14.

**Fernane H, (2017).** Etude des bactéries thermorésistantes dans le lait. thèse de doctorat. Mascara : Université Mustapha Stambouli 147p.

## G

**Gassama D, (2002).** Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale dans le filet se sol : étude comparative des méthodes d’analyse et des résultats de deux laboratoires. Mémoire de diplôme de études approfondies de production animales. Ecole inter états des science et médecine vétérinaire(EISMV) 46p.

**Gaucheron F, (2005).** The minerals of milk. Reproduction Nutrition Développement, EDP Sciences, 45 (4), pp.473-483.

**Ghazi K., Niar A, (2011).** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie)

**Guiraud J.P. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris

## H

**Hadohum M. M, Hend M. A, Somia S. A, Marowa A. A, Tark M. H, Esam A. E, Fathi M. A. (2017).** Physicochemical Characteristics of Various Milk Samples. PDepartment of Chemistry, Faculty of Science, Sabratha University, Sabratha, Libya.

**Hamiroune M., Berber A., Boubakeur 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, 158, 137-144.

**Hauer A, (2015).** Etude des souches de *Mycobacterium bovis* à l’origine de foyers de tuberculose bovine en France de 1978 à aujourd’hui : une approche moléculaire et

génomique. Thèse pour obtenir le grade de : Docteur de l'université François – Rabelais de Tours 246p.

**Hencké S, (2000).** Utilisation alimentaire des levures. Thèse de obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie univercité henri poincre-nancy I

**Hozlapfel M, (2018).** De l'épidémiologie moléculaire aux analyses fonctionnelles de *Brucella* chez les ruminants, une approche intégrée pour l'identification et l'étude de la diversité phénotypique d'un genre génétiquement homogène. Thèse de doctorat d'univercite PARIS-ES.

## I

**Isnard C, (2017).** « *Enterococcus spp.* : entre pathogènes opportunistes et probiotiques » thèse de doctorat Pour obtenir le diplôme de Doctorat Spécialité Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie, 299p.

## J

**J.O.R.A. N°35., (1998).** Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers.

**Jacquinet S.A, (2009).** EVALUATION DU DEPISTAGE DES MAMMITES PAR LA CONDUCTIVITE ELECTRIQUE DU LAIT. THESE pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE, 134p.

**Jeantet R, Croguennec T, Schuck P, Brule G, (2007).** Science des aliments : biochimie, microbiologie, procédés, produits. Paris, Lavoisier, 457p.

## K

**Kabir A, (2015).** contraint de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constat et perspective). Thèse de doctorat. Oran : Université Ahmed ben bella, 195p, 7-16.

**Kizi N., Makdoud S, (2014).** Analyse physico-chimique et microbiologique du lait cru collecté au niveau de deux régions Akbou et Sidi Aiche (Bejaia). Mémoire de fin de cycle en vue l'obtention de diplôme d'ingénieur d'état en génie biologique. Univercité Abderrahmane Mira de Bejaia, 61p.

**Konte M, (1999).** Le lait et les produits laitier développement de système de production intensive en Afrique de l'ouest. Le lait.

## L

**Labioui H, Laarousi E, Benzakour A, El Yachioui M, Berny E, et Ouhssine M. (2009).** Étude physico-chimique et Microbiologique de laits crus. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2009, 148p.

**Lafitedupont A, (2011).** Les différents laits et leur complicité les protéines de lait de vache : aspect nutritionnelle en allergie alimentaire. Thèse pour l'état de docteur en pharmacie UNIVERSITÉ DE LIMOGES FACULTÉ DE PHARMACIE, 146p.

**Le point vétérinaire.fr**, <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/le-point-veterinaire/article/n-291/conductivite-du-lait-et-detection-des-mammites.html>.



**Lederer J., (1983).** Le lait ; Encyclopédie de l'hygiène alimentaire. Tom 2, 2ème édition.

**Luquet FM, (1985).** Laits et produits laitiers ; vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle a la laiterie. Société Scientifique d'hygiène Alimentaire. Edition : Technologie et documentation- Lavoisier. Paris, 139p.

## M

**Matallah S., Matallah F., Djedid I., Mostefaoui K N., et Boukhris R (2019).** Qualité physico-chimique et microbiologique de laits crus de vache élevée en extensif au Nord-Est Algérien. Université Chadli Bendjedid(Algérie).

**Mathieu J, (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Paris : Lavoisier, « Tec et Doc », 220 p.

## N

**Naouale A.A, (2001).** Microbiologie alimentaire. Edition : 1.04.4362. Alger.

## P

**Parguel P., Corrot G., Sauvée O, (1994).** Variations du point de congélation et principales causes du mouillage du lait de vache. Institut de l'Elevage - 149, rue de Bercy Paris 75012

## R

**Rapport d'une réunion technique FAO/OMS, (2005).** Avantages et risques potentiels du système lactoperoxydase pour la conservation du lait cru, 678p.

**Remane Benmalem Y, Bellal M M., Nouani A, (2016).** Influence de quelques paramètres de production sur la qualité physicochimique et technologique du lait de vache dans les zones de plaines du haut cheliff en algérie. Ecole nationale supérieure d'agronomie d'El Harrach, Algérie, université de Boumerdes,Algérie.

## S

**Salimi O, (2011).** Impact des moisissures de l'environnement domestique dans la wilaya de rabat-sale-zemmour-zaer. Thèse de doctorat en pharmacie université Mohammed V faculté de médecine en de pharmacie –RABAT- 255p

**Santé canada (2020).** Recommandation pour la qualité de l'eau potable au Canada document technique. Document technique .61p

**Sawadogo L, (2013).** Caractérisation de *Bacillus* spp. En vue la sélection de cultures starters pour une fermentation contrôlée du bicalga (graines fermentation d'oseille). Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université polytechnique de Bobo-Dioulasso, 170p

## T

**Tir E., Bounoua S., Heddar M., Bouklila N, (2015).** Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de laits crus de vache dans deux fermes de la wilaya de Tissemsilt (Algérie) Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université de Tiaret.

## V

**Vignola, C.L. (2002).** Science et technologie du lait. Transformation du lait. École polytechnique de Montréal, ISBN, 29-34 (600 p).

**Suite web**

<https://www.futura-sciences.com/sante/>

<https://www.inspq.qc.ca/eau-potable/coliformes-fecaux>

<https://www.anses.fr/fr/content/pr%C3%A9sensation-de-lanses>

# **Annexe**

## **Annexe I :**

### **Les milieux de culture utilisés dans ce travail :**

#### **Milieu solide :**

- Gélose Plate Count Agar (PCA).
- Gélose Viande foie (VF).
- Gélose VRBL.
- Gélose Mac Conkey.
- Gélose sabouraud au chloramphénicol.
- Gélose Baird Parker

#### **Milieu liquide :**

- Bouillon Sélénite cystéine.
- Bouillon Rothe simple concentration.
- Tryptone sel.
- Eau peptone.
- Bouillon de Litsky
- Bouillon rapport vasiliadis

#### **Solutions et Réactifs :**

- Additive Alun de fer.
- Violet de gentiane.
- Lugol.
- Alcool.
- fuschine.
- Huile de cèdre (d'immersion).
- huile de vaseline.
- Réactif de Kovacs
- TDA

#### **Appareillage et verrerie :**

- Bec bunsen.
- Autoclave.

Bain marie.

Balance analytique électrique.

Balance électrique de précision.

Bécher de 150 ml.

Anse de platine.

Etuve réglables à différentes températures.

Flacon de 250ml en verre et stériles.

Four pasteur.

Pipette graduée stérile.

Pipette pasteur stériles.

Tubes à essai.

Lactoscane.

Microscope.

Lame

Porte à tube

Boîtes pétri

## **Annexe II :**

### **La composition des milieux utilisés :**

#### **Gélose point count Agar (PCA):**

Tryptone : 5.0 g

Extrait autolytique de levure : 2.5 g

Glucose: 1.0 g

Agar: 12 g (biokar) – 15 g ( Difo- Lioflichem).

pH = 7 à 25 °C

#### **Gélose viande foie (VF):**

Peptone viande foie : 30 g

Glucose : 2 g

Amidon soluble : 2 g

Sulfite de sodium : 2.50 g

Citrate ferrique ammoniacal : 0.50 g

Agar : 11.00 g

#### **Gélose cristal violet et au rouge neutre (VRBL)**

Peptone pepsique de viande : 7.0 g

Extrait autolytique de levure : 3.0 g

Lactose : 10.0 g

Sels biliaires : 1.5

Chlorure de sodium : 5.0 g

Rouge neutre : 0.030 g

Cristal violet : 0.002 g

Agar Agar : 12.0 g ( biokar) / 15.0 ( Difco – Himedia) /14.0 (liofilchem).

Ph = 7.4 à 25 °C

#### **Gélose Mac conkey :**

Peptone: 20.0 g

Lactose: 10.0 g

Rouge neuter: 0.05 g

Sels biliaires n° 3 : 1.0 g

Chlorure de sodium : 5.0 g

Agar: 15.0 g

**Gélose baird parker:**

Peptone pancréatique de caséine : 10.00 g

Extrait de viande de bœuf : 5.00 g

Extrait de levure : 1.00 g

Chlorure de lithium : 5.00 g

Glycine : 12.00 g

Pyruvate de sodium : 10.00 g

Agar : 20.00 g

**Gélose sabouraud au chloramphénicol :**

Peptone de caséine : 5.00 g

Peptone de viande : 5.00 g

Glucose monohydraté : 40.00 g

Chloramphénicol : 0.50 g

Agar : 15.00 g

**Bouillon sélénite cystéine :**

Tryptone : 5.00 g

Lactose : 4.00 g

Sélénite acide de sodium : 4.00 g

Phosphate disodique : 10.00 g

L – cystine

**Bouillon de Rothe :**

Tryptose : 15.00 g

Extrait de bœuf : 4.50 g

Chlorure de sodium : 7.50 g

Glucose : 7.50 g

Azide de sodium : 0.20 g

**Bouillon rappaport vassiliadis :**

Tryptone : 4.54 g

Chlorure de magnésium anhydre : 13.40

Chlorure de sodium : 7.20 g

Phosphate monopotassique : 1.45 g

Oxalate de vert de malachite : 0.036 g

**Bouillon de litsky :**

Peptone : 20.0 g

Glucose : 5.0 g

Chlorure de sodium : 5.0 g

Phosphate bipotassique : 2.7 g

Phosphate monopotassique : 2.7 g

Azide de sodium : 0.3 g

Ethyl violet : 0.0005

pH final 6.8



Annexe III :

Table de Mac Grady pour une série de 3 tubes par dilution

Nombre de tubes positifs au niveau de trois taux de dilutions retenus			NPP	Nombre de tubes positifs au niveau de trois taux de dilutions retenus			NPP
0	0	0	< 0,3	2	2	1	2,8
0	0	1	0,3	2	3	0	2,9
0	1	0	0,3	3	0	0	2,3
0	2	0	0,6	3	0	1	4
1	0	0	0,4	3	0	2	6
1	0	1	0,7	3	1	0	4
1	1	0	0,7	3	1	1	7
1	1	1	1,1	3	1	2	12
1	2	0	1,1	3	2	0	9
1	2	1	1,5	3	2	1	15
1	3	0	1,6	3	2	2	21
2	0	0	0,9	3	2	3	29
2	0	1	1,4	3	3	0	20
2	1	0	1,5	3	3	1	50
2	1	1	2,0	3	3	2	110
2	2	0	2,1	3	3	3	> 110