

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة – الجزائر

PROJET DE FIN D ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

THEME

EVALUATION DE LA QUALITE
BACTERIOLOGIQUE ET PHYSICO-CHIMIQUE
DU LAIT CRU AU NIVEAU DE LA LAITERIE
DE BENI TAMOU

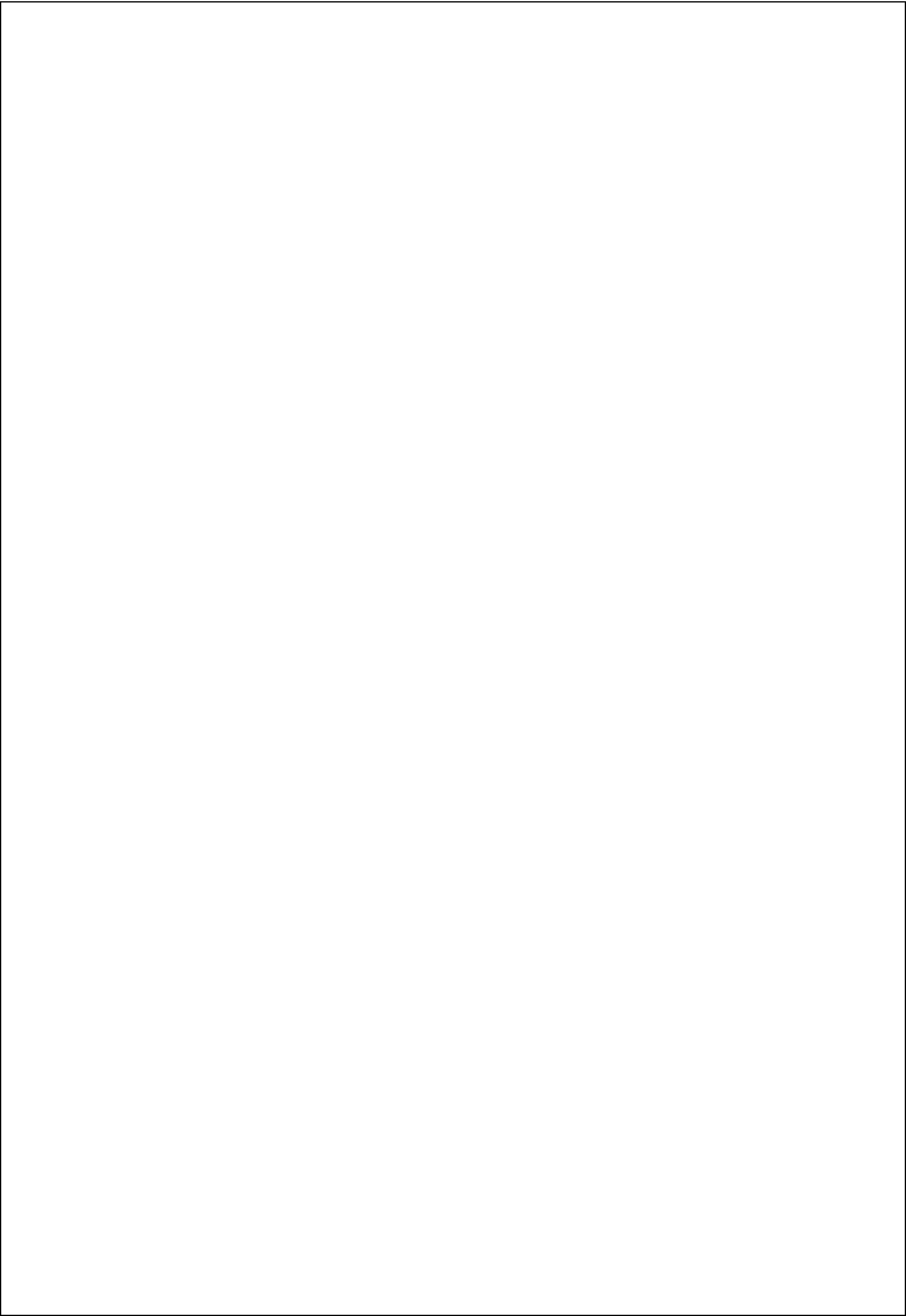
Présenté par : Melle HAMZAOUI Assia
Melle KENANE Camélia

Soutenu le : 25 /06/2005

Le jury

Président : Dr BOUKHORS. K (Maître de conférence ENV)
Promoteur : Dr HAMDY. T M (Chargé de cours ENV)
Co-promotrice : Mme SAHRAOUI. L (Professeur Ingénieur ENV)
Examineur : Dr BAKI. D (Chargée de cours à ENV)
Examineur : Dr BENDEDDOUCHE. B (Chargé de cours à ENV)

Année universitaire : 2004/2005



DEDICACES

*A vous mes très chers parents,
Ma maman exemplaire, mon papa le plus attentionné,
à vous je ne pourrais jamais assez exprimer mon éternel amour, respect
et gratitude. Pour votre amour, vos sacrifices, patience et tendresse, je
vous dédie ce modeste travail qui n'est que le fruit de votre aide, conseils
et encouragements.
Que dieu puisse vous garder pour nous.*

*A mes frères et sœurs :
Nesrine , Lynda , Samir et Lyès
A mon beau frère Sid Ali et mes belles sœurs
Mina et Karima.*

A mes tantes et oncles.

*A mes neveux et nièces :
Zaki , Aymen , Sara et Ayoub .*

A mon fiancé Boubaker .

*A mes amis :
Rym et Kahina Zaidi, Wahida KIHALL , Nesrine Laid ,
Khouchene Nouzha, Sana Abed, Nawel, Hadjer, Selma et Elyas .*

Camelia KENANE

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mon père ; l'homme qui a contribué à ma réussite, pour sa gentillesse, son dévouement, son respect et la confiance aveugle qu'il a pour moi

A la femme qui m'a mise au monde ma très chère mère pour son affection et amour.

Qu'ils reçoivent mes sincères remerciements

A mes sœurs : Malika, Nora, Houria, Yasmina, Souad, Sihem, Nassima

A mes frères : Khaled, Hamid, Yassine, pour leur présence et leur encouragements

A mes beaux frères : Mohamed, Youssri, Karim pour leur générosité et orientation

A mes adorables nièces et neveux : Nada, Farouk et Aymen que j'aime tant

A mes cousins, cousines et aussi à la personne que je n'ai d'yeux que pour elle

A mes meilleurs amies : Hind., Hala, Sihem et Tita, pour leur sincérité et fidélité

Je ne manquerai pas de dédier à mes amis de la 28^{ième} promotion particulièrement à :

*Iliess R., Mehdi D, Nadia S ,Haifa R, Camelia K, Nazim H,
Smail bercus, Ado F, Louisa H,
Kada, Sonia, Hayet, Sanaa Zahra, et Hayet Abad , avec qui j'ai passé des moments inoubliables*

HAMZA OUI ASSIA

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1 : Composition chimique global du lait.	4
Tableau 2 : Caractéristiques physiques du lait .	5
Tableau 3 :Composition de la matière grasse du lait.	6
Tableau 4 : Principaux groupes de bactéries intéressant le lait.	13
Tableau 5 : Tableau d'échantillonnage	22
Tableau 6 : Résultats microbiologiques	49
Tableau 7 : Résultats physico-chimiques	50
Tableau 8 : Tableau récapitulatif des résultats de l'analyse bactériologique	51
Tableau 9 : Taux de contamination de la flore aerobie Mésophile totale	52
Tableau 10 : Taux de contamination des Salmonelles.	53
Tableau 11 : Taux de contamination des Sulfito-reducteurs.	54
Tableau 12 : Pourcentages des résidus d'antibiotiques.	55

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : Représentation schématique d'un globule gras.	7
Figure 2 : Schéma de différentes phases d'altération.	20
Figure 3 : Diagramme des étapes de l'échantillonnage.	24
Figure 4 : Diagramme de la méthode utilisée pour la préparation de la solution mère et des dilutions.	30
Figure 5 : Diagramme de recherche et dénombrement de la flore mésophile totale.	32
Figure 6 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement de coliformes fécaux	34
Figure 7 : Diagramme de méthode de recherche d' <i>Escherichia Coli</i>	36
Figure 8 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
Figure 9 : Diagramme de la méthode de l'épreuve de coagulase	40
Figure 10 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement de <i>Streptocoques fécaux</i> .	42
Figure 11 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs et <i>Clostridium perfringens</i> .	44
Figure 12 : Diagramme de la méthode de recherche de <i>Salmonella</i> .	46
Figure 13 : Diagramme de la méthode de recherche de résidus d'antibiotiques.	48
Figure 14 : Diagramme du taux de contamination de la flore aerobie Mésophile totale.	52
Figure 15 : Diagramme du taux de contamination des Salmonelles.	53
Figure 16 : Diagramme du taux de contamination des Sulfito-reducteurs.	54
Figure 17 : Diagramme du taux de présence des résidus d'antibiotiques.	55

REMERCIEMENTS

- *Au Dr Hamdi.T.M , on voudrait à l'occasion de ce travail dire notre fierté d'être vos étudiants.*

Vous nous avez inspiré le sujet de ce mémoire et guidés de vos conseils éclairés.

Comment vous dire notre reconnaissance pour votre aide, vos encouragements et votre confiance.

- *A Mme Sahraoui. L, co-promotrice, soyez assurée de notre reconnaissance et de notre profond respect.*
- *Au Dr Boukhors.K, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.*
- *Aux : Dr Baki. D et Dr Bendeddouche .B, pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce mémoire*
- *A toute l'équipe de la bibliothèque et du service informatique de l'école Nationale Vétérinaire, permettez nous de vous dire notre gratitude pour votre aide, votre soutien et votre disponibilité.*
- *A tout le personnel de « la laiterie de Beni Tamou », pour nous avoir ouvert les portes de votre institution et pour votre gentillesse.*

SOMMAIRE

Introduction	1
--------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Définition et composition du lait

I.1.Définition	3
I.2.Composition du lait	3
I.2.1.Matières azotées totales (MAT)	5
I.2.2.Matières grasses (MG)	5
I.2.3. Glucides.....	8
I.2.4.Sels Minéraux	8
I.2.5.Vitamines.....	9
I.2.6.Enzymes.....	10
I. 2.7.Gaz dissous.....	10
I.3. Caractères organoleptiques.....	10

Chapitre II : Différentes sources de contamination du lait

II.1. Contamination biologique	11
II.1.1 Virus.....	11
II.1.2 Bactéries.....	11
II.1.3 Levures et Moisissures.....	12
II.2. Contamination chimique	14
II.2.1 Résidus de médicaments.....	14
II.2.2.Alimentation.....	14
II.2.3. Environnement.....	14
II.3. Contamination physique	15

II.3.1 Hygiène de l'étable.....	15
II.3.2 Hygiène des animaux.....	15
II.3.3 Hygiène du personnel trayeur.....	15
II.3.4 Hygiène de la traite.....	16
II.4. Contamination par la traite.....	16
II.4.1 Traite manuelle	16
II.4.2 Traite mécanique.....	17

Chapitre III : Mécanisme de l'altération

III.1 Phases de l'altération	19
III.1.1. Phase bactériostatique	19
III.1.2. Phase d'acidification	19
III.1.3. Phase de neutralisation	19
III.1.4.Phase d'alcalinisation	20

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Matériels et méthodes	21
I .1. Matériels.....	21
I.1.1.Echantillonnage.....	21
I.1.2.Technique de prélèvement	23
I.1.3.Transport et conservation de l'échantillon	23
II. Méthodes.....	26
II. 1.Analyse physico-chimiques.....	26
II.1.1.Détermination de l'acidité	26
II.1.2.Détermination de la densité du lait.....	27
II.1.3. Détermination de la matière grasse du lait	28
II.2. Analyse bactériologique.....	28
II.2.1 Préparation des solutions mères et dilutions	28
II.2.2. Recherche et dénombrement de la flore mésophile totale 30C°	31
II.2.3. Recherche et dénombrement des <i>Coliformes fécaux</i>	33

II.2.4. Recherche d' <i>Escherichia Coli</i>	35
II.2.5. Recherche et dénombrement de <i>staphylococcus aureus</i>	37
II.2.6. Recherche et dénombrement de <i>Streptocoques fécaux</i>	41
II.2.7. Recherche et dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs et <i>Clostridium</i> <i>perfringens</i>	43
II.2.8 Recherche des <i>Salmonelles</i>	45
II.2.9 Recherche des résidus d'antibiotiques	47
III. Résultats et discussion	49
III. 1. Résultats.....	49
III. 2. Discussion.....	56
VI.CONCLUSION	58

.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

INTRODUCTION

Aliment biologique par excellence, le lait fut de tous temps un symbole de fertilité, de richesse et d'abondance. La composition et les qualités nutritives du lait en font un aliment presque complet. Si aucun aliment ne peut combler tous nos besoins et assurer à lui seul le bon fonctionnement de l'organisme, le lait est toutefois l'aliment qui se rapproche le plus de cet idéal.

Les premières traces d'élevage laitier remontent à 10 000 ans, au Moyen-Orient. Les plus anciennes représentations de "laiterie" se trouvent à Sumer, en Mésopotamie. En Inde et en Asie est bu le lait de zébu, de bufflonne, de jument. La consommation de laits fermentés, dont le fameux koumys (lait de jument légèrement alcoolisé) remonte à la domestication des animaux. On en trouve les premières traces en Eurasie. Dans d'autres contrées, le lait de chamelle ou d'ânesse est un aliment incontournable. Depuis l'antiquité, les êtres humains utilisaient le lait comme source de protéines, lipides et glucides. Dans l'Antiquité, Grecs et Romains prisent le lait de brebis et de chèvre, sans négliger le lait d'ânesse. Ils apprécient particulièrement le colostrum, premier lait de la chèvre après la naissance du chevreau, très épais.

Historiquement, le lait a été préservé sous forme de fromage ou lait fermenté ce qu'on appelle la fermentation.

En 1860, le premier traitement thermique du lait avec un objectif spécifique a été attribué à Louis Pasteur, depuis cette date le lait est pasteurisé dans les industries laitières en utilisant la température pour contrôler ou détruire les micro-organismes pathogènes.

Le lait est synthétisé au niveau des cellules spécialisées de la glande mammaire, il est pratiquement stérile une fois sécrété dans les alvéoles de la mamelle. Au delà de cette étape de production laitière, la contamination microbienne peut généralement se produire au niveau de trois sources principales : de l'intérieur de la mamelle, de l'extérieur de la mamelle et de la surface de l'équipement de manipulation et de stockage de lait.

C'est ainsi que le lait cru de la collecte suit un long cheminement avant d'arriver à la laiterie. Prélevé de vaches saines il contient quelques bactéries, mais il acquiert beaucoup plus à partir du corps de la vache, de la poussière et de l'environnement de la ferme, des mains des trayeurs, de la machine à traire et des bidons à lait. La température et la durée de stockage également sont importantes et permettent aux contaminants microbiens de se multiplier et d'augmenter dans des proportions plus ou moins importantes. Il est pratiquement impossible d'éviter une partie de cette contamination. Tous ces facteurs vont influencer la qualité du lait cru ; d'où l'intérêt de réaliser un examen microbiologique du lait cru afin de contrôler régulièrement les taux de contamination.

Dans notre mémoire, nous nous sommes intéressées à l'étude la qualité bactériologique et physico chimique du lait cru récolté au niveau de différentes régions des wilayas de Blida et Alger, en utilisant des méthodes d'analyses normalisées, fixées par la réglementation.

L'appréciation de cette qualité revient en fait à évaluer le niveau de contamination du lait cru. C'est ainsi qu'un lait cru hautement contaminé représente :

D'abord un danger pour la santé humaine lorsqu'il est consommé en l'état ou même après transformation en différents produits dérivés (lait caillé, petit-lait, fromages frais).

Il représente une entrave à la transformation en industrie laitière : en perturbant la production fromagère d'une part et en influençant la qualité des traitements thermiques utilisés dans les industries laitières d'autre part, principalement la pasteurisation.

I. Définition et composition du lait

I.1. Définition

Dès 1909, le Congrès international de la Répression des Fraudes de Paris définissait le lait comme « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie, et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum. »

Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance correspond au lait de vache (BOURGEOIS et al., 1990).

I.2. Composition du lait

Le lait est l'une des matières alimentaires les plus complexes, aussi bien du point de vue structure que composition chimique (cf. tableau 1).

Il est composé de quatre éléments majeurs : protéines, lipides, glucides et sels minéraux et de plusieurs éléments mineurs : vitamines, oligo-éléments, gaz dissous et enzymes. Certains d'entre eux jouent un rôle en raison de leur activité biologique (F.A.O, 1998).

Tableau n°1: composition chimique global du lait (g/litre)
(BOURGEOIS et LEVEAU, 1990)

Compositions	Valeurs g / L
Eau	900
Glucides (Lactose)	49
Matières grasses	39
Lipides	38
Phospholipides	0,5
Composes liposolubles	0,5
Matières azotées totales	33
Protéines	32,7
Caséines	28
Protéines solubles	4,7
Azote non protéique	0,3
sels minéraux	9
Vitamines, enzymes	Traces
Gaz dissous	5% (du volume lait)
Matière sèche totale	130

Tableau n°2 : Caractéristiques physiques du lait (LARPENT, 1990)

Paramètres	Valeurs
pH (à 20°C)	6,5 à 6,7
Acidité titrable	16 à 18° D
Densité (20°C)	1,023 à 1,040
Point de congélation	-0,518°C à -0,534°C
Point d'ébullition	100,17°C
1 litre de lait	10329 g

1 Degré Dornic = 1,6 à 1,9g d'acide lactique par litre de lait.

I.2.1. Matières azotées totales (MAT)

On distingue les matières azotées protéiques ou protéines et les matières azotées non protéiques (F.A.O, 1998).

Le taux protéique (TP) représente 95% de l'azote total du lait, soit 32,7% de protéines par litre. La répartition en pourcentage des diverses protéines est de : 80% de caséines, 19% de protéines solubles (albumines et globulines), et 1% de diverses protéines (enzymes). La fraction azotée non protéique est d'environ 0,3 g/l dont l'urée constitue approximativement la moitié, mais aussi des nucléotides et bases puriques. En fonction de leur solubilité à pH= 4,6, les protéines sont réparties en deux catégories : les caséines insolubles et les protéines du lactosérum solubles. Elles ont un rôle nutritif d'apport en azote et acides aminés indispensables. La caséine est sous forme micellaire et constituée par juxtaposition de caséine kappa. Les protéines solubles du lactosérum représentent 20% des protéines du lait, les plus représentatives sont : la β Lactoglobuline et l' α lactalbumine, le lactosérum renferme de très nombreuses autres protéines; immunoglobulines, enzymes (phosphatase, lipase, peroxydase) (LUQUET, 1985).

I.2.2.Matières grasses (MG)

Les matières grasses sont présentes dans le lait sous forme d'une émulsion de globules gras. Dans le lait de vache, ces globules gras mesurent en moyenne 1 à 5 microns jusqu'à 20 microns de diamètre.

Les triglycérides liquides sont au centre du globule, il y a une membrane formée de protéines, d'eau et de minéraux sur la face externe et les phospholipides sur la face interne (Cf. fig. n°1).

La teneur en matières grasses du lait est appelée taux butyreux (TB), il varie selon des conditions zootechniques (race et génétique de la vache, stade de lactation, alimentation) (JENNESS et LOAN, 1970).

La matière grasse est constituée par 98.5% de glycérides (ester d'acides gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0.5% de substances liposolubles : cholestérol, hydrocarbures et vitamines liposolubles A, D, E et K, (Cf. tableau n°3).

La matière grasse est constituée de lipides saturés (60 à 65%) et de lipides insaturés pour au moins 35%, elle est cependant pauvre en acides gras poly-insaturés (LUQUET, 1986.).

Tableau n°3: composition de la matière grasse du lait (LUQUET, 1986).

constituants	Teneur moyenne en %
composés lipidiques	99.5
lipides simples	98.5
glycérides : triglycérides	95-96
Di glycérides	2-3
Mono glycérides	0.1
Cholestérides (esters d'AG et cholestérol)	0.03
Cérides (ester d'AG et alcool longs).	0.02
Lipides complexes.	1
Acides gars libres.	0.5
Composés liposolubles	0.5
2.1. cholestérol.	0.3
2.2. Vitamines : E (tocophérol).	0.1
A (axérophtol)	1.4 à 4.2mg/100g de MG
D	0.6 à 1.2 mg/100g de MG
K	10µg/100g de MG

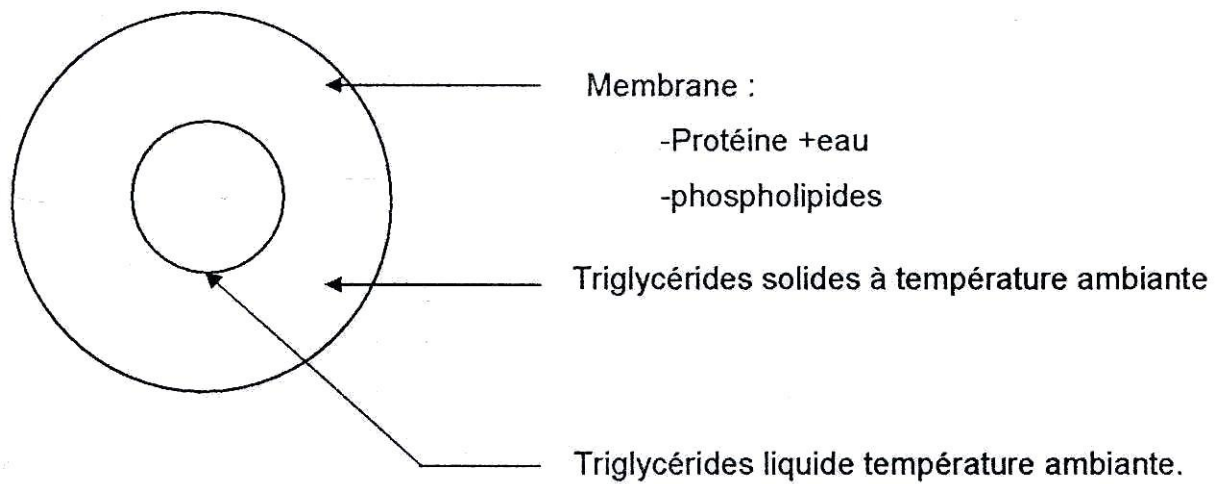


Figure n°1 : Représentation schématique d'un globule gras (JENNESS et SLOAN, 1970)

I.2.3. Glucides

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait et représente 99% des glucides de mono gastriques. Sa teneur est très stable entre 40 et 50 g/l, cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du TB.

Le lactose est un sucre spécifique du lait. C'est un diholoside, composé d'une molécule de glucose et d'une molécule de galactose (JENNESS et SLOAN, 1970). La synthèse du lactose se déroule dans la glande mammaire par fixation 1→4 d'un Galactose sur glucose, elle s'effectue dans les acinis à partir du glucose sanguin produit essentiellement dans le foie (DEBRY et COLL, 2001).

Chez les ruminants, le glucose et le galactose peuvent eux-mêmes provenir en partie de l'acide acétique formé dans le rumen lors de l'attaque de la cellulose par la flore (ADRIAN, 1972).

I.2.4. Sels Minéraux

I.2.4.1. Macroéléments

I.2.4.1.1. Calcium et Phosphore

La teneur moyenne en calcium dans le lait, varie entre 100 et 140 mg/100ml et la teneur en phosphore entre 80 et 100 mg/100 ml ce qui donne un rapport Ca par P moyen de 1,25. Près de 2/3 de ces minéraux sont liés à la micelle de caséine.

I.2 4.1.2. Potassium, sodium et chlore

D'après LUQUET, 1986 la teneur du lait en ces minéraux est de :

Potassium: 140 à 175 mg /100 ml ;

Sodium: 40 à 60 mg /100 ml ;

Chlore : 115 à 150 mg/100 ml.

I.2.4.2. Oligo-éléments

I.2.4.2.1. Fer

La teneur du lait en fer est faible soumise à de franches variations de l'ordre de 0.03 mg/100 ml bien plus faible que le lait de femme 0.1 mg/100 ml.

I.2.4.2.2. Zinc

Les taux de zinc vont de 150 à 400 µg/100 ml avec une moyenne de 300 µg/100 ml

I.2.4.2.3. Iode

Les teneurs moyennes sont de l'ordre de 2 à 10 µg/100ml.

I.2.5. Vitamines

Les vitamines sont des nutriments indispensables au bon fonctionnement de l'organisme du métabolisme et également de la croissance chez les enfants. Elles interviennent entre autre dans la synthèse des hormones, des substances chimiques du système nerveux et du matériel génétique.

Les vitamines sont des biocatalyseurs qui entrent dans de nombreux métabolismes. Le lait apporte un complément vitaminique important dans une ration alimentaire.

Les vitamines sont classées selon leurs solubilités dans les corps gras ou dans l'eau, en vitamines liposolubles et hydrosolubles.

- Les vitamines hydrosolubles sont fixés sur les micelles des caséines ou dispersés dans la phase aqueuse on peut citer les vitamines du groupe B (B1, B2, B6 et B12), acides pantothénique ainsi que la vitamine C : ce sont des vitamines non stockable dans l'organisme et doivent être consommés régulièrement.
- Les vitamines liposolubles sont localisées dans la phase grasse ou l'on distingue les vitamines A, D, E et K. celles-ci contrairement aux vitamines hydrosolubles peuvent être stockées dans des graisses de l'organisme.

On note par ailleurs que seule la vitamine D peut être synthétisée par l'organisme. Toutes les autres proviennent de l'alimentation.

Les carences vitaminiques sont responsables de nombreux dysfonctionnements métaboliques et organiques et une nourriture équilibrée apporte toutes les vitamines nécessaires et suffit en règle générale à se protéger contre les effets d'une carence.

Les teneurs en différentes vitamines sont données ci-dessous :

Vitamines			
Hydrosolubles		Liposolubles	
Vitamines	Valeurs	Vitamines	Valeurs
B1	0.3-1 mg/l	A	500-100 UI/l
B2	0.8-3 mg/l	D	15-20 UI/l
PP	1-2 mg/l	E	1-2 mg /l
Acide pantothénique	2-5 mg/l	K	0.02 -0.2 mg/ l
B6	0.3-1 mg/l		
B12	1-8 µg/l		
C	10-20 mg/l		

Il faut noter que l'intérêt vitaminique du lait réside en son apport en vitamine A et vitamine du groupe B principalement B1, B2, B12 et acide pantothénique.

I.2.6. Enzymes

Une soixantaine d'enzymes a été répertoriée dans le lait mais leur rôle n'est pas toujours clairement établi. Certaines de ces enzymes n'existent d'ailleurs pas ou à peine dans le lait humain.

Certaines sont des facteurs de dégradation (utiles ou nuisible) comme les protéases qui facilitent l'hydrolyse de la caséine et les lipases facteurs de rancissement. Enfin la quantité de certaines enzymes du lait (catalase) constitue un indicateur de son niveau d'hygiène.

I.2.7. Gaz dissous

D'après VEISSYRER 1979, les gaz dissous retrouvés dans le lait sont essentiellement :

CO₂.....4.45 (% du volume lait)

N₂.....1.49 (% du volume lait)

O₂.....0.47 (% du volume lait)

I.3. Propriétés organoleptiques du lait :

Le lait est un liquide opaque, blanc mat, plus au moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en carotène. Il a une couleur peu marqué mais caractéristique, son goût varie selon les espèces animales, il est agréable et douceâtre (BOURGEOIS et LEVEAU, 1990).

Chapitre II:

II. Différentes sources de contamination du lait

II .1. Contamination biologique

Le lait au cours de la traite du transport et de stockage à la ferme ou à l'usine peut être contaminé par une grande variété de micro-organismes. Une partie seulement d'entre eux se multiplie dans le lait cru sans que la température, leur soit favorable et que le milieu leur soit propice.

Il en résulte que la nature de la flore microbienne du lait cru est à la fois complexe et variable d'un échantillon à l'autre et suivant l'âge du lait et les principales sources de contamination (LAMARI, 1997)

Les micro-organismes se multiplient, se nourrissent, s'adaptent et excrètent des produits de leurs métabolismes qui pourront être utiles, nuisibles ou dangereux pour le consommateur. On distingue quatre groupes de micro-organismes qui ont une importance dans le domaine laitier: les virus, les bactéries, les levures et les moisissures.

II. 1.1. Virus

Les virus sont des parasites des cellules, ces dernières sont indispensables à la multiplication virale, ils ne se multiplient pas dans les aliments en absence de cellules animales ou bactériennes.

Les principaux virus rencontrés dans le secteur laitier sont les virus de l'hépatite A et les bactériophages qui sont spécifiques des bactéries et ne représentent aucun danger pour la santé humaine (F.A.O, 1995).

II. 1.2. Bactéries

Selon le type d'action de chaque groupe bactérien et ses répercussions sur le lait et la santé des consommateurs, on classe les bactéries laitières en trois grands groupes:

➤ Bactéries utiles

Appelées encore ferments, utilisées dans l'industrie laitière pour la production des fromages, yaourts et autres produits laitiers fermentés. Parmi ces bactéries les ferments lactiques utilisés pour acidification (F.A.O, 1995).

➤ **Bactéries nuisibles**

Bactéries responsables des dégradations du lait, elles provoquent le limonage entraînant l'apparition d'une texture visqueuse à la surface des fromages, présence de longs filaments dans le lait, le surissement ou le caillage du lait et la production de mauvaises odeurs (GUIRAND, 1998).

➤ **Bactéries pathogènes**

Bactéries responsables des affections de la santé des manipulateurs et des consommateurs soit par leur présence dans le lait au moment de sa consommation (*Salmonelles*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia Coli*, *Campylobacter*,....) ou par la production de toxine qui provoquent les maladies (*Staphylocoques*, *Clostridium botulinum*) (F.A.O, 1995).

II. 1.3 Levures et les moisissures

Les levures et moisissures participent à l'affinage de certains fromages et la fabrication produits laitiers fermentés. On n'a pas identifié des levures pathogènes dans le lait cru par contre il existe des moisissures utiles et toxiques (CELC, 1998).

La coloration de Gram permet de classer la flore du lait cru comme il est indiqué dans le tableau 4.

Tableau n°4: Principaux groupes de bactéries intéressant le lait (ALAIS, 1963)

Bactéries	Caractéristiques
Bactéries Gram+	
-Bactéries lactiques	Les plus importantes tant par leurs activités biochimiques que par leur nombre, fermentent le lactose en donnant une proportion élevée d'acide lactique
Microcoques	Font partie de la flore banale de contamination, sont en général aérobies, dégradent le glucose d'une manière oxydative en ne provoquant qu'un faible abaissement du PH, leurs activités enzymatiques sont réduites
<i>Staphylocoques</i>	Germe aéro- anaérobies, provoquent une fermentation acidifiante du glucose et produisent de l'acétoïne .Le germe le plus pathogène est <i>Staphylococcus aureus</i> .
<i>Bacillaceae</i>	Beaucoup de bactéries sont mésophiles et sont inhibées à des températures supérieures à 45°C, elles ne se manifestent guère dans le lait cru et les produits laitiers non chauffés,elles sont responsables de l'altération des laits bouillis ou insuffisamment stérilisés

2- Bactéries Gram-	Caractéristiques
Entérobactéries	Sont souvent moins abondantes dans le lait , que d'autres bactéries Gram-, fermentent les sucres avec production de gaz(gaz carbonique et hydrogène) et d'acides ,se développent à des température très différentes, résistent aux antibiotiques qui se trouvent occasionnellement dans le lait
<i>Achromobacteriaceae</i>	Bactéries saprophytes, aérobies, ne fermentent pas les sucres, ne coagulent pas le lait, ont des activités enzymatiques très limitées, forment une part importante de la microflore psychrotrophe.
Bactéries diverses	Les plus fréquentes sont : <i>Pseudomonas</i> : véhiculées par les eaux impures, sont gênantes du fait de leurs activités protéolytiques et lipolytiques. <i>Brucella</i> : pathogène pour l'homme et les animaux, agents de brucelloses

II. 2. Contamination chimique

II .2.1. Résidus de médicaments

Le problème qui a sans doute le plus d'importance est celui de la présence éventuelle de résidus de médicaments, et en particulier d'antibiotiques consécutifs à des administrations médicamenteuses.

En effet, des millions de litres de lait sont rendus inutilisables chaque année en raison de la présence d'inhibiteurs, c'est un des motifs pour lesquels des chartes de qualité sont établies entre les entreprises et les éleveurs afin que soit maîtrisée l'utilisation des médicaments pour les traitements divers (mammites ou traitement au tarissement). C'est aussi la raison pour laquelle sont établis les plans de surveillance.

II .2.2. Alimentation

Les conditions d'alimentation jouent aussi un rôle prépondérant sur la qualité physico-chimique du lait. Parmi les problèmes que l'on peut évoquer intervient en particulier celui de la contamination des tourteaux par les aflatoxines.

De façon très pratique faut-il rappeler aussi que les aliments interdits aux ruminants ne le sont pas obligatoirement pour d'autres espèces d'où certains aspects très pratiques à prendre en considération, tels la séparation de lieux de stockage pour les aliments afin d'éviter la distribution d'aliments non autorisés d'une part, le mélange involontaire entre les aliments d'autre part.

II. 2.3. Environnement

On prête de plus en plus intérêt aux risques liés à l'environnement (pollution directe de la terre par les résidus organochlorés, organophosphorés ou indirecte par les rejets dans l'air des usines (dioxines....)).

Ce problème des contaminants chimiques se pose de façon quelque peu différente de celle des contaminants microbiens.

En effet, la teneur en agent toxique donné dans un aliment doit être mise en parallèle avec la quantité d'aliment effectivement ingérée par le consommateur.

Dans cet esprit "la formulation ou la présentation de l'aliment doit être prise en compte; l'ignorance de ce point est souvent à l'origine de débats faussés sur la sécurité des aliments pour une personne non avertie (DERACHE,1989).

II. 3. Contamination physique

II. 3.1 Hygiène de l'étable

L'obscurité et les atmosphères humides, chaudes, confinées, ammoniacales sont pernicieuses; elles mettent à l'épreuve la santé des vaches et favorisent le développement de divers microorganismes.

Par contre l'aération assainit l'atmosphère et abaisse la température, ce qui a pour effet de freiner l'activité microbienne. La lumière solaire est nécessaire à la santé des animaux et à l'assainissement (action bactéricide de lumière).

Tous les aménagements qui favorisent la propreté des animaux et du local sont favorables à la qualité hygiénique du lait :

- Stalles courtes qui isolent les animaux de leurs déjections,
- Sol surélevé, stalles en pente,
- Préparation des aliments à l'extérieur de l'étable,
- Blanchiment des murs avec des solutions insecticides, germicides et fongicides;
lutte contre les larves dans les fumiers et composts.

Néanmoins l'étable classique est moins bien adaptée à la production d'un lait sain et de qualité que la stabulation libre; celle-ci est favorable à la santé des animaux et à leur production laitière; de plus l'existence d'une salle de traite permet d'obtenir un lait de qualité en limitant les manipulations.

II. 3.2 Hygiène des animaux

Les vaches doivent être propres. De nombreuses contaminations proviennent de diverses chutes de poils ou de particules dans le lait. Malheureusement, les possibilités actuelles de main-d'œuvre ne permettent pas l'étrillage et le pansage des bêtes. C'est pourquoi, la vie à l'herbage et la stabulation libre sont vivement recommandées.

II. 3.3 Hygiène du personnel trayeur

Le trayeur doit être exempt de toute maladie contagieuse que pourrait transmettre le lait puis les produits qui en dérivent. Il doit revêtir des vêtements propres et faciles à nettoyer et se laver soigneusement les mains et les avant-bras avant la traite.

En changeant de vêtements, il évitera ainsi la contamination du lait par les poussières récoltées, à l'extérieur lors de l'affouragement et au cours des soins donnés aux animaux (poussières riches notamment en germes thermorésistants)

II. 3.4 Hygiène de la traite

Il faut éviter de procéder à l'affouragement pendant ou juste avant la traite, les poussières et les germes en suspension dans l'air retombant ensuite dans le lait.

Afin d'éviter la chute des particules diverses dans le lait le flanc où se tient le trayeur doit être humecté, la queue peut être attachée.

La contamination est importante :

- 1g de foin apporte...15 millions de microorganismes.
- 1g de boursse apporte...10 milliards de microorganismes.
- 1g de débris de peau apporte...1 million de microorganismes.

Les mouches sont également porteuses de nombreux germes; ceux-ci présentent souvent la particularité d'être thermorésistants et sont la cause de sérieux ennuis lors de la pasteurisation et même de la stérilisation.

Le trayeur doit laver la mamelle et en particulier l'extrémité du pis.

Une question se pose : qui de la traite manuelle ou de la traite mécanique donne le meilleur lait?

Des enquêtes ont prouvé que tant au point de vue de la qualité du lait que de la santé des animaux, les deux méthodes de traite donnent de bons résultats, lorsqu'elles sont pratiquées correctement.

Ainsi, avec une machine à traire bien nettoyée et désinfectée, on peut obtenir un lait ayant de 20 à 50.000 germes/ml.

II. 4. Contamination par la traite

II. 4.1 traite manuelle

Importance de l'élimination des premiers jets :

Les germes présents sur une litière plus au moins souillée et sur un épiderme voisin de l'orifice du trayon, pénètrent à l'intérieur du canal galactophore et remontent dans le sinus ou citerne du trayon. Aussi, les premiers jets de lait produits par l'animal lors de la traite se trouvent-ils extrêmement pollués, et doivent être éliminés systématiquement.

Lors de l'élimination des premiers jets, il est possible de les récolter sur une surface noire. Une coloration anormale du lait (filet de sang par exemple) observée par contraste est un premier moyen de détecter une mammite.

❖ **Les mammites**

La cause principale de cette affection très fréquente est l'extraction incomplète du lait lors de la traite, le reliquat de lait constituant un milieu de développement pour certains microorganismes.

Dans le cas de la machine à traire, cela arrive à la suite d'un égouttage insuffisant. Beaucoup d'utilisateurs ignorent la technique de l'égouttage à la machine.

Une machine déréglée provoque également des lésions par dilatation anormale du sphincter : un vide excessif dilate trop fortement le sphincter, aspire le trayon dans le gobelet et provoque des plaies par frottement sur les parois du canal du trayon. Les mêmes accidents se constatent lorsque le trayeur laisse la machine en fonctionnement sur un trayon dont le pis est déjà totalement vidé.

Les manchons usés, les tuyaux fendus, faute d'être changés dans un délai normal provoquent les mêmes accidents. Suivant leur gravité, on distingue les mammites latentes (mammites sub-cliniques) et les mammites aiguës (mammites cliniques).

Les mammites latentes sont des petites inflammations des tissus mammaires qui n'apparaissent pas à l'œil nu. Elles ne se décèlent que par la recherche de leucocytes (examen microscopique ou par l'épreuve C.M.T : California Mammité Test).

Si la résistance des tissus mammaires diminue par suite d'un refroidissement, d'un coup ou d'une maladie généralisée, la petite inflammation se complique d'où une infection, il s'agit, alors, d'une mammité aiguë.

Cette possibilité d'aggravation d'une mammité latente montre tout l'intérêt du dépistage de cette dernière avant le développement d l'infection.

Le traitement par antibiotique généralement préconisé interdit aux producteurs la livraison du lait des vaches en cours de soins.

II. 4.2 Traite mécanique

A la suite de trop nombreuses négligences, la machine à traire a été rendue coupable de toutes les contaminations. Il est pourtant facile d'obtenir un lait propre avec la traite mécanique, à condition toutefois :

- De ne jamais négliger le nettoyage,
- De se méfier de toute publicité qui peut prétendre que le nettoyage est inutile,

- D'éliminer les machines dont certains éléments sont d'un nettoyage difficile (certaines griffes par exemple),
- Ne pas conserver des tuyaux et des manchons usés. Le matériel en caoutchouc devrait être remplacé tous les six mois.
- Ne pas différer le nettoyage : un rinçage immédiat vaut plusieurs désinfections, le lait coagulé se détachant mal des parois.
- Ne pas nettoyer avec des eaux de qualité bactériologique douteuse et des produits d'entretien inadéquats.

Les consignes de nettoyage de la vaisselle laitière se résument ainsi :

➤ A chaque traite:

Rincer l'installation à l'eau potable et fraîche avant la traite;

➤ Après chaque traite:

Rincer à l'eau froide (et non à l'eau chaude), en créant des bouillonnements,

Faire aspirer une solution détergente chaude,

Brosser manchons, tuyaux, griffes....,

Faire aspirer une solution désinfectante (4 cuillerées d'eau de javel/10 litres d'eau),

Suspendre toutes les pièces dans un endroit frais et propre.

L'usage d'un auto laveur nécessite une circulation pendant au moins 15 minutes de l'eau ou de la solution détergente.

➤ Une fois par semaine:

Rincer la machine à l'eau froide,

Démonter toutes les pièces et laisser tremper une heure dans l'eau froide,

Faire tremper les pièces dans une solution avec détergent acide,

Brosser les pièces et rincer avec détergent acide,

Rincer à l'eau bouillante et laisser sécher,

Ne pas oublier le nettoyage de la canalisation de vide.

Chapitre III : Mécanismes de l'altération du lait

Le lait une fois contaminé s'altère d'une manière plus ou moins rapide; ainsi la flore initiale du lait peut se développer en fonction:

- De l'abandon du lait à une température atmosphérique plus ou moins élevée,
- D'une conservation prolongée,
- D'une teneur en microorganismes initiale déjà élevée.

En été, la flore microbienne double toutes les 20 à 30 minutes. Si cette flore évolue si vite, c'est qu'elle trouve dans le lait un excellent milieu pour sa croissance, car il est constitué de protéines, de lactose et de sels minéraux.

III. 1. Phases de l'altération du lait

Suivant le degré de dégradation des constituants du lait sous l'effet de l'activité microbienne, se distinguent quatre états bactériologiques du lait.

III. 1.1. Phase bactériostatique

A la sortie de la mamelle, la flore microbienne d'un lait, recueilli dans un récipient propre est dans une phase de latence. Les microbes ne se développent pas. Certains auteurs prétendent même à une diminution des microorganismes. Cette période de latence de deux heures à une température estivale pourrait se prolonger durant 24 heures dans le cas d'une réfrigération rapide du lait sitôt après la traite.

III. 1.2. Phase d'acidification

Celle-ci peut se traduire par les observations suivantes:

L'acidité ionique diminue et le degré Dornic augmente. La fermentation du lactose par les espèces du groupe lactique principalement, aboutit à une production d'acide lactique.

Cette phase se poursuit jusqu'à coagulation du lait par acidification (maximum PH 4,6).

III. 1.3. Phase de neutralisation

L'acide produit, dans la seconde phase est à son tour utilisé par les levures et moisissures présentes dans le lait altéré (PH 7), d'où la nécessité d'un contrôle des flores acidogènes et acidivores.

III. 1.4. Phase d'alcalinisation

Elle est également dite de putréfaction et se traduit par une production d'hydrogène sulfuré, indice de la dégradation systématique du lait et en particulier des protéines qui sont protéolysées.

Le mécanisme est résumé dans la figure n°2.

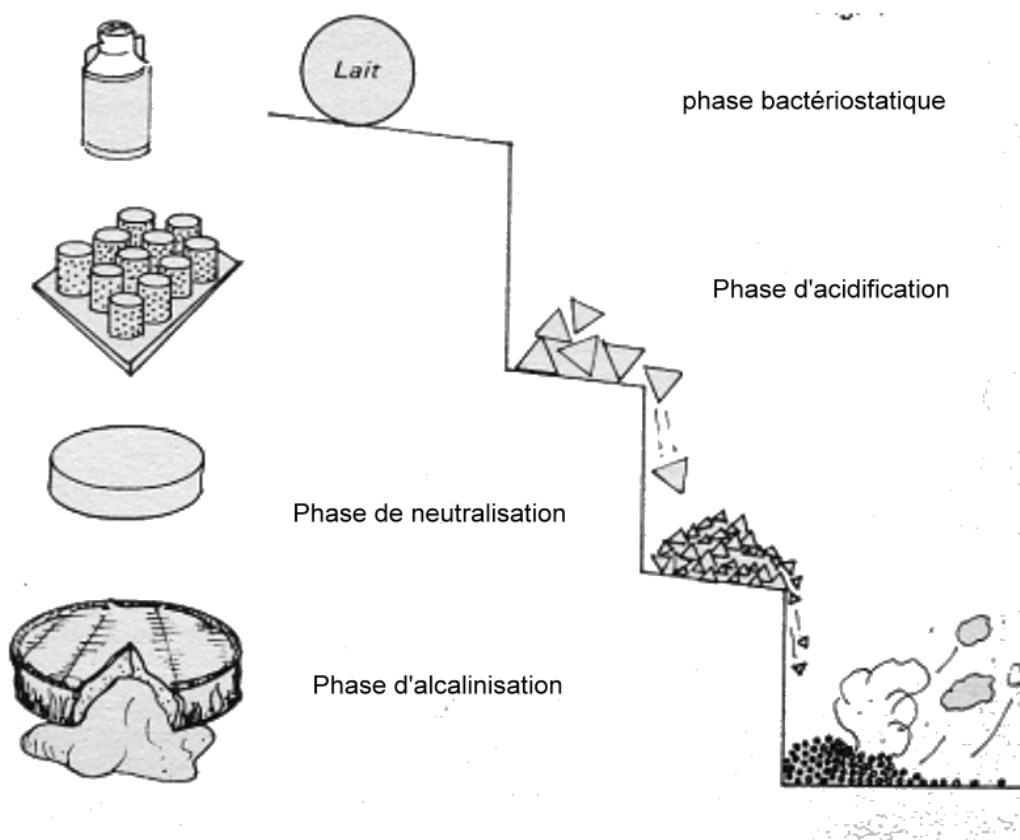


Figure n°2 : Schéma de différentes phases d'altération.

ETUDE EXPERIMENTALE

Notre étude expérimentale consiste en la détermination des différentes flores présentes dans le lait afin d'évaluer le niveau de contamination de ce lait et les conséquences que cela peut avoir sur le prix du lait, car plus le lait est contaminé, plus le prix diminue.

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériels

I.1. 1. Echantillonnage

Tous les échantillons (36) ont été prélevés au niveau de la laiterie de Beni-Tamou (Wilaya de Blida). Les échantillons sont prélevés à partir des citernes des camions des collecteurs lesquels collectent les laits crus chez différents producteurs au niveau d'une zone pouvant aller d'une commune à plusieurs communes d'une même wilaya ou de wilayas différentes. La capacité de chaque citerne étant de 3000 litres environ. La capacité de chaque échantillon étant de 250 ml de lait. (cf. tableau n°5)

Tableau n°5 : Tableau d'échantillonnage

N°du lot	Date	Nom	Adresse
1	12-07-2004	ABED	BLIDA
2	12-07-2004	ABED	BLIDA
3	14-07-2004	TIFOURI	BLIDA (BOUFARIK)
4	14-07-2004	TIFOURI	BLIDA (BOUFARIK)
5	14-07-2004	BOUAICHI	TIPAZA
6	14-07-2004	BOUAICHI	TIPAZA
7	14-07-2004	ABED	BLIDA
8	14-07-2004	ABED	BLIDA
9	17-07-2004	TIFOURI	BLIDA (BOUFARIK)
10	17-07-2004	TIFOURI	BLIDA (BOUFARIK)
11	17-07-2004	ABED	BLIDA
12	17-07-2004	ABED	BLIDA
13	19-07-2004	ABED	BLIDA
14	19-07-2004	ABED	BLIDA
15	19-07-2004	GUELM	ALGER, BLIDA
16	19-07-2004	GUELM	ALGER, BLIDA
17	21-07-2004	ABED	BLIDA
18	21-07-2004	ABED	BLIDA
19	21-07-2004	GUERNAOUIT	MEDEA
20	21-07-2004	GUERNAOUIT	MEDEA
21	24-07-2004	ABED	BLIDA
22	24-07-2004	ABED	BLIDA
23	24-07-2004	GUERNAOUIT	MEDEA
24	24-07-2004	GUERNAOUIT	MEDEA
25	26-07-2004	BOUAICHA	TIPAZA
26	26-07-2004	BOUAICHA	TIPAZA
27	26-07-2004	GUERNAOUIT	TIPAZA
28	26-07-2004	GUERNAOUIT	TIPAZA
29	28-07-2004	BOUAICHA	TIPAZA
30	28-07-2004	BOUAICHA	TIPAZA
31	28-07-2004	GUELM	ALGER, BLIDA
32	28-07-2004	GUELM	ALGER, BLIDA
33	31-07-2004	SERVACOO	MEDEA
34	31-07-2004	SERVACOO	MEDEA
35	31-07-2004	GUERNAOUIT	MEDEA
36	31-07-2004	GUERNAOUIT	MEDEA

I.1.2. Technique de prélèvement

Le prélèvement est effectué à l'aide d'un flacon stérile. Il est nécessaire évidemment de nettoyer le robinet de prise d'échantillon de la citerne, de le désinfecter à la flamme ; et de laisser couler une certaine quantité de liquide avant de faire le prélèvement. Il faut aussi penser au risque de contamination par voie aérienne et s'en protéger dans la mesure du possible (Bourgeois et LEVEAU, 1991).

I.1.3. Transport et conservation de l'échantillon

Nous avons tenté de respecter les principes édictés par Bourgeois et LEVEAU (1991) qui préconisent de tout mettre en œuvre pour stabiliser qualitativement et quantitativement la flore présente au moment du prélèvement depuis le prélèvement jusqu'au traitement de l'échantillon . Les précautions qui permettent de tendre vers cet objectif sont :

- Un délai aussi court que possible entre prélèvement et traitement, c'est-à-dire un transport rapide et un stockage bref.
- La conservation à basse température (enceinte réfrigérée) pendant toute la durée du transport et du stockage ultérieur (réfrigération).

Les 36 échantillons sont ensuite congelés pour être utilisés plus tard pour la recherche des résidus d'antibiotiques.

La figure n° 3 résume l'ensemble des étapes utilisées lors de nos prélèvements.

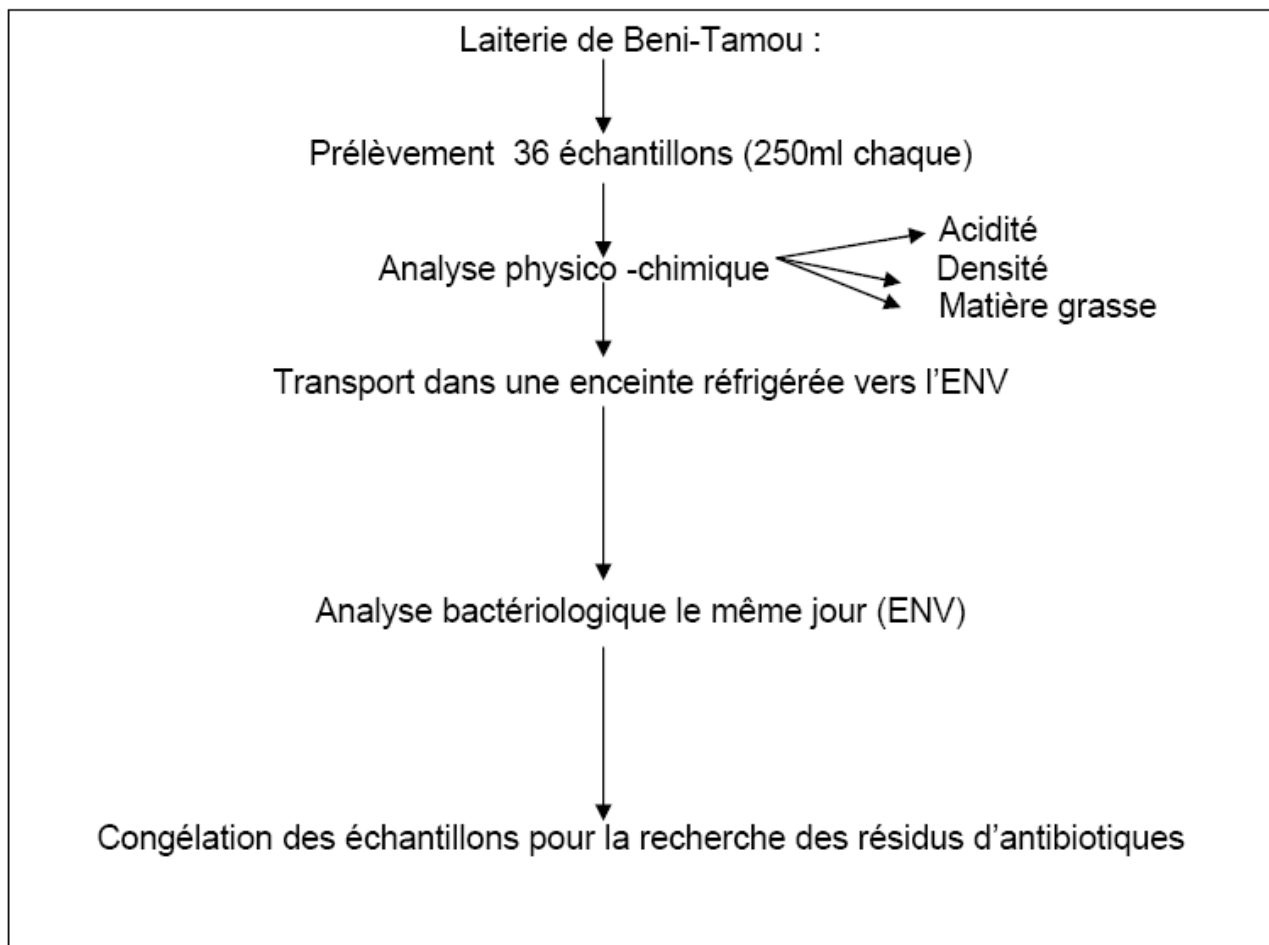


Figure n°3 : Diagramme des étapes de l'échantillonnage.

❖ **Matériels et verreries**

- Flacons stériles
- Tubes stériles
- Pipettes graduées de 2ml et 10ml
- Boîtes de pétri
- Pipettes Pasteur
- Bain Marie
- Autoclave
- Incubateurs
- Stérilisateur
- Contenair
- Butyromètre gradué
- Centrifugeuse
- Eprouvette
- Lactodensimètre
- Seringue
- Acidimètre de soude Doronic (N/9)
- Papier

❖ **Milieux :**

- PCA (plat count agar)
- BCPL ou vert brillant (Gélose lactosée au bromocrésol pourpre)
- BLBVB (bouillon lactosé bilié au vert brillant)
- Milieu Roth
- Milieu litsky
- SFB (Bouillon au Sélénite de sodium cystine)
- VRBL (Gélose au cristal violet au rouge neutre et à la bile, violet Red Bile Agar)
- Gélose nutritive
- Gélose viande foie
- Clark et Lubs
- Mannitol mobilité
- KIA (Kligler Hadjna)
- Urée indole

- Citrate de simons
- Bouillon nutritif
- Milieu Muller Hinton
- Bouillon nutritif
- LDC, ODC, ADH (milieu de Falkow)
- BHIB (bouillon cœur cerveau)
- Plasma de lapin
- L'eau physiologique

❖ **Réactifs :**

- Réactif de Kovacs
- Sulfite de sodium (1/10)
- Alun de Fer (1/20)
- Rouge méthyle
- Huile de vaseline
- Acide sulfurique 65%
- Alcool isoamilique
- Phénol phtaléine
- Soude
- Réactif VP (Voges Proskauer)

II. Méthodes

II.1. Analyses Physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques telles que la détermination de l'acidité Dornic, la densité et le dosage de la matière grasse ont été réalisés au niveau du laboratoire de laiterie de Beni-Tamou.

II. 1. 1. Détermination de l'acidité en degrés Dornic

La mesure de l'acidité permet de savoir si les réactions d'acidification ont commencé (indicateur de l'activité des bactéries lactiques, fermentation). Ce test a l'avantage d'être très facile à mettre en œuvre, peu coûteux et de donner un résultat immédiat.

A la sortie de la mamelle, le lait sain a une acidité naturelle comprise entre 15° et 21° Dornic (14° à 16° pour le lait de chèvre).

A l'arrivée dans la laiterie, la mesure de l'acidité du lait permet de vérifier que la fermentation n'a pas commencé et que la charge microbienne n'est pas trop élevée. Dans les procédés de fabrication des yaourts, des caillés, des crèmes, la mesure de l'acidité Dornic est utile pour vérifier la bonne activité des ferments lactiques et stopper les fermentations au bon moment.

L'augmentation de l'acidité du lait lorsqu'elle est involontaire est un signe de mauvaise hygiène et d'un développement intense de micro-organismes (mauvais refroidissement, mauvaise pasteurisation, durée trop longue du transport, par exemple).

➤ **Mode opératoire**

1. Verser dans un verre, 10 ml de lait mesuré à la seringue
2. Ajouter 3 gouttes de phénophtaléine
3. Remplir la colonne graduée de l'acidimètre de soude Dornic (N/9)
4. Essuyer l'extrémité de la pointe où s'écoule la soude avec du papier avant le dosage.
5. Positionner l'échantillon de lait à doser sous l'acidimètre et verser goutte à goutte la soude en agitant constamment le verre jusqu'à l'apparition de la couleur rose très pâle persistante (10 secondes environ).
6. Lire la graduation et lire la donnée sur la colonne de l'acidimètre (lecture directe sur la pipette graduée de l'acidimètre).

Ce test mesure l'activité de la flore lactique. Il existe cependant de nombreux micro-organismes qui se développent dans le lait sans augmenter le degré Dornic, en particulier ceux qui se multiplient à basse température $+6^{\circ}\text{C}$ $+12^{\circ}\text{C}$ (les psychrotrophes et les psychrophiles). Un lait conservé 48 heures à $+4^{\circ}\text{C}$ peut être donc fortement contaminé sans que le test de l'acidité Dornic ne le révèle.

II. 1.2. Détermination de la densité du lait

Prendre un échantillon de lait de 0,5 litre, le refroidir à 20°C puis le mettre dans l'éprouvette livrée avec le lactodensimètre et enfin plonger le lactodensimètre dans l'éprouvette.

On peut aussi relever la température du lait et, après avoir lu la valeur, faire les corrections nécessaires en fonction de la température (tables de corrections fournies avec le lactodensimètre). Les valeurs de références sont en effet données pour un lait à 20 °C.

Pour éviter des erreurs de lecture, il est nécessaire de se mettre bien en face du lactodensimètre, les yeux à la hauteur de la zone de lecture.

La valeur lue sur le lactodensimètre (colonne lait entier) doit être comprise entre 1,030 et 1,034 (20 °C). Un lait dans lequel on aurait rajouté de l'eau aura une valeur inférieure à 1,028 (par exemple 1,025). Le contrôle de la densité permet donc de vérifier que le lait n'a pas été mouillé.

II. 1.3. Détermination de la matière grasse du lait par la méthode acido-butyrométrique de Gerber

C'est une méthode spéciale pour les laits: elle utilise la centrifugation après désagrégation à chaud au moyen d'acide sulfurique 65%. Après dégradation des protéines, l'ajout d'alcool isoamilique permet une meilleure séparation des couches suivie d'une centrifugation, le volume de graisse est mesuré dans un butyromètre gradué.

II.2 Analyses bactériologiques

Tous nos recherches et analyses ont été effectués selon les normes **ISO**.

II.2.1 Préparation des solutions mères et dilutions

➤ Dilution

On réalise à partir du lait ou de la suspension des dilutions successives en progression géométrique de raison de 1/10. Le diluant utilisé, est en général celui qui a servi à préparer la suspension mère. La dilution s'effectue de la façon suivante :

➤ Mode opératoire

1. A partir de 250 ml de lait (suspension mère) après homogénéisation, on répartit stérilement 1ml de lait dans un tube à essais contenant 9 ml d'eau physiologique pour obtenir la dilution au 1/10.
2. Après avoir homogénéisé par agitation, la dilution au 1/10, on transfère

1 ml dans le tube n°1 contenant 9 ml d'eau physiologique à l'aide d'une pipette de 1ml à écoulement total (ou d'une pipette automatique à embouts jetables permettant le travail aseptique.)

3. Après avoir homogénéisé par agitation le contenu du tube 1, on en transfère 1 ml dans le tube 2 contenant 9 ml d'eau physiologique à l'aide d'une autre pipette et ainsi de suite .Ces opérations peuvent être effectuées automatiquement (TRINEL et COLL; BOURGEOIS et LEVEAU ,1991).

La méthode utilisée est résumée dans la figure n°4.

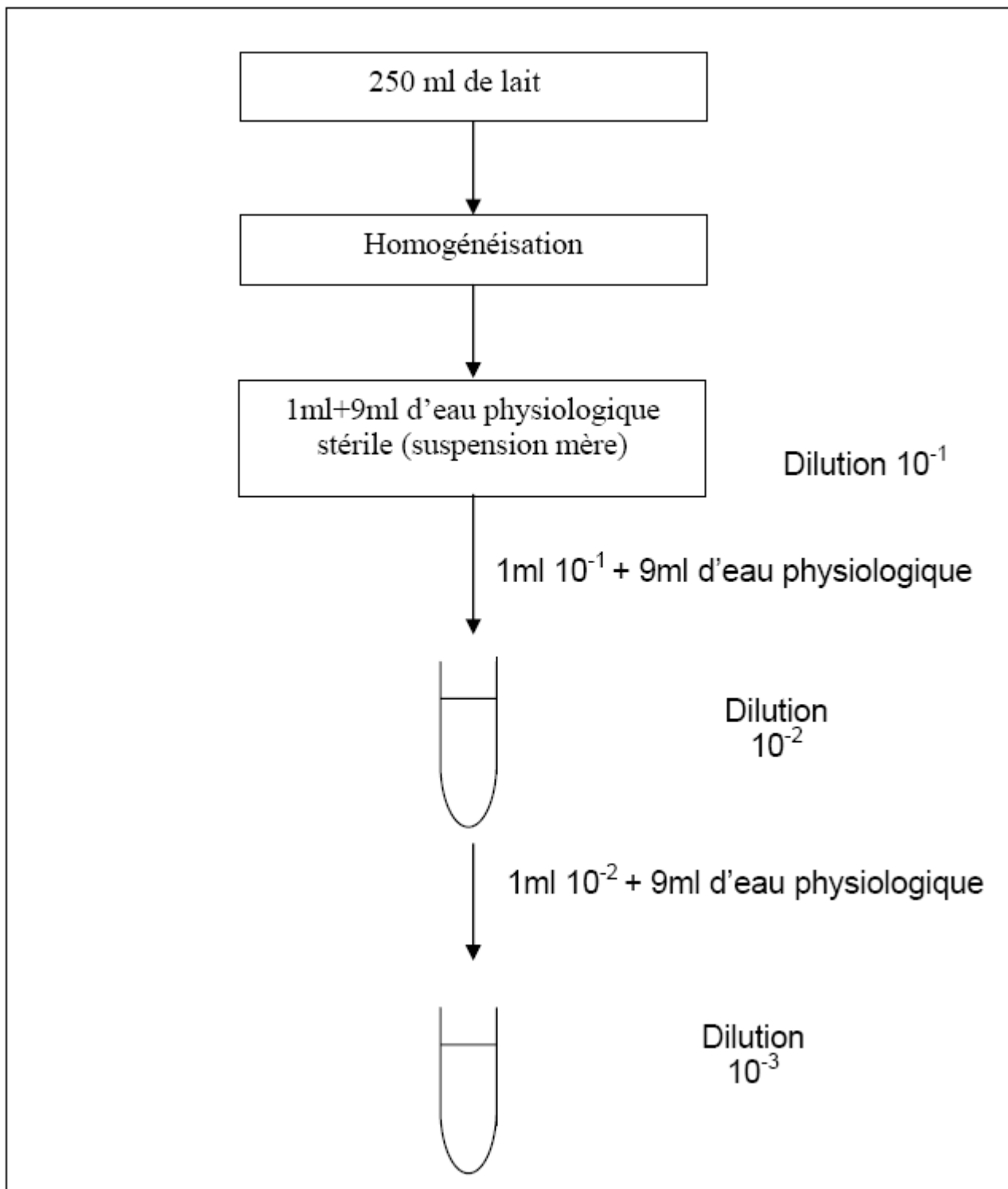


Figure n°4: Diagramme de la méthode utilisée pour la préparation de la solution mère et des dilutions

II.2.2 Recherche et dénombrement de la flore mésophile totale à 30 C°

➤ Mode opératoire :

L'ensemencement se fait en profondeur dans ce cas.

La méthode utilisée est résumée dans le diagramme de la figure n°5

1. Après identification des boîtes, déposer stérilement 1ml de chaque dilution (10^{-2} · 10^{-3}). Prendre soin de bien homogénéiser et de changer de pipette à chaque dilution.
2. Couler 12 à 15 ml de gélose PCA fondue au préalable et refroidie dans un bain d'eau à 45°C.
3. Mélanger en maintenant la boîte couverte sur la surface de la table, lui faire décrire 6 cercles de 150 mm de diamètre environ, dans le sens des aiguilles d'une montre, puis 6 cercles en inverse, ensuite 6 allers et retours de haut en bas et 6 autres de gauche à droite en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis laisser refroidir.
4. Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 30°C pendant 72 heures.

➤ Dénombrement

Pour interpréter les résultats, on ne doit tenir compte que des boîtes qui contiennent entre 30 et 300 colonies (en surface et dans la masse)

Le dénombrement est effectué par comptage des colonies, on fait la moyenne des deux essais effectués avec la même dilution on ne retient que les deux premiers chiffres significatifs, ainsi 262 sera assimilé à 260.

Dans le cas où deux dilutions consécutives donnent des nombres compris entre 30 et 300, on peut en faire la moyenne à condition que le nombre le plus grand ne dépasse pas le double du plus petit, sinon on utilise le plus petit (BOURGEOIS et LEVEAU, 1991).

La méthode utilisée est résumée dans la figure n°5.

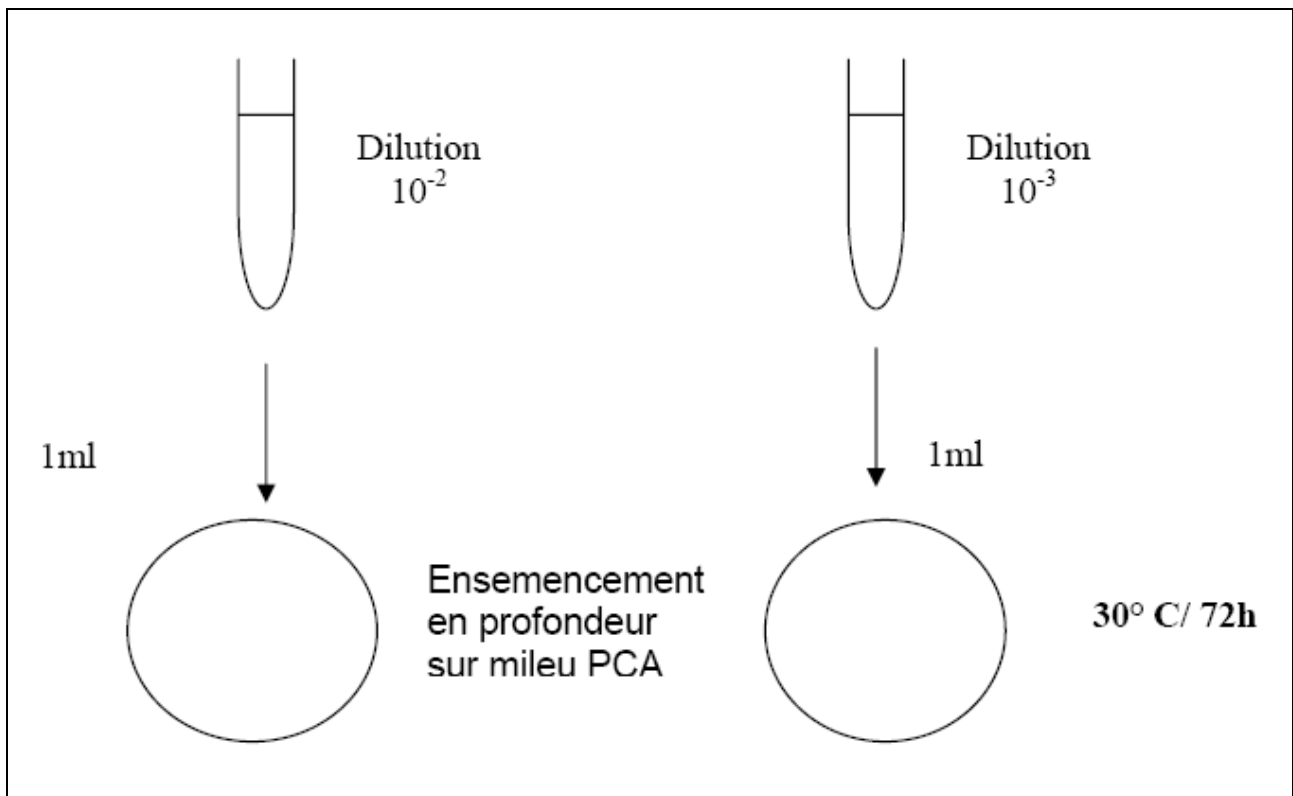


Figure n°5 : Diagramme de recherche et dénombrement de la flore mésophile totale

II.2.3 Recherche et dénombrement des coliformes fécaux

Les coliformes fécaux possèdent la capacité de se multiplier à 44C° ainsi que la propriété de fermenter le lactose en présence de sels biliaires.

Escherichia Coli fait partie de ce groupe et possède en plus la propriété de produire de l'indole à partir du tryptophane à 44C°. La présence des coliformes fécaux dans le lait cru est un indice de contamination fécale. Leur recherche se fait selon la méthode du NPP (nombre le plus probable)

➤ Mode opératoire

1. Introduire 1ml des dilutions (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) dans les tubes de BCPL avec cloches de Durham ou Bouillon au vert brillant.
2. Incuber à 44C° pendant 72h.

➤ Lecture des résultats

Le résultat est positif lorsqu'il y a virage de couleur et production de gaz dans la cloche de Durham, on compte les tubes positifs dans les dilutions successives et on retient le nombre caractéristique constitué par les trois chiffres écrits dans l'ordre des dilutions croissantes, en commençant par le nombre correspondant à la plus grande dilution pour laquelle tous les tubes sont positifs.

On se reporte alors avec ce nombre caractéristique aux tables du NPP décrites par J.C de Man 1983, qui indique le nombre de bactéries présent dans le prélèvement correspondant à la plus faible dilution considérée ; il reste alors à calculer la concentration cellulaire dans la suspension initiale en tenant compte des dilutions effectuées (BOURGEOIS et LEVEAU 1991).

La méthode utilisée est résumée dans la figure n°6.

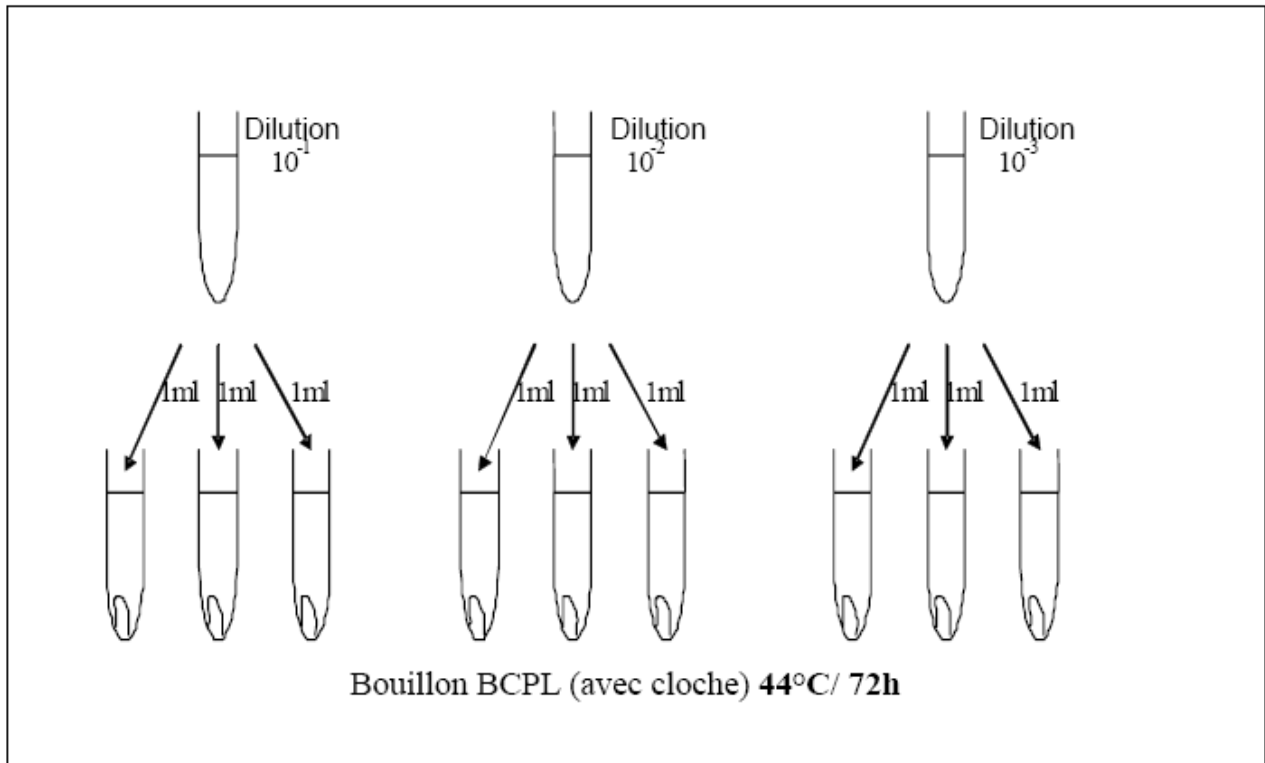


Figure n°6 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement de coliformes fécaux :

II.2.4 Recherche d'*Escherichia Coli*

La présence d'indole est le caractère recherché pour la confirmation de la recherche d'*Escherichia Coli* (Voir annexe V).

➤ Mode opératoire

1. Prendre 1ml des tubes avérés positifs lors de la recherche des coliformes fécaux (virage de couleur et production de gaz) et l'introduire dans des tubes d'eau peptonée exempte indole.
2. Incuber à 37C° pendant 24h
3. Rajouter quelques gouttes de réactif de Kovacs pour la révélation de l'indole.

➤ Lecture des résultats

Le résultat est positif lorsqu'il y a apparition d'anneau rouge en surface

La méthode utilisée est résumée dans la figure n°7.

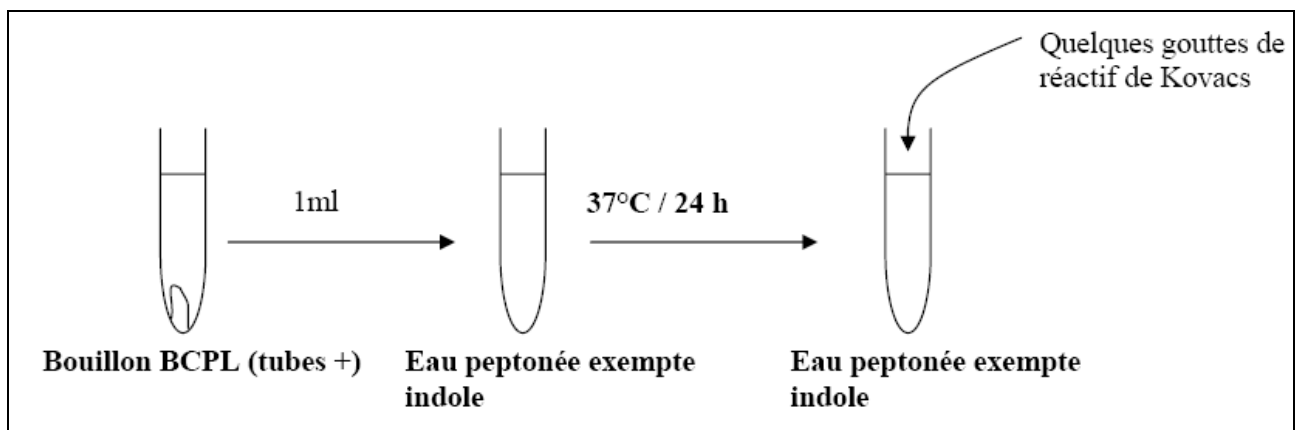


Figure n°7 : Diagramme de méthode de recherche d'*Escherichia Coli*

II.2.5 Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* à coagulase

positive

Staphylococcus aureus à coagulase positive est la principale espèce bactérienne entérotoxigène. En effet l'ingestion d'enterotoxines staphylococciques présentes dans les aliments provoque un syndrome gastro-intestinal ou toxi-infection alimentaire (T I A) à staphylocoques.

Le terme d'intoxination serait plus juste dans le cas des staphylocoques car c'est l'ingestion de la toxine et non du germe qui importe mais le terme général de T I A est souvent employé (BOURGEOIS et al., 1996).

Nous avons utilisé le milieu gélosé de Baird Parker additionné d'œuf et de tellurite, coulé dans deux boîtes de pétri après l'avoir laissé refroidir.

➤ Mode opératoire

L'Ensemencement se fait en surface dans ce cas.

1. Rajouter dans chaque boîte de pétri 0.1 ml des dilutions 1 /10,1/100.
2. Etaler en surface en utilisant une pipette de pasteur en forme de râteau
3. Incuber à 37C° pendant 48h.

➤ Dénombrement

Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* se fait par comptage de colonies caractéristiques, ce sont des colonies noirâtres, brillantes, convexes, entourées d'une zone transparente.

La méthode utilisée est résumée dans la figure n°8

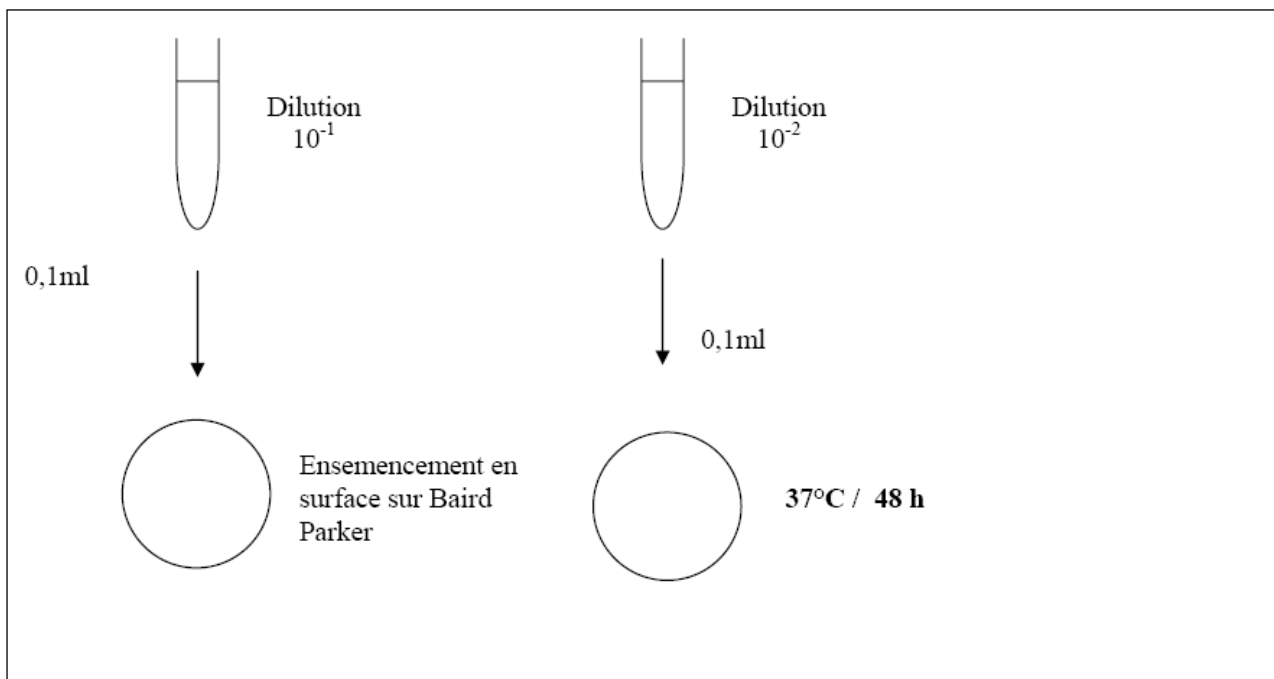


Figure n°8 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*.

Epreuve à la coagulase

➤ Mode opératoire

1. prélever les colonies suspectes puis les ensementer dans un bouillon cœur cervelle (BHIB) et incubé à 37°C de 18 à 24h
2. A partir de cette pré –culture, on prélève 0,5ml, à laquelle on ajoute 0,5ml du plasma de lapin, le volume total de 1ml est incubé à 37°C pendant 24h

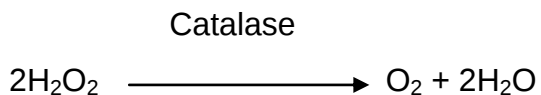
➤ Lecture

L'épreuve est reconnue positive lorsque le coagulum occupe plus des 3 /4 du volume initial.

La méthode utilisée est résumée dans la figure n°9

Epreuve à la catalase :

- Additionner l'eau oxygénée à une culture bactérienne de la colonie suspecte.
- La catalase a la capacité de scinder l'eau oxygénée en O₂ et H₂O selon la réaction chimique suivante :



➤ Lecture :

L'épreuve est reconnue positive lorsqu'il ya apparition de bulles gazeuses.

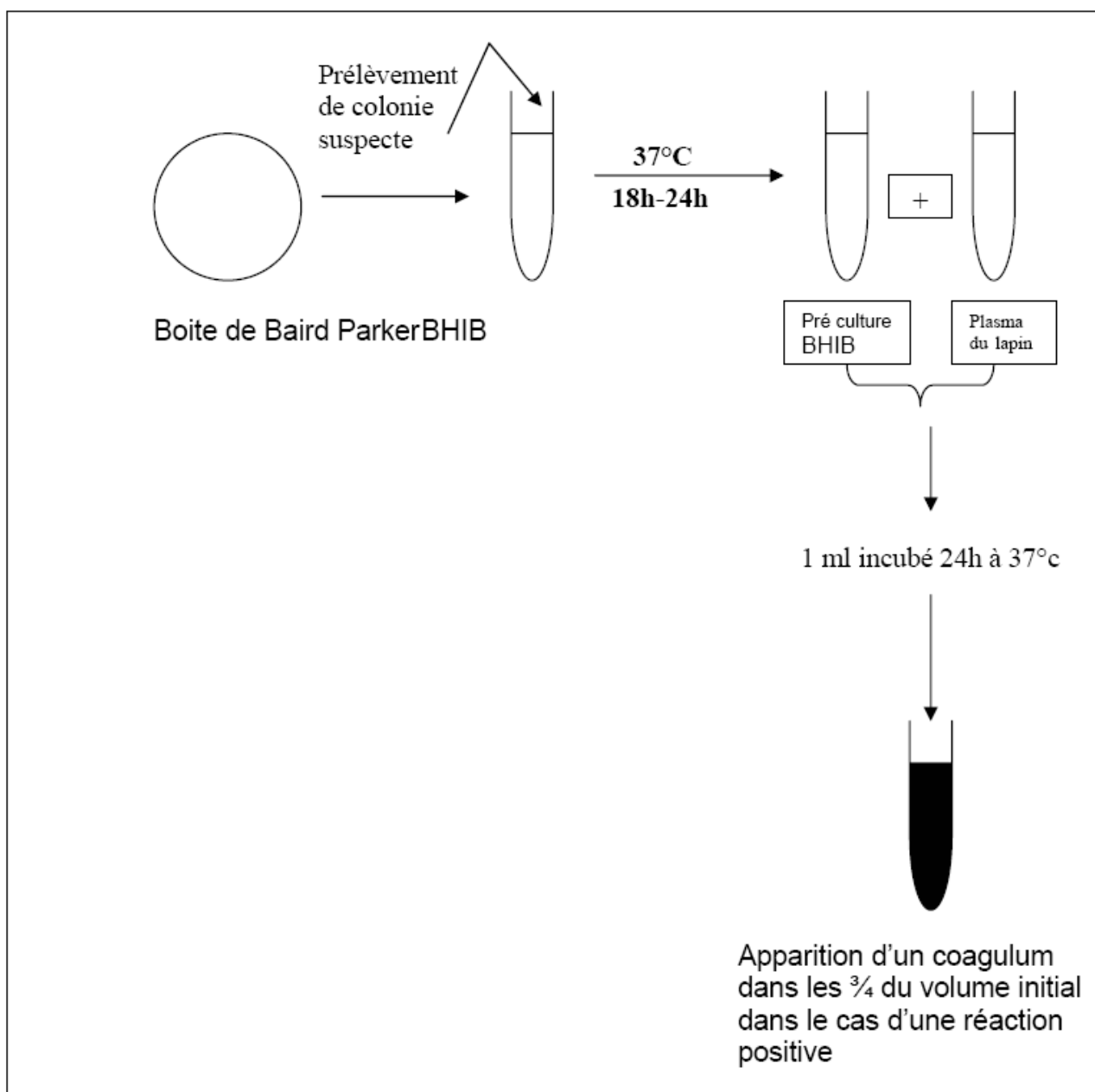


Figure n° 9: Diagramme de la méthode de l'épreuve de coagulase

II.2.6 Recherche et dénombrement de *Streptocoques fécaux*

Les *Streptocoques fécaux* sont recherchés selon la méthode de LITSKY modifiée par BUTTAUX. Deux milieux sont utilisés : Milieu présomptif de ROTHE (réaction positive en 48h à 37C°) et le milieu de confirmation de LITSKY (réaction positive en 24h à 37C°).

➤ Mode opératoire

On utilise la méthode du NPP pour dénombrer les *Streptocoques fécaux* qui est la même utilisé pour dénombrer les *coliformes fécaux*.

1. Introduire aseptiquement 1ml des dilutions 1 /10 ,1/100, et 1/1000 dans des tubes de ROTHE.
2. Incuber à 37C° pendant 48h.
3. Repiquer des cultures ayant données lieu à une réaction positive sur le milieu de LITSKY.
4. Incuber à 37C° pendant 24h.

➤ Lecture des résultats

- Le résultat est positif sur le milieu ROTHE en présence d'un trouble avec ou sans dépôt blanchâtre du à la croissance bactérienne.
- Le même résultat est observé sur le milieu de LYTSKY.

La méthode utilisée est résumée dans le diagramme de la figure n°10

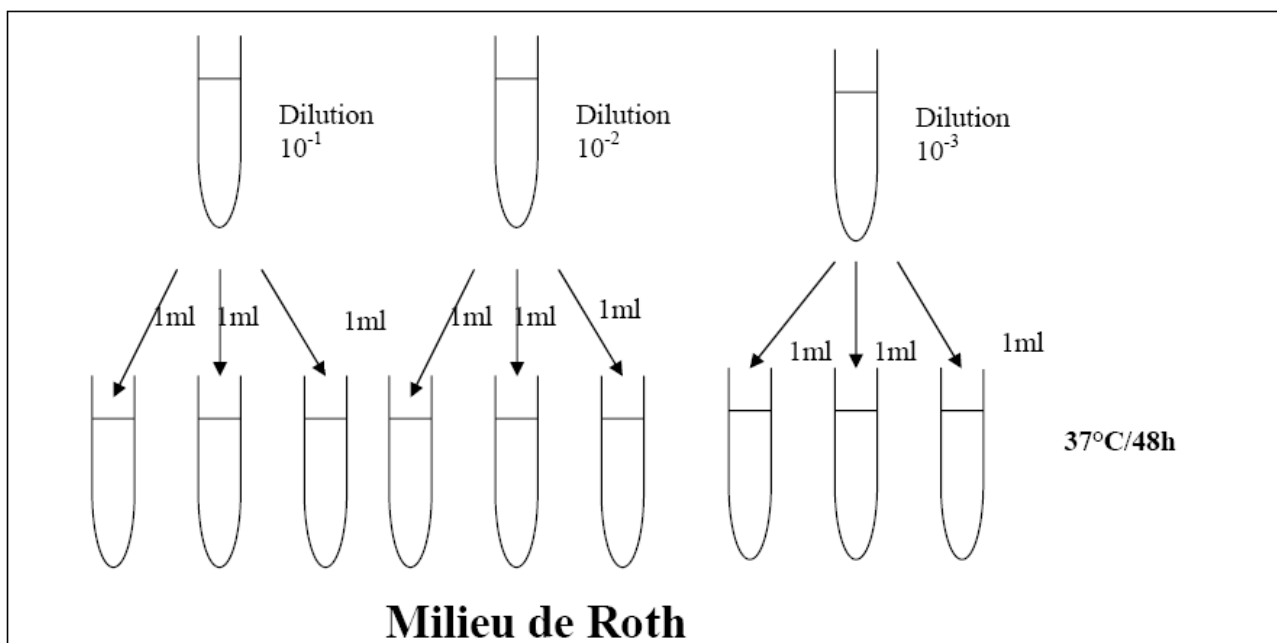


Figure n°10 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement de *Streptocoques fécaux*.

II.2.7 Recherche et dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs et

Clostridium perfringens

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont considérés comme germes témoins d'une contamination environnementale qui forment en anaérobiose des colonies noires.

➤ **Mode opératoire**

1. Introduire avec une pipette graduée 20 ml de lait dans un tube stérile.
2. Chauffer le tube à 80C° pendant 5 à 10 minutes puis le refroidir à l'eau du robinet.
3. Prendre 4 tubes contenant chacun 15 ml de gélose viande foie.
4. Partager les 20 ml de lait dans les 4 tubes avec une quantité de 5 ml pour chaque tube de gélose viande foie.
5. Rajouter de 0,5 ml de Sulfite de sodium et 4 gouttes d'Alun de Fer.
6. Incuber 2 tubes à 46C° pendant 72 heures pour la recherche des *Clostridium perfringens*, et les 2 autres à 37C° pendant 72h pour la recherche des anaérobies sulfito-réducteurs.

➤ **Lecture des résultats**

La lecture est effectuée par comptage de colonies caractéristiques (entourées d'un halo noir).

La méthode utilisée est résumée dans le diagramme de la figure n° 11

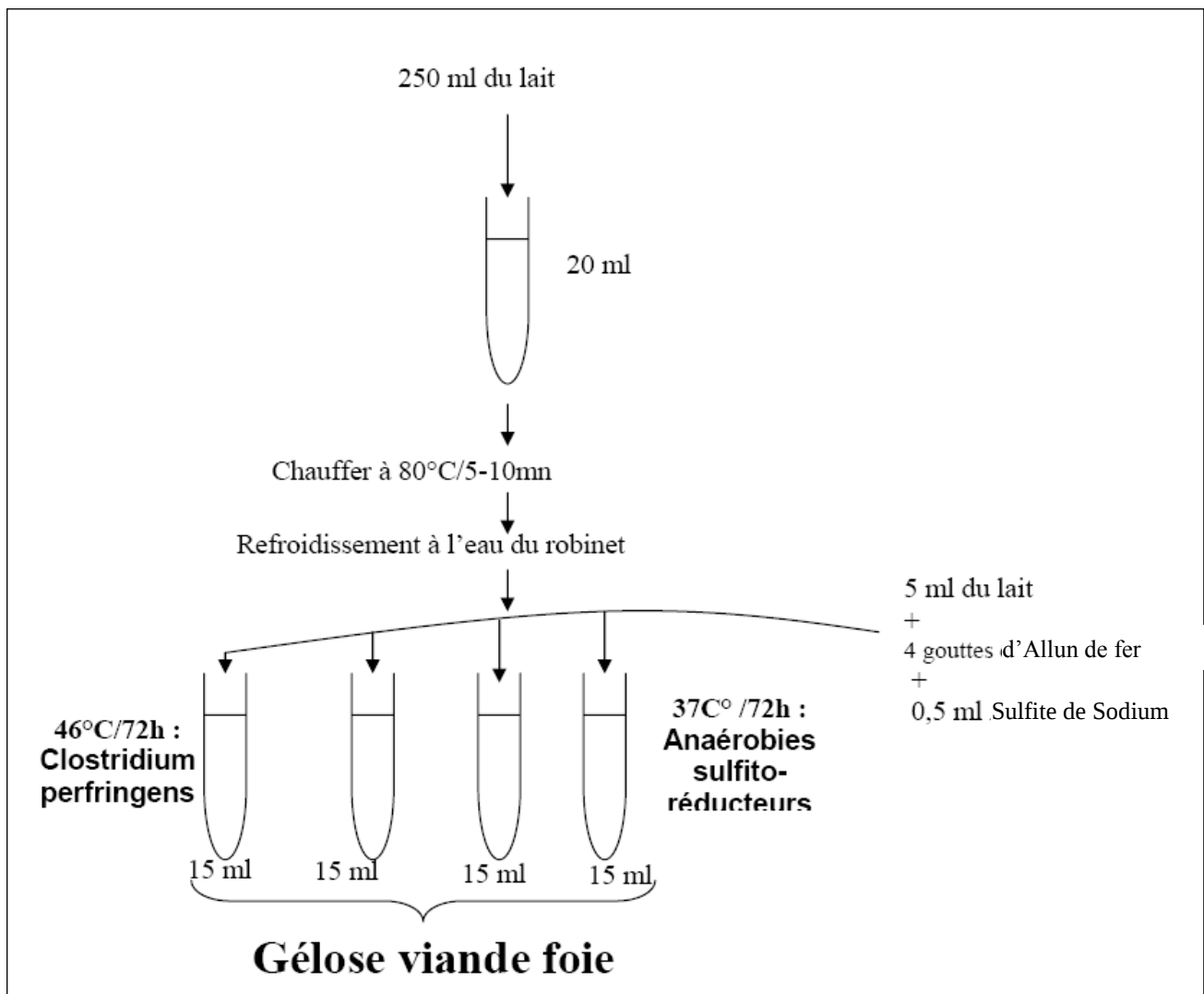


Figure n°11: Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement des anaérobies sulfite réducteurs et *Clostridium perfringens*

II.2.8 Recherche des *Salmonelles* :

Les salmonelles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae, elles peuvent provoquer de très graves toxi-infections alimentaires d'où l'intérêt de leur recherche dans le lait cru, suivant la méthode décrite dans la norme internationale ISO 6785.

Cette recherche comporte les étapes suivantes

- Pré-enrichissement.
- Enrichissement.
- Isolement sur milieu sélectif solide.
- Identification biochimique.

➤ **Pré enrichissement**

1. Ajouter 25 ml de lait à 225 ml de milieu SFB et du sélénite
2. Incuber à 37°C° pendant 24h.

➤ **Enrichissement**

1. Introduire à l'aide de pipette Pasteur 1ml de pré enrichissement dans le milieu SFB.
2. Incuber à 37°C° pendant 24h.

➤ **Isolement**

1. A l'aide d'une anse de platine on ensemence à partir du milieu d'enrichissement, la surface de milieu sélectif solide tel que HEKTOEN et VRBL.
2. Prendre à partir des boîtes positives (colonies verdâtres avec ou sans centre noir à partir du milieu HEKTOEN, et les colonies incolores à partir du milieu VRBL)
3. Isoler sur gélose nutritive inclinée à 37°C pendant 24h, puis conservé à + 4°C pour l'identification.

➤ **Identification biochimique**

Soumettre aux épreuves biochimiques classiques les colonies caractéristiques ou suspectes, il est indispensable de repiquer plusieurs colonies (au minimum cinq).

Les caractères biochimiques testés sont les suivants :

- une fermentation du glucose (+) : culot jaune.
- Une absence de fermentation du lactose (-) : ponte rouge.
- Une production de H₂S : culot noir
- Absence d'indole
- Absence d'urease
- Vérification par la coloration Gram de la présence de bâtonnets Gram- (*Salmonelles*)

La méthode utilisée est résumée dans la figure n° 12

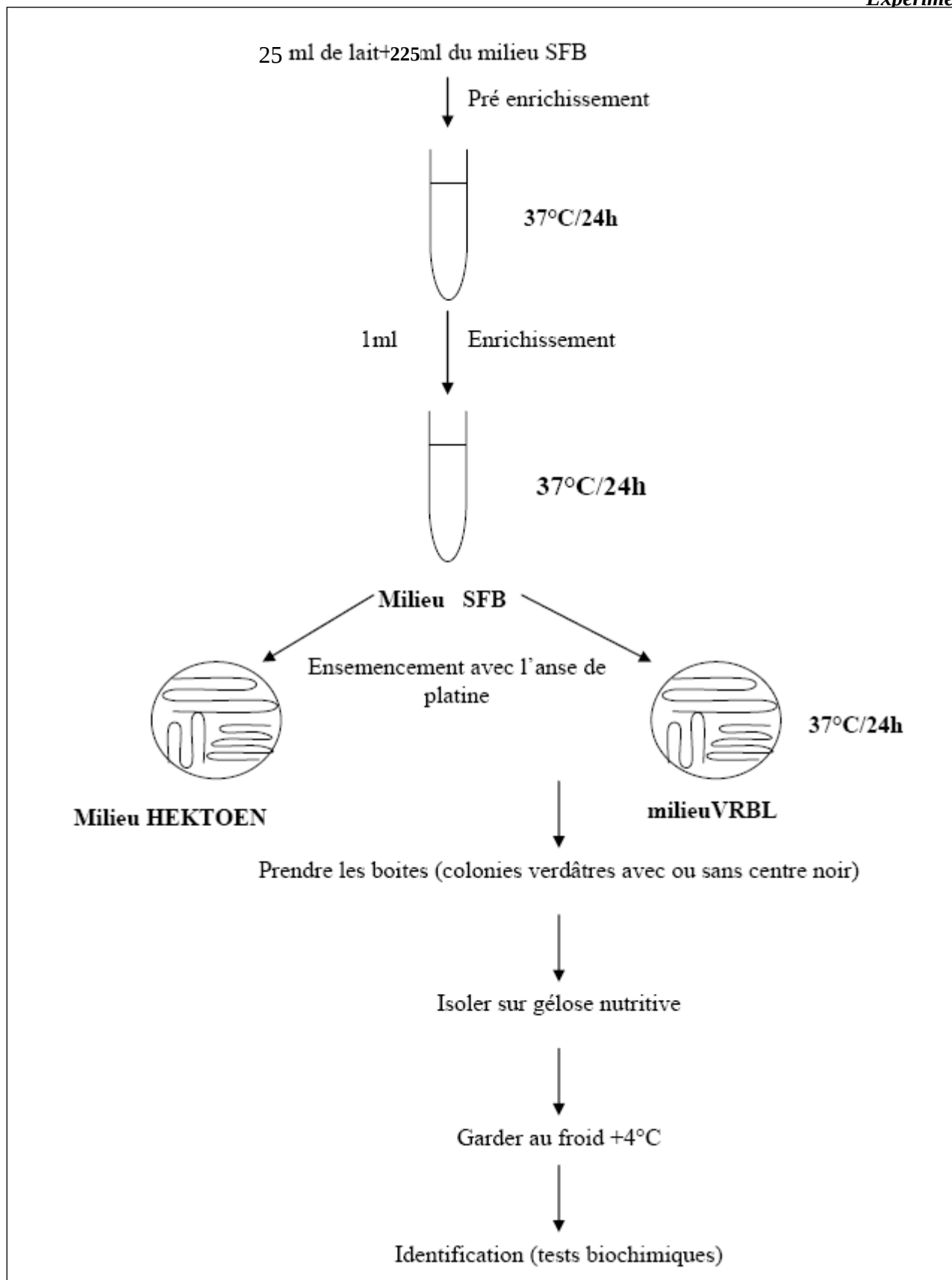


Figure n° 12 : Diagramme de la méthode de recherche des *Salmonelles*

II.2.9 Recherche des résidus d'antibiotiques

La présence d'antibiotiques est devenue la cause la plus fréquente de l'inhibition du développement des ferments lactiques dans les industries de transformation. Leur recherche a fait l'objet d'un texte officiel paru au journal officiel du 13 août 1963.

Le lait cru destiné à la recherche des antibiotiques doit être examiné dès son arrivé au laboratoire.

Le dénombrement est effectué sur un milieu gélosé, en utilisant *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

➤ **Mode opératoire**

1. On prépare une dilution au 1/100 de la souche initiale de *Bacillus subtilis* avec de l'eau physiologique.
2. l'ensemencement se fait sur milieu gélosé MULLER HINTON en boite de petri.
3. Inonder les boites de pétri avec la dilution, enlever l'excès.
4. Sécher les boites 15 à 20 mn dans l'étuve à 37°C.
5. homogénéiser l'échantillon de lait à examiner de façon à bien mélanger la crème avec le lait.
6. Imprégner stérilement un disque de papier filtre de 9 mm de diamètre dans le lait.
7. Déposer le disque plat sur la surface de la gélose.
8. Incuber 37°C pendant 24H.

➤ **Lecture des résultats**

L'échantillon est positif s'il donne des zones d'inhibition d'au moins 10mm de diamètre

La méthode utilisée est résumée dans la figure n°13

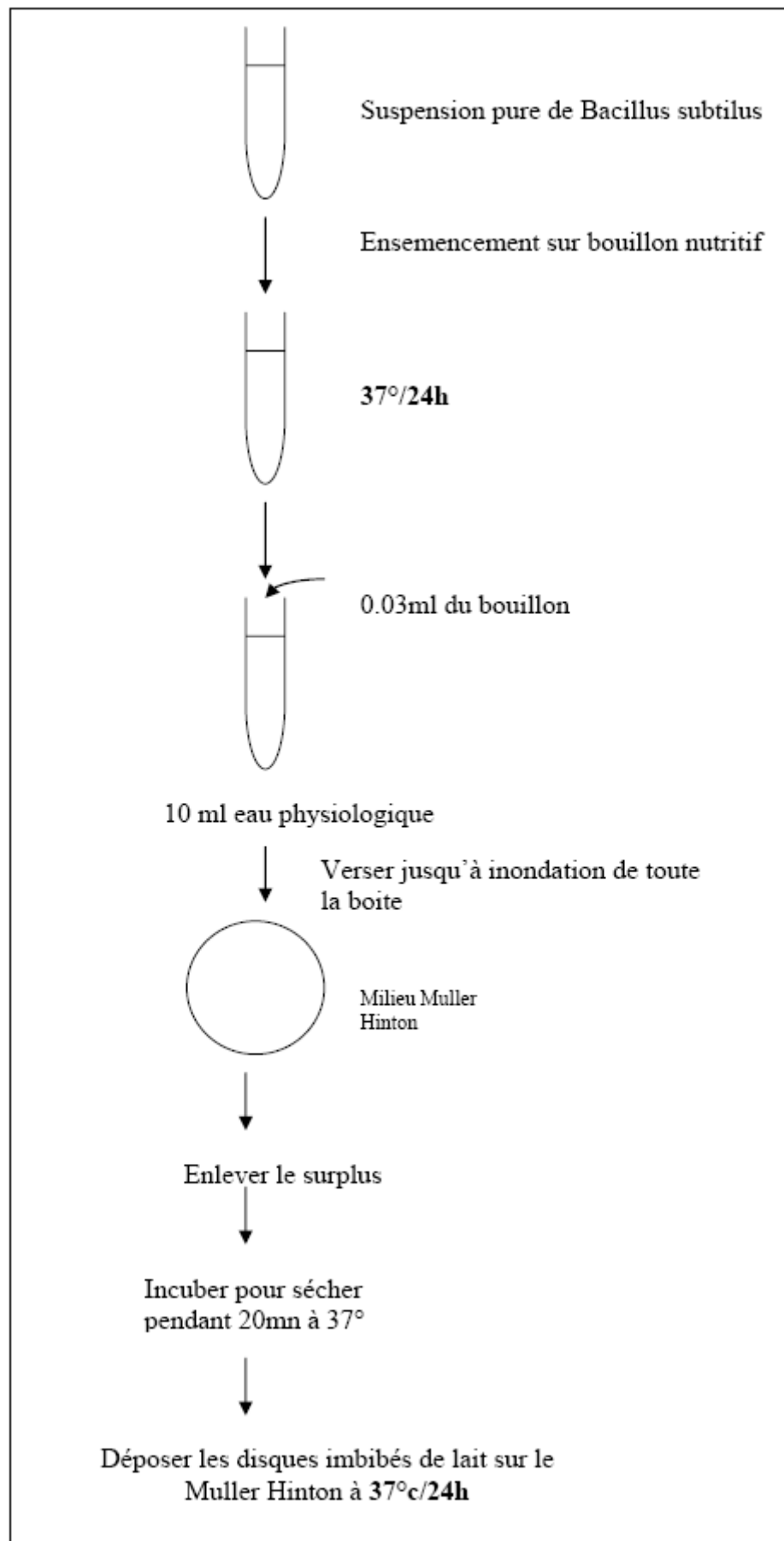


Figure n°13 : Diagramme de la méthode de recherche de résidus d'antibiotiques

III. Résultats et discussion

III.1. Résultats : L'ensemble des résultats physico-chimiques et bactériologiques sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau n°6 : Résultats de l'analyse bactériologique de nos échantillons.

	FMT	Strepto Fécaux	Staph Aureus	Coliformes Fécaux	Echerichia coli	Sulfito- réducteurs	Salmonelles	ATB
1	300 x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
2	2x10 ⁴	-	-	-	-	-	1	-
3	5x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
4	16x10 ²	-	-	0,3	-	-	-	-
5	160x10 ³	-	-	1,5	-	-	-	-
6	29x10 ²	-	-	-	-	-	1	-
7	105x10 ²	-	-	4,3	-	1	-	-
8	26x10 ³	-	-	0,4	-	-	-	-
9	395x10 ³	-	-	-	-	-	-	+
10	375x10 ³	-	-	-	-	-	-	-
11	30x10 ³	-	-	-	-	-	-	-
12	108x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
13	145x10 ³	-	-	-	-	-	-	+
14	125x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
15	25x10 ²	-	-	0,62	-	1	-	-
16	25x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
17	130x10 ³	-	-	-	-	-	-	-
18	30x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
19	105x10 ³	-	-	-	-	-	-	-
20	25x10 ³	-	-	0,6	-	-	-	-
21	260x10 ³	-	-	110	-	-	-	-
22	125x10 ²	-	-	3,5	-	-	-	-
23	305x10 ³	-	-	1,5-	-	-	-	-
24	103x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
25	240x10 ³	-	-	-	-	-	-	-
26	109x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
27	157x10 ³	-	-	110	-	-	-	-
28	105x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
29	405x10 ³	-	-	-	-	-	-	-
30	95x10 ²	-	-	0,4	-	1	-	-
31	290x10 ³	-	-	-	-	-	-	-
32	11x10 ³	-	-	0,6	-	1	-	-
33	520x10 ³	-	-	-	-	-	-	-
34	29x10 ²	-	-	-	-	-	-	+
35	210x10 ³	-	-	-	-	1	-	-
36	5x10 ³	-	-	3,5	-	-	-	-
Moyenne	103875	0	0	6,58	0	0,13	0,05	0,05

FMT : Flore Mésophile Total, **Strepto** : Streptocoques, **Staph** : Staphylocoques, **ATB** : Antibiotiques.

Tableau n°7 : Résultats de l'analyse physico-chimique de nos prélèvements.

N° du lot	Densité	Acidité	Température (°c)	Matière grasse
1	1029,8	18	12	35
2	1029,8	18	12	35
3	1031	17	10	36
4	1031	17	10	36
5	1030,6	17	10	35
6	1030,6	17	10	35
7	1030,7	18	12	37
8	1030,7	18	12	37
9	1030,4	18	12	36
10	1030,4	18	12	36
11	1029,2	18	11	34
12	1029,2	18	11	34
13	1030,4	18	12	37
14	1030,4	18	12	37
15	1029,4	18	12	34
16	1029,4	18	12	34
17	1029,8	18	9	35
18	1029,8	18	9	35
19	1029,8	18	9	36
20	1029,8	18	9	36
21	1029,4	18	12	38
22	1029,4	18	12	38
23	1030,6	18	8	36
24	1030,6	18	8	36
25	1030,6	17	8	36
26	1030,6	17	8	36
27	1030,8	17	9	35,5
28	1030,8	17	9	35,5
29	1030,8	17	9	36
30	1030,9	17	9	36
31	1030	17	10	34,5
32	1030	17	10	34,5
33	1029,8	18	9	35
34	1029,8	18	9	35
35	1030,6	17	8	37
36	1030,6	17	8	37
Moyenne	1001,77	17,11	10,11	35,72

Tableau n°8: Tableau récapitulatif des résultats de l'analyse bactériologique.

Germes recherchés	Lait (germes / gramme)	Lait cru selon les normes (J.O ,1998)
Germes aérobies à 30°	103875	10 ⁵ (dans 1 gr)
<i>Coliformes fécaux</i>	<10	10 ³ (dans 1 gr)
<i>Escherishia.Coli</i>	Absence	Absence
<i>Streptocoques fécaux</i>	Absence	Absence (dans 0 ,1 gr)
<i>Staphylocoques aureus</i>	Absence	Absence
Anaérobies Sulfito- réducteurs	<10	50
<i>Clostridium perfringens</i>	Absence	Absence
<i>Salmonelles</i>	Présence (dans 25 gr)	Absence (dans 25 gr)
Antibiotiques	Présence	Absence

Tableau n°9: Taux de contamination par la FAMT.

	< norme (%)	> N Mésophile totale orme (%)	Total (%)
FAMT	34 (94,45%)	2 (5,55%)	36 (100%)

FAMT :
Flore Aérobie
Mésophile Totale

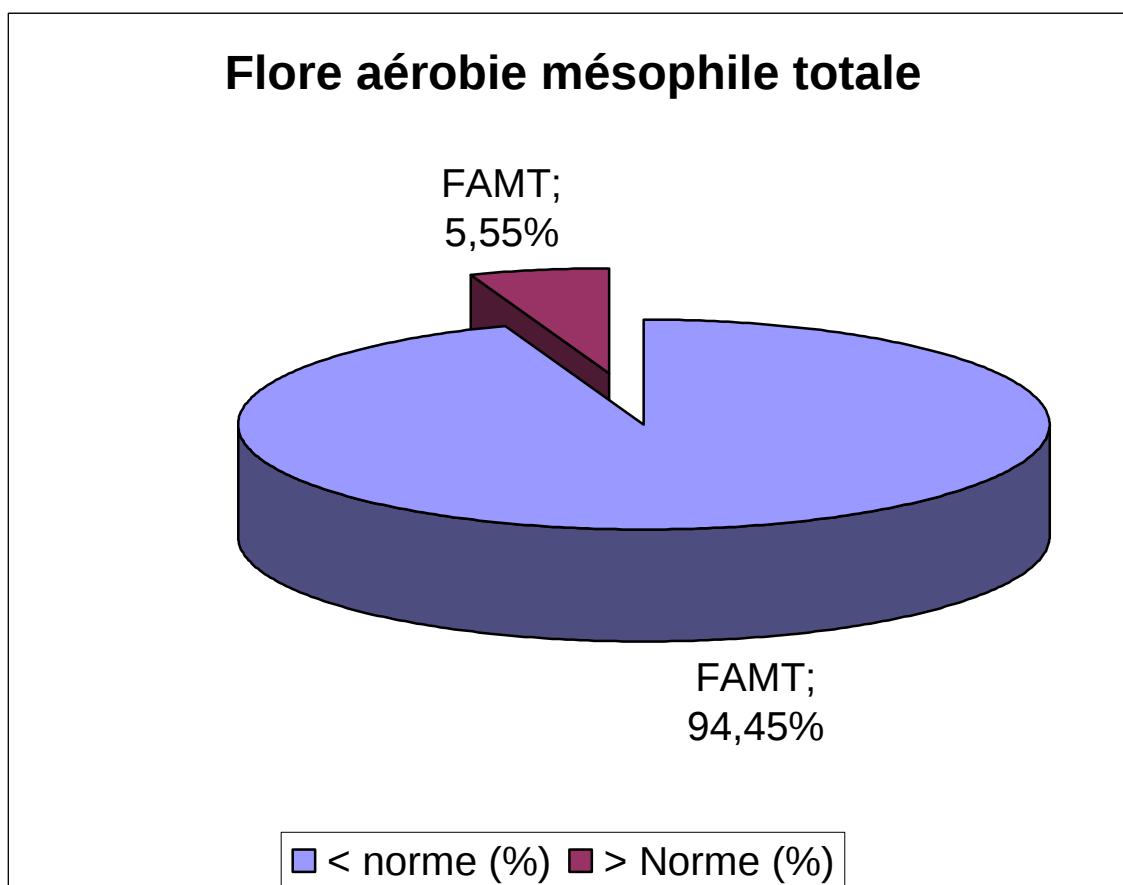


Figure n°14 : Diagramme des taux de contamination par la flore aérobie mésophile totale

Tableau n°10 : Taux de contamination des Salmonelles.

	Prélèvements (-)	Prélèvements (+)	Total (%)
Salmonelles	34 (94,45%)	2 (5,55%)	36 (100%)

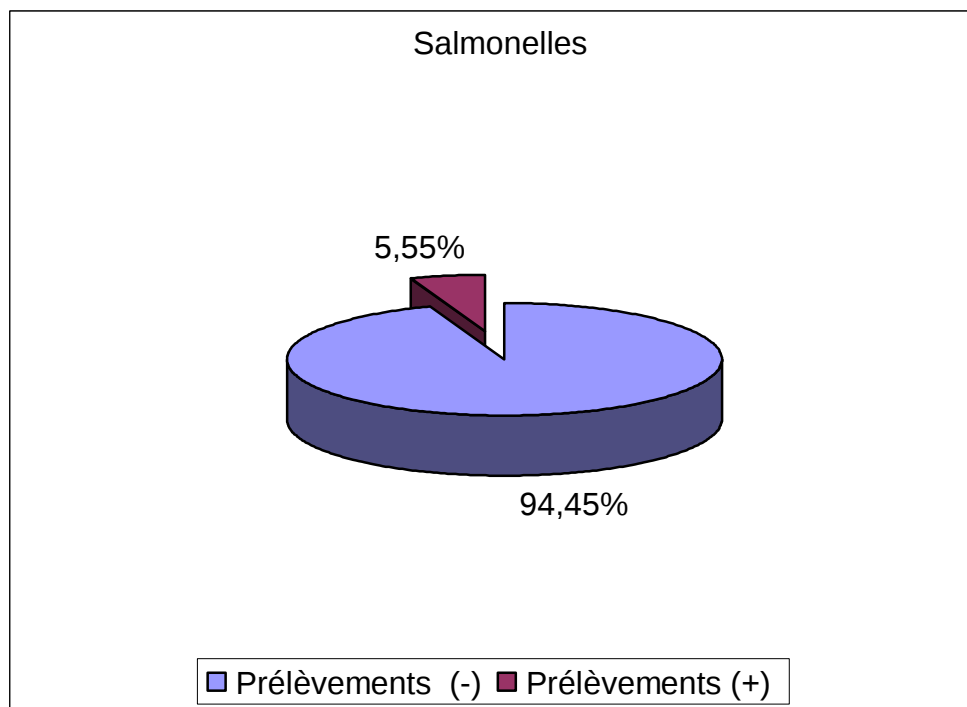


Figure n°15: Diagramme du Taux de contamination des Salmonelles

Tableau n°11 : Taux de contamination des Sulfito-réducteurs

	< norme	> Norme	Total (%)
Sulfito-réducteurs	31(86%)	5 (14%)	36 (100%)

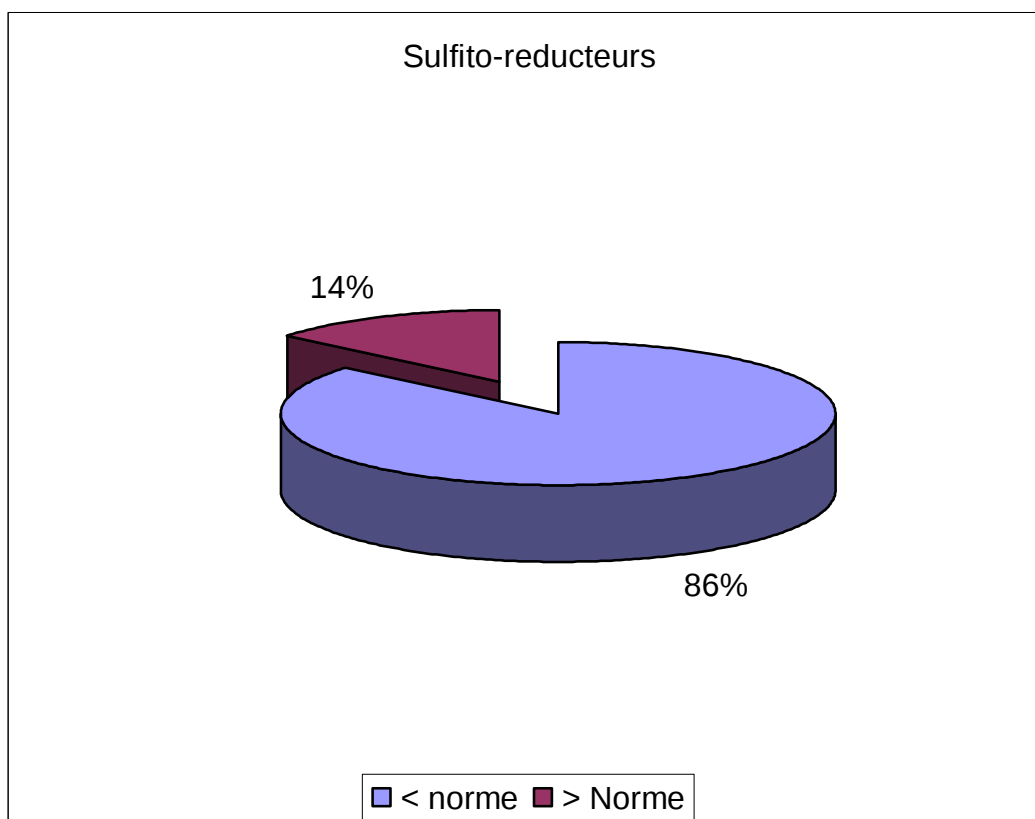


Figure n°16 : Diagramme Taux de contamination des Sulfito-réducteurs

Tableau n°12: Taux de présence des résidus d'antibiotiques

	<norme	> Norme	Total
ATB	34 (94,45%)	2 (5,55%)	36 (100%)

ATB : Antibiotiques

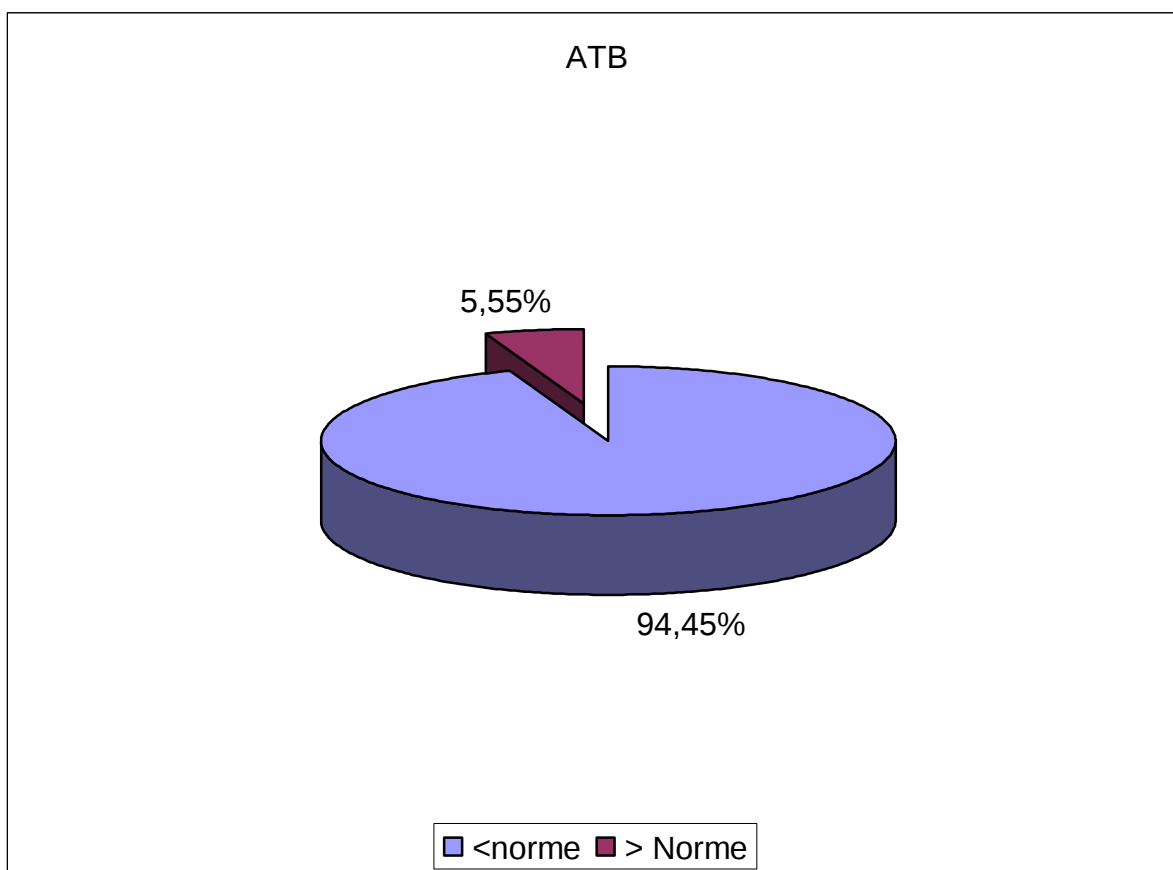


Figure n°17 : Taux de présence des résidus d'antibiotiques

IV.2.Discussion

Les niveaux de contamination obtenus au cours de notre étude montrent que certaines flores spécifiques ne dépassent pas les normes imposées par la réglementation nationale en vigueur, on retrouve dans ce cas de figure *Escherichia Coli*, *Staphylocoques aureus*, *Streptocoques fécaux* et *Clostridium perfringens*.

Parmi les germes pathogènes les *salmonelles* représentent dans notre étude un taux de contamination de l'ordre de 5,55 %, correspondant à 2 des 36 échantillons analysés ceci étant un critère de non-conformité des échantillons incriminés.

Ce taux de contamination relativement faible pour le lait cru trouverait son explication dans les mauvaises conditions d'hygiène en général et dans l'hygiène de la traite en particulier

Ce taux de contamination n'aurait aucun lien avec l'alimentation et l'épandage des déjections sur les surfaces fourragères. Pour autant cette contamination serait d'avantage liée à des manquements ponctuels de rigueur qu'à des mauvaises pratiques récurrentes.

En effet lorsque l'environnement est souillé, la moindre erreur est souvent fatale comme le souligne MEFFE, c'est pourquoi il importe que les éleveurs respectent en continu une hygiène draconienne (anonyme, 2003).

Les germes anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) représentent un taux de contamination de l'ordre de 14% environ correspondant à 5 des 36 échantillons analysés, ces germes peuvent se multiplier à basses températures ; ce sont des germes indicateurs d'altération.

En dehors de ces micro-organismes pathogènes, nos résultats montrent un taux de contamination de nos échantillons par la flore aérobie mésophile totale de l'ordre de 5,55% correspondant à 2 des 36 échantillons analysés, ce qui indiquerait une contamination du lait cru immédiatement après la traite, suite aux nombreuses manipulations par le personnel (éleveurs, transporteurs...) ou suite à l'allongement des durées de transport et de livraison.

L'augmentation du taux de la flore mésophile totale aérobie peut provoquer des modifications néfastes du lait cru qui peuvent expliquer ,en partie ,les difficultés rencontrées dans les processus de fabrication ,les anomalies de maturation des fromages ou de conservation des produits laitiers en général. Ce critère représente l'un des facteurs pris en compte par les laiteries pour le paiement du lait aux collecteurs.

Nous avons noté également la présence de résidus d'antibiotiques dans certains échantillons.

Le taux de contamination par les antibiotiques est de l'ordre de 5,55 %, représentant 2 des 36 échantillons analysés.

La présence de résidus dans le lait s'explique de plusieurs façons :

- Thérapeutique : non respect des délais d'attente.
- Nutritionnelle : addition en tant qu'additifs alimentaires
- Frauduleuse : par addition volontaire d'antibiotique en vue d'une meilleure conservation.
- Accidentelle : due à un mauvais rinçage du matériel de collecte préalablement lavé avec une solution antiseptique.

La présence d'antibiotiques dans les denrées alimentaires en général et dans les laits en particulier, les rend impropres à la consommation et la transformation, il est souhaitable d'étendre ce test et d'en faire un test de routine.

Les résultats physico- chimiques sont conformes aux normes. Ceci nous permet d'avancer qu'il n'y a pas eu de mouillage du lait, ni de reblochage et que les durées de transport sont respectées.

Conclusion

Notre étude a porté sur l'analyse bactériologique et physico-chimique d'échantillons de lait cru prélevés au niveau des citernes de différents collecteurs de lait de la laiterie de Beni Tamou.

L'analyse physico-chimique a porté sur les trois critères suivants :

- la détermination de l'acidité titrable.
- la détermination de la densité.
- Le dosage de la matière grasse.

L'analyse physico-chimique a montré que l'ensemble des échantillons analysés était conforme aux normes établies par la réglementation en vigueur.

L'analyse bactériologique a porté sur les critères exigés par la réglementation, à savoir :

La flore mésophile totale, les Coliformes fécaux, *E. coli*, *Streptococcus* fécaux, *Staphylococcus aureus*, les anaérobies sulfitoréducteurs, *Clostridium perfringens*, *Salmonelles* et la recherche des résidus d'antibiotiques.

Les conclusions que nous pouvons tirer de notre étude bactériologique sont les suivantes :

Concernant les flores pathogènes, 2 des 36 échantillons ont montré la présence de *Salmonelles*, les autres flores pathogènes n'ont pas été détectées.

Concernant les Coliformes fécaux, nous avons constaté la présence de ces germes dans 13 des 36 échantillons mais avec un taux de contamination inférieur à la norme.

Concernant la flore à incidence technologique représentée par la flore aérobie mésophile totale ; 2 des 36 échantillons étaient supérieures aux normes établies sans pour autant dépasser les seuils de tolérance.

En conclusion, la qualité des échantillons de lait cru analysé montrent des résultats satisfaisants sauf pour le cas des 2 échantillons où la présence de *Salmonelles* a été mise en évidence.

Cette étude mériterait d'être complétée par une recherche plus exhaustive sur les différents facteurs de contamination du lait cru au niveau des exploitations agricoles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ADRIAN J, 1972** : Valeur alimentaire du lait. Edition La maison Rustique. Paris. 229p.
2. **ALAIS C, 1984** : Science du lait, principe des techniques laitières, Edition Spaic. page 4.
3. **Anonyme, 2003** ;Vaches Laitières : Salmonelle , quand tu nous tiens <http://ja.web.agri.fr/moteur/584/34asp>.
4. **BOURGEOIS CM et LEVEAU IV., 1990** : Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 2ème édition, APRIA, Paris (France) pp : 1 – 520.
5. **BOURGEOIS CM et LEVEAU IV., 1991** : Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 3ème édition, APRIA, Paris (France), pp : 1 – 554
6. **BOURGOIS C. M, MESCLE J. F. et ZUCCA J., 1996** : Microbiologie alimentaire. Tome I. Technique et documentation Ed Lavoisier, page 1- 672.
7. **BOURGOIS C. M, MESCLE J. F. et ZUCCA J., 1990** : Microbiologie alimentaire. Tome I. Technique et documentation Ed Lavoisier, page 201.
8. **CLEC, 1988** : La microbiologie du lait, centre d'enseignement laitier par correspondance. In : BOUTAKHEDMIT M, BELKACEMI T ,2004 : Analyses microbiologique du lait cru, thèse Ecole Nationale Vétérinaire, Page11
9. **DEBRY G et COLL, 2001** : Lait, nutrition et santé. Edition tec et doc. Paris. pp1- 566.

- 10.DERACHE, 1989**, In : DEBRY G, 2001 : Lait, nutrition et santé. Edition tec et doc. Paris. pp1-566.
- 11.F.A.O, 1995** : Le lait et produit laitiers dans la nutrition humaine.
http://www.fao.org/es/ESN/index_en.stm
- 12.F.A.O, 1998** : Le lait et produit laitiers dans la nutrition humaine, alimentation et nutrition. <http://www.fao.org>.
- 13.GUIRAUD JP, 1998** : Microbiologie et Alimentation. Tome I, édition Dunod, Paris. Pages 136, 137.
- 14.Organisation internationale de normalisation, 1982 (ISO 6785)**
<http://www.iso.org/iso/fr/stdsdevelopers/index.html>
- 15.JENESS R et SLOAN R.E, 1970**: The composition of milk of various species: a Review; Dairy Science. 32: 599-612.
- 16.J.O.R.A** : Journal officiel de la république Algérienne n°35 du 27 mai 1998.
- 17.LAMARI F, 1997** : Etude comparative de l'influence de deux enzymes coagulantes sur les paramètres technologiques et physico-chimiques dans la fabrication du fromage, thèse ingénieur, Institut National Agriculture. page 15.
- 18.LARPENT JP 1990** : Microbiologie alimentaire, tome I, édition Lavoisier, technique et documentation pp : 1- 422
- 19.LEBRES E et MOUFFOK F ,1989**: Recherche d'antibiotiques et de résidus d'antibiotiques dans les laits, Maghreb Vétérinaire, Volume 4, n°17.
- 20.LE MINOR L , VERON M , 1989** : Bactériologie Médicale , édition Flammarion . pp : 1-1107 .
- 21.LUQUET F.M, 1985** : Le lait et les produits laitiers : Vache, brebis, chèvre. Tome I : Edition technique et documentaire. Paris (France), pages : 349.

- 22. LUQUET F.M, 1986** Le lait et les produits laitiers : Vache, brebis, chèvre. Tome III :
Edition technique et documentaire. Paris (France), pages : 349.
- 23. MARCHAL N, BOURDON J.L, RICHARD CL, 1991** : Les milieux de culture pour
l'isolement et l'identification biochimique des bactéries, Edition Doin pp : 1-509.
- 24. PETAT E, 1999** : Mise en œuvre des techniques microbiologiques ; journées
bioMérieux microbiologie industrielle .
- 25. PETRANSXIENE D, LAPIED L, 1981** : Qualité bactériologique du lait et des
produits laitiers, Edition technique et documentation. Paris. pp : 2-6

ANNEXES

Annexe I : Arrêté interministériel de 1998

Le ministre du commerce,

Le ministre de l'agriculture et de la pêche et le ministre de la santé et de la population,

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

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

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

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

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990 relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes;

Vu le décret exécutif n° 91-53 du 23 février 1991 relatif aux conditions d'hygiène lors du processus de la mise à la consommation des denrées alimentaires, notamment son article 31;

Vu l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires;

Arrêtent :

Article 1^{er}- le présent arrêté a pour objet de modifier et de compléter l'arête du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

Art.2- Les dispositions de l'article 2 de l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 susvisé, sont modifiées et complétées comme suit:

" Art.2-les denrées alimentaires concernées par les dispositions du présent arrêté sont :

Les viandes rouges et blanches ainsi que leurs dérivés;

Les poissons et autres produits de la pêche;

Les conserves et les semi-conserves;

Les ovo produits, les pâtisseries et les crèmes pâtisseries;

Les laits et les produits laitiers;

Les eaux et les boissons non alcoolisées;

Les graisses animales et végétales;

Les produits déshydratés;

Les confiseries;

Les plats cuisinés;

Les aliments pour nourrissons et enfants en bas âge"

Art.3- les annexes I de l'article 4,II de l'article 6 et III de l'article 9 de l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 susvisé, sont modifiées et complétées comme suit:

I. Critères microbiologiques relatifs à certaines denrées alimentaires

Tableau I : Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers

PRODUITS	<i>n</i>	<i>c</i>	<i>m</i>
Germes aérobies à 30°C	1	-	10 puis 5
Coliformes fécaux	1	-	10 puis 3
Streptocoques fécaux	1	-	abs/0,1 ml
Staphylococcus aureus	1	-	absence
Clostridium sulfito-réducteurs à	1	-	50
46°C	1	-	absence
Antibiotiques			

Conserves à base de denrées végétales:

Etuvage de 2 unités d'échantillonnage durant vingt et un jours et une température de trente degré Celsius (30° c), plus ou moins deux degré Celsius.;

b) Etuvage de 2 unités d'échantillonnage durant 7 jours à une température de 55°C, plus ou moins 2°C;

c) mise à la température ambiante 20à 25°C de l'unité d'échantillonnage témoin.

A l'issue des différentes épreuves effectuées:

- aucun défaut apparent, notamment le bombement, le flocage ou le fuit age ne doit être constaté ;
- la variation de PH entre les unités d'échantillonnage étuvées et l'unité d'échantillonnage témoin mise à la température ambiante pendant les périodes retenues, ne doit pas dépasser 0.5 unités, excepté pour les conserves de type lait stérilisés et lait stérilisé UHT où la variation de PH ne doit pas dépasser 0.2 unités;
- Il y a absence de variation de la flore microbienne du point de vue qualitatif et du point de vue quantitatif, le facteur R doit être inférieur à 100, par rapport au témoin;

Le facteur $R = n/n_0$

Où : n= est le nombre moyen de germes pour l'unité incubée

n_0 = est le nombre moyen de germes pour l'unité témoin.

Les épreuves de stabilité sont exclues pour les conserve conditionnées dans les emballage métalliques, en verre, en plastique ou complexes métalloplastiques présentant des défauts majeurs tels que, le bombement, le flocage et le fuit age.

Technique de prise d'essai et interprétation des résultats d'analyses microbiologiques

1. Technique de prise d'essai:

la prise d'essai destinée à la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales porte:

- sur les paries superficielles et profondes, notamment pour les produits en tranches hachés, les plats cuisinés à l'avance....;

- sur la partie profonde après cautérisation de la surface du produit, notamment pour les viandes (pièces), les volailles (pièces), les produits carnés et les poissons entiers;
- sur les produits homogénéisés ou sur les parties superficielles et profondes, selon la nature du produit liquide ou semi liquide, notamment les produits laitiers.

Dans le cas des examens micro biologiques effectués à la suite de toxi-infections alimentaires, il est nécessaire de pratiquer la recherche des germes pathogènes, toxinogènes et/ ou de leurs toxines, aussi bien en surface qu'en profondeur.

2. Interprétation des résultats d'analyses microbiologique:

En d'échantillonnage et d'interprétation des résultats d'analyse, il est tenu compte, dans la présente annexe, des travaux menés en matière au sein des organisations internationales.

2.1 Plan à trois classes

2.1.1 Principe:

Ce plan est ainsi distingué parce que les résultats interprétés sur cette base permettent de fixer trois classes de contamination, à savoir:

- celle inférieur ou égal au critère "m";
- celle comprise entre le critère "m" et le seuil "M";
- celle supérieur au seuil "M".

Le critère qualificatif "m" et "M", sauf autre indication, exprime le nombre de germe présents dans un gramme (g) ou un millilitre (ml) d'aliment et dans 25 grammes d'aliment pour les salmonella et les *Listeria monocytogenes*.

m: seuil au dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante.

Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants;

M: seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultat ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique;

M= 10m lors du dénombrement effectué en milieu solide

M= 30m lors du dénombrement effectué en milieu liquide

N: nombre d'unités composant l'échantillonnage;

C: nombre d'unités d'échantillon donnant des valeurs situées entre "m" et "M".

2.1.2 Application pratique :

2.1.2.1 la qualité du lot est considérée comme satisfaisante ou acceptable en application de l'article 4 de l'arrêté du 23/07/1994 lorsque, aucun résultat ne dépasse M:

a- les valeurs observées sont :

< 3m lors d'emploi de milieu solide < 10m lors d'emploi de milieu liquide	}	Qualité satisfaisante
---	---	-----------------------

b- les valeurs observées sont comprises: entre 3m et 10 m(=M) en milieu solide, entre 10m et 30m (=M) en milieu liquide, et c/n inférieur ou égal au rapport fixé; par exemple $c/n < 2/5$ avec le plan $n=5$ et $c=2$ (ou tout autre plan d'efficacité équivalente ou supérieure)	}	Qualité acceptable
--	---	--------------------

2.1.2.2 Les résultats sont considérés comme non satisfaisants

a- lorsque c/n est supérieur ou égal au rapport fixé;

b- dans tous les cas où les résultats obtenus sont supérieur à M.

cependant, le seuil de dépassement pour les micro-organismes aérobies à +30°C, alors que les autres critères sont respectés, doit faire l'objet d'une interprétation, notamment pour les viandes, volailles et produits crus.

Toutefois, le produit doit être considéré comme toxique ou corrompu lorsque la contamination atteint une valeur microbienne limite "s" qui est fixée dans le cas général à:

$$S = m \cdot 10^3$$

Dans le cas des staphylococcus aureus la valeur "s" ne doit jamais excéder 5x 4) germes par gramme de produit.

2.2 Plan à deux classes:

ce plan est ainsi désigné par les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de déterminer deux classes de contamination.

Ce type de plan qui n'accepte aucune tolérance, même de caractère analytique, correspondant souvent aux expressions:

- "absence dans"; le résultat est considéré comme satisfaisant;
- "présence dans"; le résultat est considéré comme non satisfaisant; dans ce cas, le produit est déclaré impropre à la contamination.

Le plan à deux classes répartit les unités d'échantillon en deux catégories:

- catégories satisfaisantes, si le résultat d'analyse est inférieur à "m"; le produit est propre à la contamination;
- catégorie non satisfaisante, lorsque le résultat d'analyse est supérieur à "m"; le produit est déclaré impropre à la contamination.

Remarque:

Ce plan est applicable aux contaminations pour les *Salmonella* et les *Listeria monocytogenes* en particulier.

2.3 Cas particuliers des conserves:

Lorsque les conserves ne répondent pas aux épreuves de stabilité telles que fixées dans présent arrêté, la transposition au lot d'origine ne pourra intervenir que dans la mesure où un plan d'échantillonnage préalablement défini aura été mis en œuvre.

Art.4- les articles 7 et 8 de l'arrêté du 23/07/1994 susvisé, sont abrogés.

Art.5- le présent arrêté sera publié au journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger le 25 ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998.

Le ministre de la santé
et de la population
YAHY GUIDOUM.

Le ministre du commerce
BAKHTI BELAIB.

Le ministre de l'agriculture et de la pêche : BENALIA BELAHOUDADJEB

Annexe II : Composition des milieux

Bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) :

- Peptone.....	10g
- Lactose.....	10g

Eau peptonée :

Eau distillée.....	1 litre
Peptone trypsine.....	15g
Nacl.....	5g

Bouillon nutritif ou bouillon péptoné :

Macération de viande	1 litre
(ou eau distillé+extrait de viande . q.s : quantité suffisante)	
Peptone trypsine.....	15g
Nacl ou KCL.....	5g

Gélose nutritive:

Macération de viande (ou eau distillé + extrait de viande q .s).....	1 litre
Peptone tryptique.....	15g
Nacl ou Kcl.....	5g
Agar.....	15 à 20g

Milieu de Muller- Hinton : g/l d'eau distillée :

Infusion de viande de bœ.....	300,0
Hydrolysate de caséine.....	17.5
Amidon.....	1,5
Gélose.....	17.0

Gélose viande foie : g/l d'eau distillée :

Base viande- foie.....	30
Glucose.....	2
Agar.....	6

Milieu Mannitol- mobilité-nitrate : g/l d'eau distillée :

Peptone tryptique de viande.....	20
Agar.....	4
Mannitol.....	2
KNO ₃	1
Rouge de phenol 1%.....	4ml

Milieu citrate de Simons : en g/l d'eau distillée :

Sulfate de magnésium.....	0.2
Phosphate mono –ammoniaque.....	1
Phosphate bi potassique.....	1
Citrate de sodium.....	2
Chlorure de sodium.....	5
Bleu de Bromothymol.....	0,08
Agar.....	15
LA formule proposée par diagnostic Pasteur ne contient que 1g%(1000)	

Milieu de Falkow : g/l d'eau distillée :

Extrait de levure.....	3
Glucose.....	1
Nacl.....	5
Bromocresol pourpre.....	1 ml
(Solution à 1.6%)	

NB : Ce milieu est commercialisé (diagnostics Pasteur) en formule « prêt à l'emploi » par lot de 3 tubes (LDC, ODC, ADH)

Milieu Hajna Kligler :g/l d'eau distillée :

Extrait de viande bœuf.....	3
Extrait de levure.....	3
Peptone.....	20
Chlorure de sodium.....	5
Citrate ferrique.....	0.3
Thiosulfate de sodium.....	0.3
Lactose.....	10
Glucose.....	1

Rouge de phenol.....	0.05
Agar.....	12
Ou 5ml de solution à 1%	

Milieu urée indole :

L- tryptophane.....	0.3g
KH ₂ PO ₄	0.1g
K ₂ HPO ₄	0.1g
Nacl.....	0.5g
Urée.....	2g
Alcool à 95°.....	1ml
Rouge de phenol à 1%.....	0.25ml
Eau distillée.....	100ml

Milieu de Baird – Parker ou Milieu ETGPA : g/l d'eau distillée

Peptone tryptique de caséine.....	10
Extrait de viande.....	5
Extrait de levure.....	2
Pyruvate de sodium.....	10
Glycocolle.....	12
Chlorure de lithium.....	5
Agar.....	14

Gélose lactosée au Bromocresol pourpre (BCPL): g/l d'eau distillée

Peptone	5
Extrait de viande.....	3
Lactose.....	10
Agar.....	15
Pourpre de bromocrésol.....	0.025

Bouillon lactosé bilié au vert Brillant(BLBVB) : g/ l d'eau distillée

Peptone bactériologique.....	10
Bile de bœuf.....	20
Lactose.....	10
Vert brillant.....	0.0133

Gélose Hektoen : g/l d'eau distillée

Protéase peptone.....	12
Extrait de levure.....	3
Chlorure de sodium.....	5
Thiosulfate de sodium.....	6
Sels biliaires.....	9
Citrate de fer ammoniacal.....	1.5
Salicine.....	2
Lactose.....	12
Saccharose.....	12
Fuschine acide	0.1
Bleu de bromothimol.....	0.065
Agar.....	14

Milieu de Roth : g/l d'eau distillée

Hydrolysate tryptique de caséine.....	12.6
Peptone bactériologique.....	8
Glucose.....	5
Chlorure de sodium.....	5
Phosphate dipotassique.....	2.7
Phosphate monopotassique.....	2.7
Azide de sodium.....	0.2

Milieu Litsky : g/l d'eau distillée

Peptone.....	20
Glucose.....	5
Chlorure de sodium.....	5
Phosphate dipotassique.....	2.7
Phosphate monopotassique.....	2.7
Azohydrate de sodium.....	0.3
Ethyl- violet.....	0.0005

Bouillon au Sélénite de sodium cystine SFB :

Peptone bactériologique	5g
Phosphate de sodium.....	10g
Lactose.....	4g
Sélénite acide de sodium.....	4g
Cystine.....	0.010g
Eau distillée.....	1000ml

Gélose au cristal violet ,au rouge neutre et à la bile(VRBL ,Violet Red Bile Agar) : g/l d'eau distillée

Peptone.....	7.0
Extrait de levure.....	3.0
Lactose.....	10.0
Chlorure de sodium.....	5.0
Mélange de sels biliaires.....	1.5
Rouge neutre.....	0.03
Cristal violet.....	0.002
Agar- agar.....	13.0

Milieu cœur – cervelle :BHIB g/l d'eau distillée

Infusion de cervelle de veau.....	200.0
Infusion de cœur de bœuf.....	250.0
Peptone de gélatine.....	10.0
Chlorure de sodium.....	5.0
Phosphate disodique.....	2.5
Glucose.....	2.0
(+agar si le milieu est gélosé)	

Milieu Clark and Lubs :g/l d'eau distillée

Peptone tryptique ou polypeptone.....	5 à 7
Glucose.....	5
Phosphate bipotassique.....	5

Composition des réactifs :

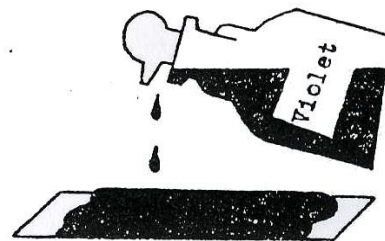
Kovacs :

Paradiméthylamino-benzaldehyde.....	5g
Alcool amylique.....	75ml
HCL pur.....	25ml

Rouge de méthyle:

Rouge de méthyle.....	0,1g
Alcool 95°.....	300 ml
Eau distillée.....	500 ml

COLORATION DE GRAM



- 1- Recouvrir la lame de violet de gentiane
laisser agir pendant une minute

Rincer à l'eau



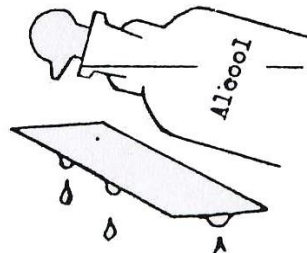
- 5- Arrêter aussitôt la décoloration
par lavage à l'eau du robinet



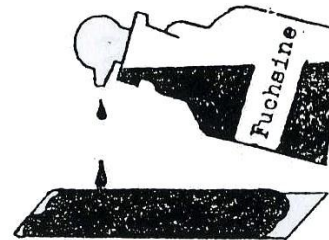
- 2- Rejeter le violet en versant du lugol
jusqu'à disparition du violet de gentiane



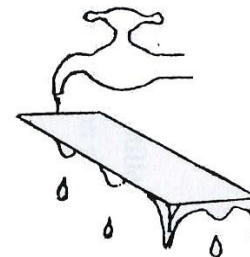
- 3- Recouvrir la lame de lugol
laisser agir une minute



- 4- Rejeter le lugol
Décolorer par l'alcool
jusqu'à ce qu'il coule incolore
(5 à 10 secondes)



- 6- Recolorer avec de la fuchsine diluée une minute
(verser 3 gouttes de fuchsine sur la lame recouverte d'eau)



- 7- Laver à l'eau.
Sécher
Examiner à l'immersion

ANNEXE IV

Table de MAC GRADY

[illegible]

**Annexe V : Caractères biochimiques des Entérobactéries
(Le Minor L , Veron M , 1989)**

	<i>Salmonella</i>	<i>Escherichia coli</i>
Mobilite	+ou -	+
Gaz	-	+
Lactose	-	+
ONPG	-	+
H₂S	+	-
Urease	-	-
TDA	-	-
Indole	-	+
LDC	+	d
ODC	d	d
Citrate	+	-
Mannitol	+	+
RM	+	+
VP	-	-

LDC : Lysine - Décarboxylase ; **TDA** : Tryptophane-Désaminase ; **d** : différents biotypes ;

RM : Rouge de Méthyle ; **VP** : Voges - Proskauer

Résumé :

L'objet de notre étude expérimentale a pour but d'évaluer la qualité du lait cru provenant des citernes de collecteurs de la laiterie de BENI TAMOU de la Wilaya de Blida.

Pour cela, nous avons réalisé des analyses physico-chimiques (Acidité, Taux de Matières Grasses et Densité) et microbiologiques au sein du laboratoire de microbiologie de ENV.

Nos résultats ont montré que la qualité globale physico-chimique et bactériologique de nos prélèvements de lait cru était de qualité satisfaisante mise à part deux prélèvements où nous avons relevé la présence de Salmonelles.

Summary:

The purpose of our experimental study is to evaluate the quality of raw milk from the collectors'tankers of BENI TAMOU dairy (Wilaya de Blida). So , we carried out physico-chemical (acidity, rate of fat and density) and microbiological analyses in the laboratory of microbiology of the ENV. Our results showed that the physico-chemical and bacteriological quality of our samples of raw milk were satisfactory except two samples where the presence of Salmonellas has been detected.