

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**

**SCIENTIFIQUE**

وزارة التّعليم العالي و البحث العلميّ

**ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE- ALGER**

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة-الجزائر

**PROJET DE FIN D'ETUDES**

**EN VUE DE L'OBTENTION**

**DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE**

**THEME**

**Contribution à l'étude de la qualité bactériologique du  
lait cru au niveau de quelques élevages de la wilaya  
d'Alger**

**Présenté par: BOUKHALFA Bilal**

**Soutenu le : 07/10/2010**

**Le jury:**

- **Président:** M<sup>r</sup> HAMDI TM. Maître de conférences classe A
- **Promoteur:** M<sup>me</sup> LOUNES N. Maître Assistante classe A
- **Examineur:** M<sup>me</sup> SAHRAOUI L. Professeur Ingénieure
- **Examineur:** M<sup>r</sup> HARHOURA K. Maître Assistant classe A

**Année universitaire: 2009/2010**

## **REMERCIEMENTS**

*Louange à Dieu, le Miséricordieux, le compatissant. Paix et Salut sur notre Prophète Mohammed.*

*Je remercie :*

*Mme Lounes N. qui m'a encadré et conseillé tout au long de mon travail.*

*Mr Hamdi.T.M., d'avoir accepté de présider, d'animer et de conduire avec la plus grande probité notre soutenance.*

*Mme Sahraoui L., soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect et d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Mr Harhoura. K, qui nous a fait l'honneur d'avoir accepté de juger ce travail.*

*A toute l'équipe du laboratoire de microbiologie de l'ENSV.*

# Dédicace

*Au nom D'ALLAH*

*A ma famille,*

*A mes parents,*

*Pour vos conseils, votre soutien et votre amour. Merci de m'avoir toujours fait confiance, et de m'avoir accompagné et soutenu jusque là.*

*A mes frères, Mouldi, Hakim*

*A mes sœurs, Soumaya, fatma*

*A mes amis de mon quartier : hamada, Hicham, Chaouki, khaidre,*

*A mes amis de bouraoui*

*Dolf, Sami, Issam, Issmail, kader, krimou, Mouh, Aziz, Abdellah, Mbarek, Hacene, Hama, Becha, Djamel, Rabah et tous les autres avec qui j'ai partagé de bons moments pendant ces 6 années d'études.*

*Et tous mes amis de l'école nationale supérieure vétérinaire*

*Et a tous mes amis de l'Houma.*

## LISTE DES TABLEAUX

	Page
<b>Tableau N°1</b> : les caractéristiques physiques du lait.....	3
<b>Tableau N°2</b> : les principales caractéristiques du lait de vache.....	4
<b>Tableau N°3</b> : composition du lait chez quelques espèces animales.....	5
<b>Tableau N°4</b> : composition chimique du lait. ....	5
<b>Tableau N°5</b> : dates et régions des différents prélèvements. ....	12
<b>Tableau N° 6</b> : Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements analysés. ....	23
<b>Tableau N°7</b> : les critères microbiologiques du lait cru. ....	23
<b>Tableau N°8</b> : taux de contamination de la flore mésophile totale. ....	25
<b>Tableau N°9</b> : taux de contamination de la flore coliforme fécaux. ....	26
<b>Tableau N°10</b> : taux de contamination par les staphylococcus aureus. ....	26

## Liste des figures

	Page
<b>Figure N°1</b> : Les réservoirs de microflore.....	10
<b>Figure N°2</b> : diagramme des différentes étapes des prélèvements.....	13
<b>Figure N°3</b> : préparation des dilutions décimales.....	14
<b>Figure N°4</b> : Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30°C.....	15
<b>Figure N°5</b> : colonies de la flore de l mésophile totale dans le milieu du PCA.....	16
<b>Figure N°6</b> : colonies des coliformes fécaux dans le milieu du VRBL.....	17
<b>Figure N°7</b> : Recherche et dénombrement des coliformes totaux à 44°C	17
<b>Figure N°8</b> : Présence des colonies dans le milieu Baird Parker.....	18
<b>Figure N°9</b> : Coloration de Gram.....	19
<b>Figure N°10</b> : Catalase positif.....	19
<b>Figure N°11</b> : Coagulase positif.....	19
<b>Figure N°12</b> : Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
<b>Figure N°13</b> : Test de présomption des Streptocoques fécaux.....	21
<b>Figure N°14</b> : Test de confirmation des Streptocoques fécaux.....	22
<b>Figure N°15</b> : Diagramme des taux de contamination par la flore mésophile totales	25
<b>Figure N°16</b> : Diagramme des taux de contamination par les coliformes fécaux.....	26
<b>Figure N°17</b> : Diagramme des taux de contamination par les staphylococcus aureus.	26
<b>Figure N°18</b> : Diagramme des taux de contamination par les streptocoques fécaux...	27

## LISTE DES ABREVIATIONS

**CTT** : Coliforme Thermo-tolérant .

**D** : Dornic

**ENSV** : Ecole national supérieur vétérinaire

**Fb** : Flavobacterium

**FMT** : flore Mésophile Totale.

**h** : heure

**IDM** : indénombrable

**INRA** : Institue Nationale de la Recherche Agronomique.

**ISO** : Internationale standard of organisation.

**ml** : millilitre.

**NPP** : nombre le plus probable.

**PCA**: Plat Count Agar

**Staph** : Staphylocoque.

**Strepto** : Streptocoque.

**TSE** : Tryptone Sel Eau.

**UFC** : unité formant colonies

**VRBL**: Violet Red Bile Agar.

**+** : présence.

**-** : absence.

**∑** : la somme.

**°C** : Degré Celsius

# SOMMAIRE

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : généralités</b>	
<b>I.1. Définition Légale.....</b>	<b>2</b>
<b>I.2. Caractéristique du lait cru.....</b>	<b>2</b>
<b>I.2.1. Les caractéristiques physiques.....</b>	<b>2</b>
<b>II.2.1.1. Une phase gazeuse.....</b>	<b>2</b>
<b>II.2.1.2. Une phase grasse.....</b>	<b>2</b>
<b>II.2.1.3. Une phase colloïdale.....</b>	<b>3</b>
<b>II.2.1.4. Une phase aqueuse.....</b>	<b>3</b>
<b>I.3. Composition du lait.....</b>	<b>4</b>
<b>I.4. Valeur nutritionnelle des constituants du lait.....</b>	<b>6</b>
<b>I.4.1. Les protéines.....</b>	<b>6</b>
<b>I.4.2. Les glucides.....</b>	<b>7</b>
<b>I.4.3. Les matières grasses .....</b>	<b>7</b>
<b>I.4.4. Les sels minéraux .....</b>	<b>7</b>
<b>Chapitre II : Microflore du lait .....</b>	<b>8</b>
<b>II.1. La flore originale.....</b>	<b>8</b>
<b>II.2. La flore de contamination.....</b>	<b>8</b>
<b>II.2.1. Lait intra-mammaire.....</b>	<b>8</b>
<b>II.2.2. Flore de la peau des trayons.....</b>	<b>9</b>
<b>II.2.3. Aéro-contamination.....</b>	<b>9</b>
<b>II.2.4. Machine à traire, biofilm.....</b>	<b>9</b>
<b>II.2.5. Modifications du lait après récolte.....</b>	<b>9</b>
<b>II.3. Groupe des micro-organismes.....</b>	<b>11</b>
<b>II.3.1. Virus.....</b>	<b>11</b>

II.3.2. Bactéries.....	11
II.3.3. Levures et moisissures.....	11
<b>Chapitre III : Partie expérimentale</b>	
I. Objectif.....	12
II. Matériels et méthodes.....	12
II.1. Région d'étude.....	12
II.2. Nombre des prélèvements et d'élevages étudiés.....	12
II.3. Technique de prélèvement.....	13
II.4. Transport des prélèvements.....	13
II.5. Analyses bactériologiques.....	13
II.5.1. Préparation des solutions mères et dilutions.....	13
II.5.2. Recherche et dénombrement de la flore mésophile totale à 30° C.....	14
II.5.3. Recherche et dénombrement des coliformes thermo-tolérant à 44° C..	16
II.5.4. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
II.5.5. Recherche et dénombrement des Streptocoque fécaux.....	20
III. Résultats et interprétation.....	23
III.1. Résultats.....	23
III.2. Interprétation.....	23
III.2.1. Application pratique.....	24
III.2.2. Interprétations des résultats de la flore mésophiles totales.....	24
III.2.3. Interprétations des résultats des coliformes fécaux.....	25
III.2.4. Interprétations des résultats des staphylococcus aureus.....	26
III.2.5. Interprétations des résultats des streptocoques fécaux.....	27
IV. Discussion.....	28
V. Conclusion.....	29

Références 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 la qualité 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, tient une place importante dans l'alimentation humaine et animale.

En effet, cette denrée d'origine animale constitue un excellent milieu pour le développement des bactéries qui proviennent de nombreuses sources de contaminations d'un bout à l'autre de la chaîne alimentaire. La contamination microbienne peut se produire au niveau de trois sources principales : l'intérieur de la mamelle, l'extérieur de la mamelle et la surface de l'équipement de manipulation et de stockage de lait. La température et la durée du stockage permettent également 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 ; sa perception est difficile et ne peut se faire que par les moyens d'investigations spécifiques, d'où l'intérêt de réaliser un examen bactériologique du lait cru afin de contrôler régulièrement les taux de contamination. C'est ainsi qu'un lait hautement contaminé représente, un danger pour la santé humaine et une entrave à la transformation en industrie laitière.

La réglementation fixe des teneurs minimales ou maximales des micro-organismes dans le lait cru ; et des méthodes officielles et normalisées d'analyses bactériologiques sont préconisées en même temps et obligatoirement appliquées par des services officiels.

En effet, sur terrain, nous constatons que l'état d'hygiène de nos élevages et les mauvaises pratiques au cours de la traite et du stockage du lait, ainsi que la négligence de la désinfection des locaux et du matériel d'élevage influencent à coup sûr la qualité du lait produit et mis à la consommation. D'où l'intérêt de connaître l'état de contamination de ce lait ; c'est dans cette perspective que nous nous sommes intéressés à l'étude de la qualité bactériologique du lait cru récolté au niveau de quelques élevages dans la région d'Alger, en utilisant des méthodes normalisées, fixées par la réglementation.

# Partie bibliographique

---

## I. Généralité :

### I.1. Définition Légale:

Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance, correspond au lait de vache. Tel définit par le premier congrès International de Répression des Fraudes tenu à GENEVE EN 1909, le lait se définit comme «**le produit intégral de la traite totale et interrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum**».

On entend par :

- **Intégral** : lait non écrémé, c'est-à-dire, sans addition d'eau ou produit de substitution.
- **traite totale** : la composition du lait varie au cours de la traite. Le lait standard est la moyenne de la totalité de la traite.
- **Interrompue** : éviter les laits anormaux, tel le lait de rétention.
- **Vache bien portante, bien nourrie et non surmenée** : l'état général de la vache à une influence sur l'état et la composition du lait. On peut trouver des germes pathogènes dans le lait, (lors de la tuberculose, brucellose, ... ..).
- **Récolté proprement** : Il s'agit de l'hygiène de la collecte. (Hygiène de l'animal..).
- **Absence de colostrum** : Le colostrum n'est pas un lait (M A P A, de R.F, 1997).

### I.2. Caractéristique du lait cru :

#### I.2.1. Les caractéristiques physiques :

C'est un liquide blanc, au goût légèrement douceâtre de haute valeur nutritive aussi bien pour l'homme que les mammifères (INRA, 1999).

Le lait est un liquide opaque, blanc mat, plus au moins jaunâtre, due à une suspension colloïdale formée par la matière grasse et les protides (SABLONNIERE, 2001).

Le lait se compose de quatre phases physiques :

**1-une phase gazeuse**, comprenant essentiellement du CO<sub>2</sub> au moment de la traite.

**2- une phase grasse**, composée des globules gras (2 à 5 micromètres de diamètre) qui renferment les lipides vrais et les aliments liposolubles. Les globules gras sont entourés de phospholipides et d'une membrane protidique.

## Partie bibliographique

---

**3- une phase colloïdale**, comportant les micelles de caséine associées à des phosphates et citrates de calcium et magnésium.

**4- une phase aqueuse**, composée des protéines solubles (protéines du lactosérum), du lactose et des minéraux (électrolytes). Il existe une relation inverse entre la teneur en lactose et celle des minéraux, de manière à maintenir le lait dans un rapport isotonique avec le plasma sanguin (ADRIAN et al., 1995).

Les caractéristiques physiques du lait sont illustrées dans le tableau n° 1.

**Tableau N°1 : les caractéristiques physiques du lait (Bourgeois et al., 1988).**

<b>caractéristiques physiques</b>	<b>Proportions</b>
Potentiel d'hydrogène (pH à 20°C)	6.5-6.7
Acidité titrable (°D)	15-18
Densité	1028 à 1036
Température de congélation (°C)	-0,51 à -0,55

## Partie bibliographique

**Tableau N°2 : les principales caractéristiques du lait de vache (Larpent, 1997)**

	<b>Caractères normaux</b>	<b>Caractères anormaux</b>
Couleur	Blanc mat  Blanc jaunâtre : Lait riche en crème	Gris jaunâtre : Lait de mammites Bleu, jaune... Lait coloré par des substances chimiques ou des pigments bactérien
Odeur	Odeur faible	Odeur de putréfaction, de moisi, de rance. . .
Saveur	Saveur agréable	Saveur salée : Lait de mammites Goût amer : Lait très pollué par des bactéries
Consistance	Homogène	Grumeleuse : mammite. Visqueuse ou coagulée : Pollution bactérienne.

### **I.3. Composition du lait :**

Le lait est un complexe nutritionnel qui contient plus de cent substances différentes qui sont en solution, en émulsion ou en suspension dans l'eau qui représente environ 90% de sa composition (**Wattiaux, 2001**).

Le tableau N°4 ci-dessous résume les principaux composants du lait de vache. Cependant quantitativement, ces composants peuvent varier d'une espèce animale à une autre (tableau N°3).

## Partie bibliographique

**Tableau N°3 : composition du lait chez quelques espèces animales (Derivaux ; Ectors, 1980)**

	Matières	Matières	Protides	Caséine	Lactose	Cendre
	grasses%	sèches%	%	%	%	%
<b>Vache</b>	3.5-5.5	12-15	3.1-3.9	2.5-4.7	4.6-5	1.6
<b>Brebis</b>	5.3	17	5.5	4.5	4.3	0.8
<b>Chèvre</b>	4.9	13.2	4.3	3.3	3.9	0.9
<b>Jument</b>	1.6	3	2.7	1.2	6.1	0.51
<b>chienne</b>	8.3	20.7	9.5	3.7	4.1	1.2

**Tableau N°4 : composition chimique du lait (Alais, 1984)**

Composants	Compositions (g/L)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) + eau liée (3.7%)
<b>Glucide</b> : Lactose	49	Solution
<b>Lipides</b> :	35	Emulsion des globules gras (3 à 5 microns)
• Matière grasse proprement dite	34	
• Lécithine (phospholipides).	0.5	
• Partie insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérols).	0.5	
<b>Protides</b> :	34	Suspension micellaire (0.08 à 0.12 microns)
• Caséine.	27	Solution (colloïdale). Solution (variée).
• Protéines solubles (globulines, albumines).	5.5	
• Substances azotées non protéiques.	1.5	

## Partie bibliographique

<b>Sel :</b>	9	Solution on état colloïdal
• Acide citrique.	2	Sel de k, Ca, Na, Mg, ...
• Acide phosphorique.	2.6	
• Acide chlorhydrique.	1.7	
<b>Constituants divers :</b> (vitamines, enzymes, gaz dissous)	<b>Traces</b>	
<b>Extrait sec (total)</b>	127	
<b>Extrait sec non gras</b>	92	

### I.4. Valeur nutritionnelle des constituants du lait :

Le lait est le produit le plus proche du concept de l'aliment au sens physiologique du terme. Il renferme la quasi-totalité des nutriments (**Adrian, 1995**).

Le lait est un édifice physico-chimique extrêmement complexe, qui contient des trésors de richesses nutritionnelles articulés autour de quatre nutriments principaux qui sont :

- Les protéines,
- Les glucides,
- Les lipides,
- Les sels minéraux, à l'exception du fer

Ainsi que d'autre élément qui sont :

- Les vitamines (hydrosoluble – liposoluble), à l'exception de la vitamine C.
- Les enzymes. (**Luquet, 1986 ; Drache, 1986**)

#### I.4.1. Les protéines :

Les principales protéines du lait sont des caséines. Ce sont de grosses molécules insolubles dans l'eau, contenant du phosphore et du calcium.

Elles donnent au lait l'aspect blanc, et lui apportent de nombreux acides aminés indispensables. Ces protéines sont nécessaires au renouvellement des cellules et à leur entretien. (**Sablonnière, 2001**).

## Partie bibliographique

---

### **I.4.2.Les glucides :**

Le constituant majeur de la matière sèche du lait est le lactose, à raison de 50 g/l à la moyenne. Sa présence dans le tube digestif favorise l'implantation d'une flore lactique qui s'oppose à l'installation d'une flore de putréfaction. Il favorise également l'assimilation du calcium et des matières azotées. **(Luquet, 1986)**

### **I.4.3.Les matières grasses :**

Elles sont constituées d'une part de lipides saturés pour 60-65% et d'autre part, de lipides insaturés pour au moins 35%.

La matière grasse laitière est le véhicule de vitamines liposolubles A et D.

- Les acides gras saturés à chaînes longue sont indispensable à l'édification cérébrale chez l'enfant **(Luquet, 1986)**.

### **I.4.4.Les sels minéraux :**

Ils sont nombreux, mais intéressant par leur abondance en calcium et en phosphore.

Le calcium du lait est celui que notre organisme assimile le mieux.

Il est indispensable à la contribution et à la régénération du squelette. Il intervient aussi dans de nombreuses actions biochimiques dans l'organisme. **(Sablionière, 2001)**

# Partie bibliographique

---

## Chapitre II : Microflore du lait.

### II.1. La flore originale :

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes /ml et moins de 1 coliforme/ml).

Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et lactobacilles (**Guiraud, 1998 ; Bourgeois et al., 1998**).

### II.2. La flore de contamination :

Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées « lactenines » mais leur action est de très courte durée (1 h environ). D'autres micro-organismes peuvent être trouvés dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade : ils sont généralement pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire. Il peut s'agir d'agent de mammites, c'est-à-dire d'infection du pis : Streptocoques pyogènes (*Streptococcus*), Corynebactéries pyogènes, staphylocoques . . . etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait malgré l'absence d'anomalies du pis : Salmonelle, brucella agent de la fièvre de malte et exceptionnellement *Listeria monocytogènes*, agent de listériose, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* agent de la tuberculose, *Bacillus anthracis*, agent du charbon, *Coxiella burnettii*, agent de la fièvre et quelques virus.

Les germes banaux du pis peuvent être responsables d'intoxications graves qui sont généralement limitées par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs (**Guiraud, 1998., Bourgeois et al., 1998**)

Le lait au cours de la traite, le transport et le stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de micro-organismes. La nature de ces derniers dépend de la température de stockage (**Larpen, 1997**)

Les principales sources de contamination sont les suivantes :

**II.2.1. Lait intra-mammaire:** peu de flore à part néfaste ou pathogène (Staphylocoque, listéria, salmonelle, *E. coli*). Seul le canal du trayon contient de la flore, il représente 1 à 2 ml sur la quantité de lait de la traite  $\implies$  très faible Attention aux résidus de seringue antibiotique utilisées lors du tarissement ou traitement mammitaire en lactation (respecter bien les délais) Quand on élimine les 1<sup>ers</sup> jet : on diminue les coliformes sur la flore des trayons.

## Partie bibliographique

---

**II.2.2.Flore de la Peau des trayons:** les trayons ont des charges moyennes de 3100 UFC de flore totale et de 10 UFC de flore acidifiante par cm<sup>2</sup>. Les familles de bactéries présentes sur les trayons : une majorité de Micrococcaceae dont les staphylocoques à coagulase négative. Ensuite, on trouve des bactéries lactiques (lactocoques et leuconostocs), levures moisissures, coliformes, entérocoques.

### **II.2.3.Aéro-contamination :**

- Salle de traite ouverte ou fermée : Présence de leuconostocs si salle de traite ouverte.
- Conditions de traite (alimentation poussiéreuse à la traite) : Présence de leuconostocs, si alimentation en salle de traite.
- Type de machine (avec beaucoup ou peu d'entrée d'air), dépend du modèle et de l'utilisation: coupure ou non du vide lors du débranchage des faisceaux trayeurs
- Aire paillée :
  - paille/refus : présence d'entérocoques.
  - quand on paille plus : présence d'entérocoques et leuconostocs.
  - si T°C aire paillée < 30°C : présence de flore acidifiante mésophile.

### **II.2.4.Machine à traire, biofilm :**

- \*sur pot trayeur ou lactoduc
- \*manchons silicones ou caoutchouc: présence de leuconostocs, si moins de changement des tuyaux et manchons MAT
- \*Qualité de l'eau (contamination Pseudomonas ou coli ou autres pathogènes)
- \* pratique de nettoyage et rinçage (attention résidu produit nettoyage)

La composition microbiologique du lait est essentiellement d'origine externe, propre à l'exploitation aux conditions d'élevage, et de nettoyage des matériels en contact avec le lait (Morge, 2009).

### **II.2.5.Modifications du lait après récolte :**

Les méthodes de réfrigération du lait à la ferme en tanks réfrigérés et de collecte en citerne influencent considérablement la nature de la flore microbienne du lait cru. Avant l'implantation de ces méthodes la flore dominante est constituée de bactéries. La conservation du lait au froid aboutit à une sélection des germes psychrotrophes capables de se multiplier à des températures égales ou inférieures à 7°C. Ces germes proviennent du sol, des eaux ou des fourrages.

## Partie bibliographique

L'introduction de la technique de conservation du lait sous réfrigération a donc réduit le sourissement du lait .En effet , les streptocoques lactiques se développent à des températures supérieures à 10°C. De plus, la plupart des bactéries lactiques sont tuées par pasteurisation mais *Streptococcus thermophilus* est résistant et peut poser des problèmes après ce traitement.

Les bactéries psychrotrophes (*Acinetobacter*, *Alcaligenes*, certains *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Fb.brevis*, *Fb.mutivorum*) *Pseudomonas*, se développent encore à des températures de 3 à 7°C.

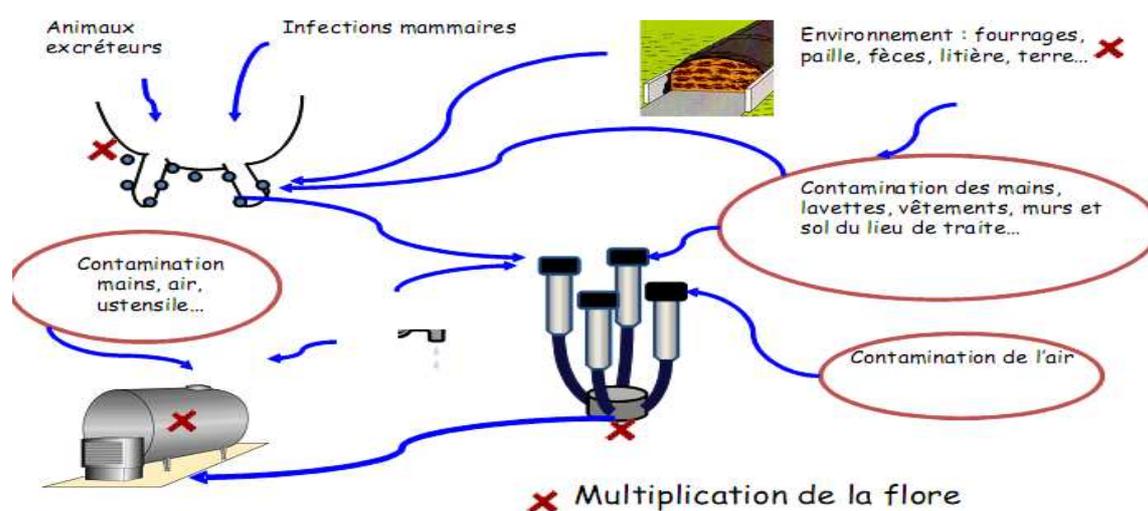
Les protéases extracellulaires des bactéries psychrotrophes sont sans doute les enzymes qui ont été les plus étudiées .Il s'agirait, pour la plupart, de métallo- protéases (inhibition par des agents chélateurs).

La plupart des protéases de bactéries psychrotrophes résistent remarquablement à haute température .Cependant, certaines protéases ont un minimum de stabilité au voisinage de 55°C.

Une activité lipasique extracellulaire a été trouvée dans la plupart des bactéries psychrotrophes, et des défauts des produits laitiers à cette activité ont été reconnus. Il s'agit d'abord de la rancidité due à l'hydrolyse des défauts dus à la formation de composés carbonylés et d'autres produits volatils.

Certaines lipases sont inactivées entre 52,5°C et 57,5°C, mais les lipases de la plupart des bactéries psychrotrophes sont thermostables.

Un lait pauvre en germes peut se conserver 3 jours à 4°C, s'il est refroidi dans de bonnes conditions. Le 3<sup>ème</sup> jour, le seuil de populations bactériennes atteint 10<sup>6</sup> bactéries/ml, c'est le seuil critique d'altération. Si le lait contient plus de 50 000 germes par ml, ce seuil critique est atteint le 2<sup>ème</sup> jour, au cours du laps de temps qui s'écoule entre la traite et le traitement du lait à l'usine. (Bourgeois et al., 1988) .



**Figure N°1 : Les réservoirs de microflores (Morge, 2009).**

## Partie bibliographique

---

**II.3. Groupes des micro-organismes :** 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.3.1. Virus :**

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

Les principaux virus rencontrés dans le secteur laitiers sont les virus de l'hépatite A et les bactériophages qui sont spécifiques des bactéries (**F.A.O, 1995**).

### **II.3.2. Bactéries :**

Les bactéries sont responsables de 90% des accidents alimentaire (tous produits confondus).

Le risque bactérien est donc le plus important à considérer en matière de fréquence (**MOLL M., MOLL N., 2000**).

### **II.3.3. Levures et moisissures :**

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

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

### I. Objectifs :

L'objectif de notre travail est :

- Evaluer la qualité bactériologique du lait cru au niveau de quelques fermes de la wilaya d'Alger.
- Maitriser des techniques de recherche et de dénombrement de la flore contaminant le lait cru au niveau du laboratoire.

### II. Matériels et méthodes : voir annexe I :

**II.1. Région d'étude :** Nous avons réalisé notre étude dans la wilaya d'Alger et une commune de la wilaya de Boumerdès.

### II.2. Nombre des prélèvements et d'élevages étudiés :

Nous avons effectué 12 prélèvements de lait cru au niveau de 6 différents élevages de la wilaya d'Alger, visités au cours des cliniques rurales de notre école.

Le nombre des prélèvements et les communes étudiées sont rapportés dans le tableau N°5.

**Tableau N°5 :** dates et régions des différents prélèvements

N° du lait	Date	Communes
1	15/02/2010	BOUDOUAOU
2	15/02/2010	BOUDOUAOU
3	21/02/2010	REGHAIA
4	21/02/2010	REGHAIA
5	22/02/2010	KOUBA
6	22/02/2010	KOUBA
7	22/02/2010	EL HARRACHE
8	01/03/2010	EUCALYPTUS
9	01/03/2010	EUCALYPTUS
10	01/03/2010	EUCALYPTUS
11	08/03/2010	ROUIBA
12	08/03/2010	ROUIBA

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

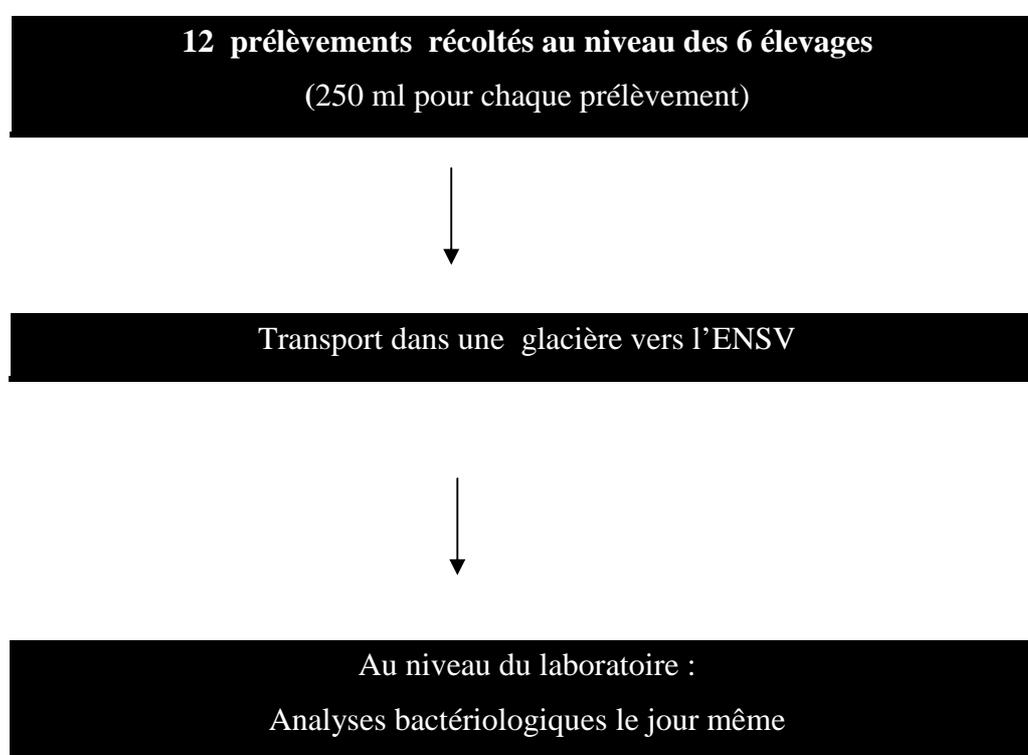
### II.3. Technique de prélèvement :

Après nettoyage et désinfection à l'alcool de l'extérieur du récipient contenant le lait de la traite, nous prélevons 250 ml de lait dans un flacon stérile.

### II.4. Transport des prélèvements :

L'acheminement des prélèvements au laboratoire se fait dans une glacière. Le temps maximal entre le prélèvement et l'analyse des échantillons ne dépassait pas 2 heures.

La figure 1 résume l'ensemble des étapes de nos prélèvements :



**Figure N° 2: diagramme des différentes étapes des prélèvements**

### II.5. Analyses bactériologiques :

Tous nos recherches et analyses ont été effectués selon les normes **ISO X P V 08-102**

#### II.5.1. Préparation des solutions mères et dilutions : selon la norme V-0572

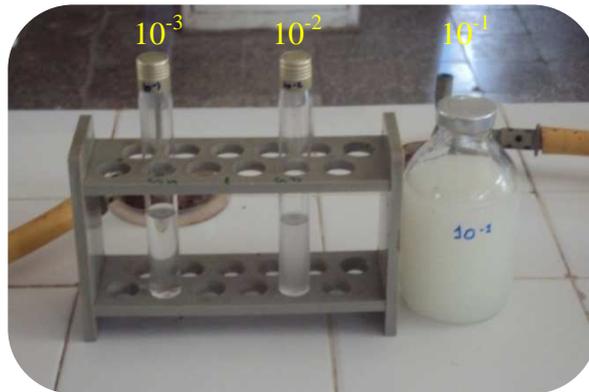
➤ **Dilution :**

On réalise à partir du lait (solution mère) des dilutions successives en progression géométrique de raison de 1/10. Les dilutions s'effectuent de la façon suivante :

## PARTIE EXPERIMENTALE

### ➤ Mode opératoire :

A partir de 250 ml de lait, après homogénéisation, on répartit stérilement 25 ml de lait dans un flacon contenant 225 ml de diluant de TSE (Tryptone Sel Eau) pour obtenir la dilution au 1/10 ( $10^{-1}$ ). Pour réaliser la dilution  $10^{-2}$ , on répartie 1 ml de la dilution  $10^{-1}$  dans 9ml du diluant TSE. De la même manière on réalise les dilutions suivantes  $10^{-3}$  (voir figure n°3)



**Figure N°3 : préparation des dilutions décimales (photo personnelle)**

### II.5.2. Recherche et dénombrement de la flore mésophile totale à 30° C :

#### ➤ Mode opératoire : selon la norme V F V 08-051

L'ensemencement se fait en profondeur.

1. Après identification des boîtes, déposer stérilement 1 ml de chaque dilution ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ).homogénéiser.
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, dans le sens des aiguilles d'une montre, puis 6 cercles en inverse, ensuite 6 aller et retours de haut en bas et 6 autres de gauches à droites en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis laisser refroidir.
4. Rajouter 5 ml de la gélose PCA.
5. Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 30°C pendant 72 heures.

## PARTIE EXPERIMENTALE

### ➤ Dénombrement :

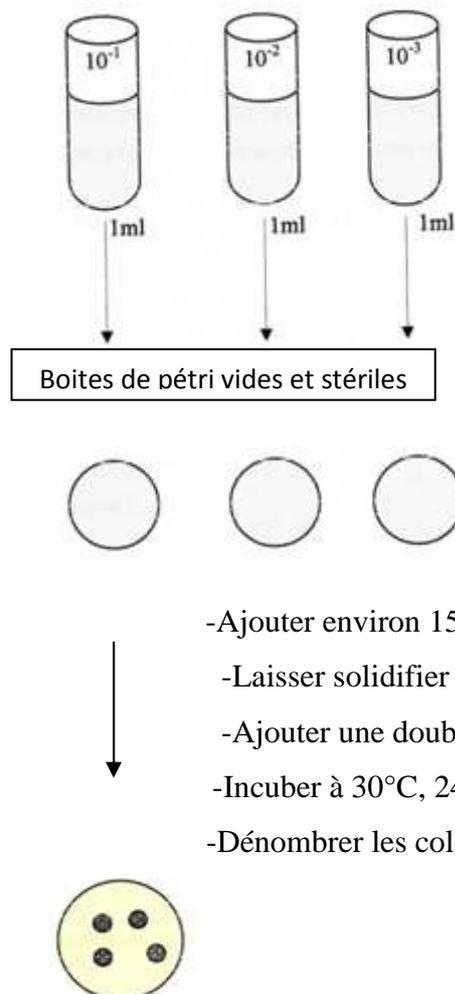
Le dénombrement est effectué par comptage des colonies, on ne doit tenir compte que des boîtes qui contiennent entre 30 et 300 colonies, on compte toutes les colonies de tailles et de formes différentes voir la figure n°4.

La moyenne de dénombrement est réalisée selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{1,1 \times d}$$

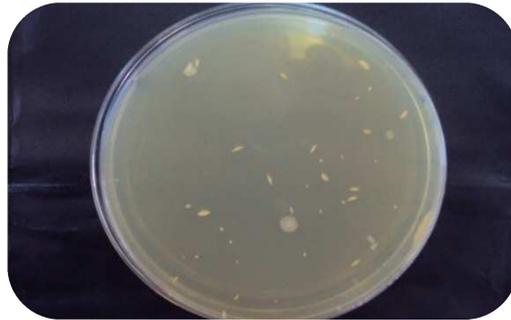
- $\sum C$  : est la somme des colonies de la mésophile totale identifiées sur les deux boîtes retenues.
- $d$  : est le taux de dilution correspondant à la première dilution

### A partir des dilutions décimales



- Ajouter environ 15ml de gélose de PCA.
- Laisser solidifier sur paillasse.
- Ajouter une double couche de 5 ml
- Incuber à 30°C, 24-48 et 72h.
- Dénombrer les colonies lenticulaires en masse.

**Figure N°4 : Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30°C**



**Figure N°5 : colonies de la flore mésophile totale dans le milieu du PCA**  
**(photo personnelle)**

### **II.5.3. Recherche et dénombrement des coliformes thermo-tolérant à 44°C :**

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

- **Mode opératoire :** Norme AFNOR NF V08-060
- **Milieu utilisé :** Milieu gélosé lactosé bilié au cristal violet et rouge neutre (VRBL).
- **Technique :**
  - Même technique d'ensemencement que la recherche et dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C.
  - Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 44°C pendant 24h à 48h (Figure N°7).

#### ➤ **Lecture**

Après la période d'incubation procéder au comptage des colonies caractéristiques de coliformes thermo tolérants (violacées, d'un diamètre de 0,5 mm au plus et entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile) pour chaque boîte contenant moins de 150 colonies caractéristiques. Le calcul de la moyenne a été effectué avec la même formule.

#### ➤ **Dénombrement :**

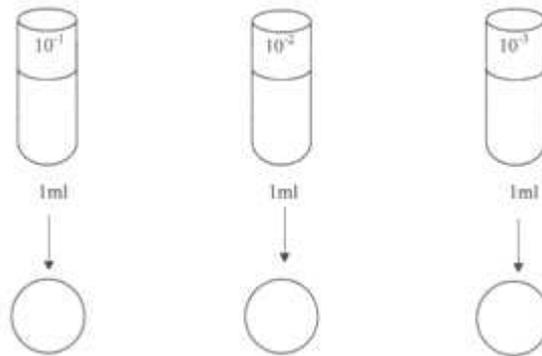
La moyenne de dénombrement est réalisée selon la formule précédente.

## PARTIE EXPERIMENTALE



**Figure N°6 : colonies des coliformes fécaux dans le milieu du VRBL**  
**(photo personnelle)**

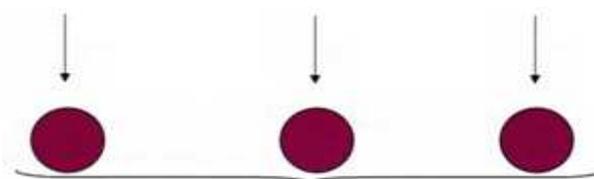
A partir des dilutions décimales



Boîtes de pétri vides et stériles



- Ajouter environ 15ml de gélose de VRBL.
- Laisser solidifier sur paille.
- Ajouter une double couche de 5 ml.
- Dénombrer les colonies ayant poussé rouges



Coliformes fécaux (44°C, 24 à 48h)

**Figure N°7 : Recherche et dénombrement des coliformes thermo-totaux à 44°C**

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

### II.5.4. Recherche des *Staphylococcus aureus* :

- **Mode opératoire :** Norme ISO 6888 et NF V08-057-1
  
- **Milieu utilisé :**

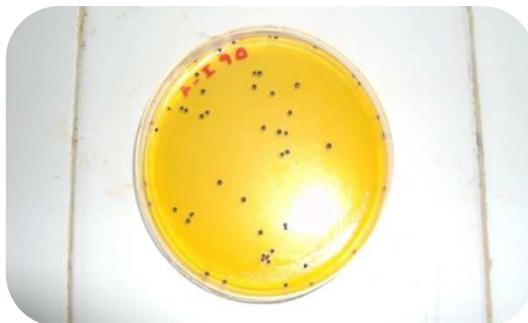
Milieu gélosé de Baird Parker additionné de téllurite de potassium et d'émulsion d'œuf.

- **Technique :**

- Transférer, à l'aide d'une pipette stérile, 0,1ml des dilutions décimales, à la surface d'une boîte de gélose Baird Parker.
- Etaler soigneusement l'inoculum avec un étaleur stérile pour chaque boîte.
- Les boîtes seront incubées à 37°C pendant 24h à 48h (figure N° 12).

- **Lecture :**

Les colonies caractéristiques sont noires ou grises, brillantes, convexes et entourées d'une zone transparente. Ces colonies subiront une étude microscopique et une confirmation biochimique.



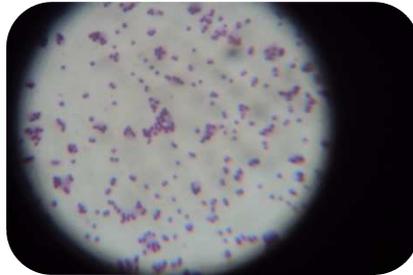
**Figure N°8 : Présence des colonies dans le milieu Baird Parker (photo personnelle)**

- **Etude microscopique**

Nous avons effectué cette étude par la coloration de Gram : Staphylococcus sont observés sous formes de coques Gram positif regroupés en amas ou en grappe de raisin.

- **Confirmation biochimique :** réalisée par les 2 épreuves suivantes :

- Epreuve de la catalase
- Epreuve de la coagulase libre (staphylocoagulase)



**Figure N°9 : Coloration de Gram (photo personnelle)**



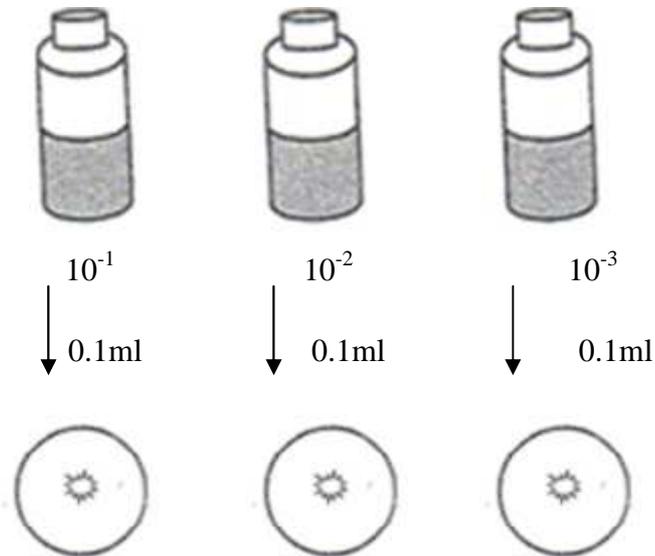
**Figure N°10 : Catalase positif (photo personnelle)**



**Figure N°11 : Coagulase positif (photo personnelle)**

## PARTIE EXPERIMENTALE

### A partir des dilutions décimales



### Étalement sur gélose Baird Parker

Incubation à 37°C ,24heurs



**Figure N°12 : Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus***

### **II.5.5. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :**

- **Mode opératoire :** Norme ISO 17025
- **Milieu utilisé :**
  - Milieu de Rothe pour le test de présomption
  - Milieu d' EVA LITSKY pour le test de confirmation

#### ➤ **Technique :**

Les Streptocoques fécaux sont dénombrés en milieu liquide par la technique du NPP (nombre le plus probable). Cette méthode se fait en deux étapes.

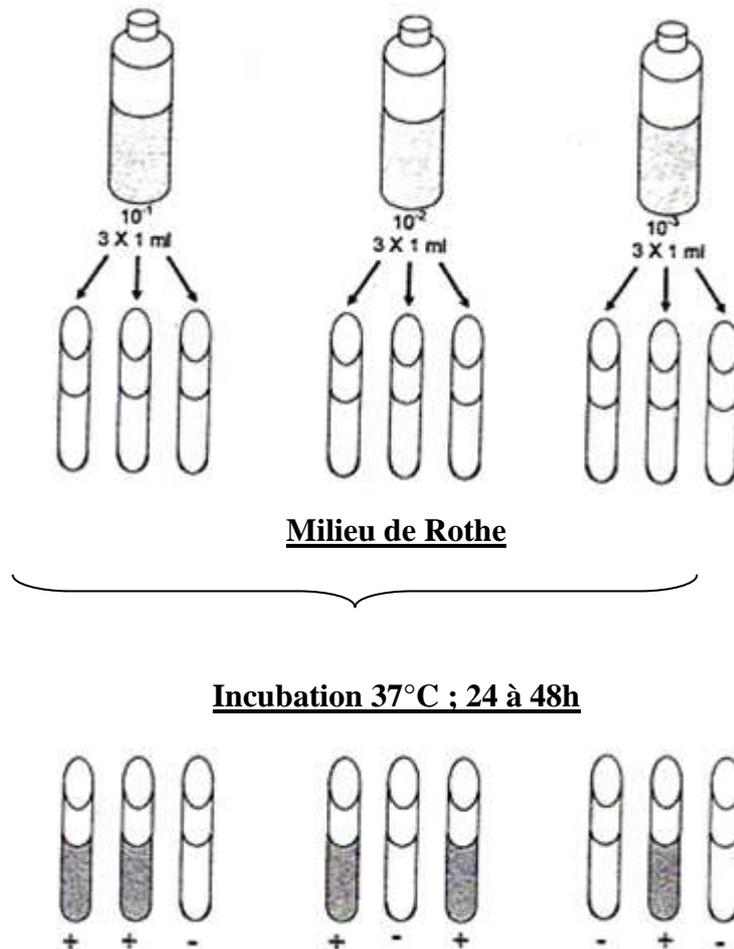
## PARTIE EXPERIMENTALE

- **Test de présomption :**

- Préparer dans un portoir une série de 9 tubes contenant le milieu Rothe à raison de trois par dilution.
- On ensemence 1ml de chaque dilution, puis mélanger soigneusement et doucement par un vortex.
- Incuber à 37°C pendant 24h à 48h (figure N°13).

### Teste de présomption

#### A partir des dilutions décimales



**Figure N°13 : Test de présomption des Streptocoques fécaux**

- **Test de confirmation :**

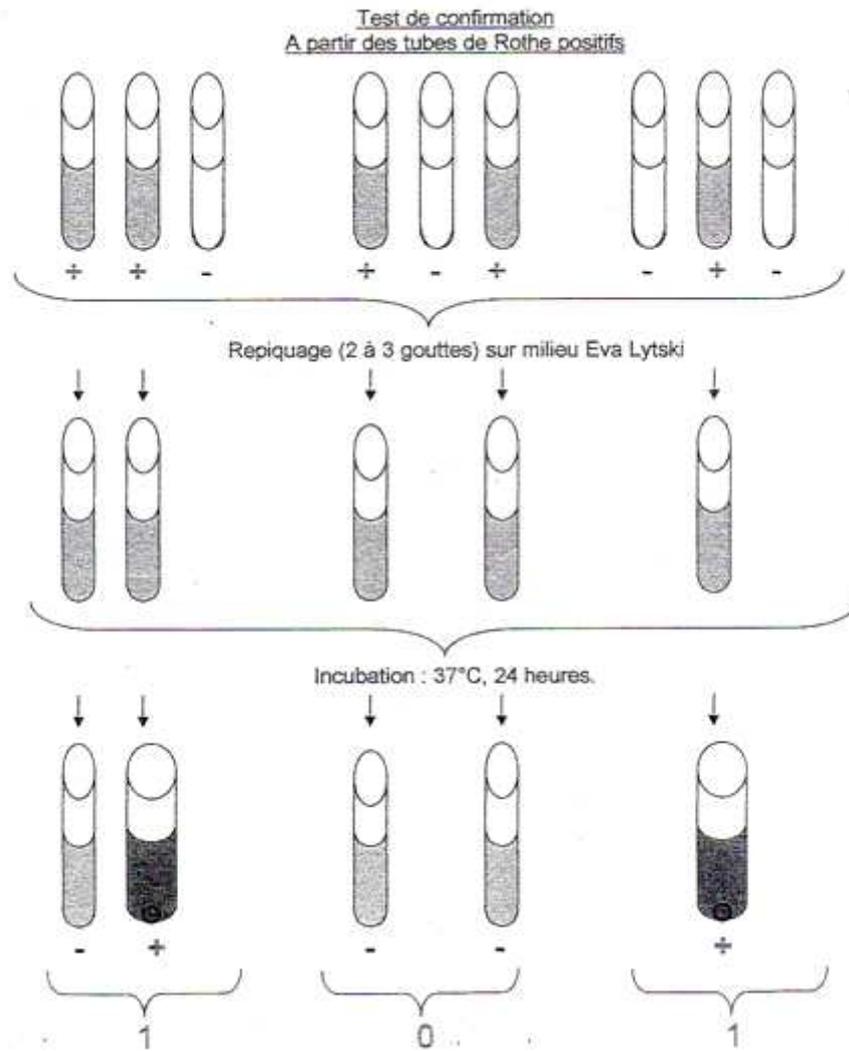
- Ce dernier consiste à repérer les tubes positifs qui feront l'objet d'un repiquage (2 à 3 gouttes) sur milieu LYTSKI.
- Incuber à 37°C pendant 24h (voir figure N°14).

## PARTIE EXPERIMENTALE

➤ **Lecture** : seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- un trouble microbien
- une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube

La lecture finale se fait selon la table de Mac Grady (**voir annexe III**)



**Figure N°14 : Test de confirmation des Streptocoques fécaux**

## PARTIE EXPERIMENTALE

### III. Résultats et interprétation :

#### III.1. Résultats :

L'ensemble de nos résultats bactériologiques est résumé dans le tableau ci-dessous :

**Tableau N° 6 : Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements analysés.**

	FMT	CTT	Strepto Fécaux	Staph Aureus
1	7.10 <sup>2</sup>	-	-	+
2	11.10 <sup>2</sup>	-	-	-
3	9.10 <sup>2</sup>	-	-	-
4	12.10 <sup>2</sup>	-	-	-
5	220.10 <sup>2</sup>	2.10 <sup>3</sup>	-	+
6	900.10 <sup>2</sup>	-	-	+
7	10 <sup>5</sup>	+	-	+
8	5.10 <sup>5</sup>	8.10 <sup>3</sup>	-	+
9	400.10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	-	+
10	50.10 <sup>2</sup>	IDM	-	-
11	140.10 <sup>2</sup>	5.10 <sup>2</sup>	-	+
12	24.10 <sup>2</sup>	-	-	+
<b>moyenne</b>	<b>64775</b>	<b>1045*</b>	<b>0</b>	<b>0.66</b>

**FMT** : flore Mésophile Totale ; **CTT** : Coliforme Thermo-tolérant ; **Strepto** : Streptocoque ; **Staph** : Staphylocoque ; (+) : présence ; (-) : absence ; **IDM** : indénombrable.

\*La moyenne des CTT est obtenue par division du total sur 11.

#### III.2. Interprétation :

L'interprétation a été réalisée en référence aux normes établit par l'arrêté interministériel du 24 janvier 1998. Les critères retenus pour le lait cru sont résumés dans le tableau N°7.

**Tableau N°7 : les critères microbiologiques du lait cru.**

Produits	n	c	m
Germes aérobies à 30°C	1	-	10puis. 5
Coliformes fécaux	1	-	10puis. 3
Streptocoques fécaux	1	-	Abs/0,1 ml
Staphylocoques fécaux	1	-	Absence

## PARTIE EXPERIMENTALE

---

C : étant le nombre d'unités d'échantillons donnant des valeurs comprises entre m et M.

n : étant le nombre d'unités d'échantillons.

m : nombre minimal de micro-organismes trouvés (limite inférieure).

M : nombre maximal de micro-organismes trouvés (limite supérieure).

Puis. : Puissance.

M = 10m (milieu solide)

M = 30m (milieu liquide)

Cette interprétation a été faite selon le plan des trois classes dont le principe fixe trois niveaux de contamination, à savoir :

- Celle inférieure ou égale au critère « m » qualité satisfaisante, (< 3m en milieu solide ; < 10m en milieu liquide)
- Celle comprise entre le critère « m » et « M » qualité acceptable,
- Celle supérieur au seuil « M » qualité non satisfaisante.

### **III.2.1.Application pratique :**

1. La qualité du lait cru considérée comme satisfaisante ou acceptable en application de l'article 04 de l'arrêté du 23 juillet 1994, si aucun résultat ne dépasse M.  
Avec : M= 10m en milieu solide ; M= 30m en milieu liquide.
2. La qualité du lait cru considérée comme acceptable quand les valeurs observées sont inférieurs à 3m en milieu solide ou inférieur à 10m en milieu liquide.
3. La qualité du lait cru considérée comme non satisfaisantes quand les résultats obtenu sont supérieure à M
4. Les expressions :
  - « absence » : les résultats considérés comme satisfaisantes.
  - « présence » : les résultats considérés comme non satisfaisantes. Dans ce cas le produit est considéré comme impropre à la consommation.

### **III.2.2.Interprétation des résultats de la flore mésophile totale :**

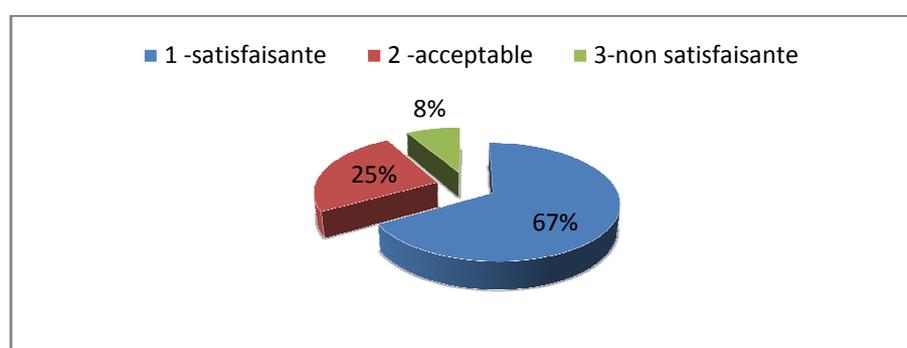
- Les valeurs observées sur les échantillons 1, 2, 3, 4, 5 ,10 ,11 et 12 sont inférieures à 3m, donc de qualité satisfaisante.

## PARTIE EXPERIMENTALE

- Les valeurs observées sur les échantillons 6, 7 et 9 sont comprises entre 3m et 10m (M), donc de qualité acceptable.
- La valeur observée sur l'échantillon 8 supérieur à 10m est de qualité non satisfaisante.

**Tableau N°8** : taux de contamination de la flore mésophile totale :

	satisfaisante	Acceptable	Non satisfaisante	Totale (%)
FMT	8(66.67%)	3(25%)	1(8.33%)	12(100 %)



**Figure N°15** : Diagramme des taux de contamination par la flore mésophile totale

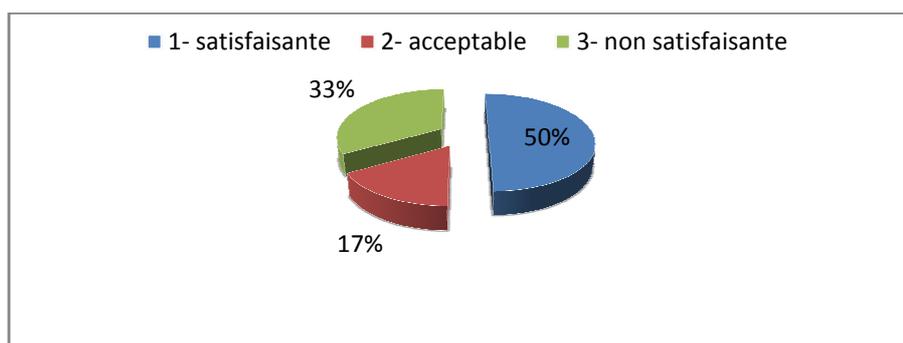
### III.2.3. Interprétation des résultats des coliformes fécaux :

- Les valeurs observées sur les échantillons : 1, 2, 3, 4, 6 et 12 inférieures à 3m sont de qualité satisfaisante.
- Les valeurs observées sur les échantillons 9 et 11 sont comprises entre 3m et 10m (M) de qualité acceptable.
- Les valeurs observées sur les échantillons 5, 7, 8 et 10 supérieurs à 10m sont de qualité non satisfaisante.

## PARTIE EXPERIMENTALE

**Tableau N°9** : taux de contamination de la flore coliforme fécaux :

	satisfaisante	Acceptable	Non satisfaisante	Totale (%)
CTT	6(50%)	2(16.67%)	4(33.33%)	100%



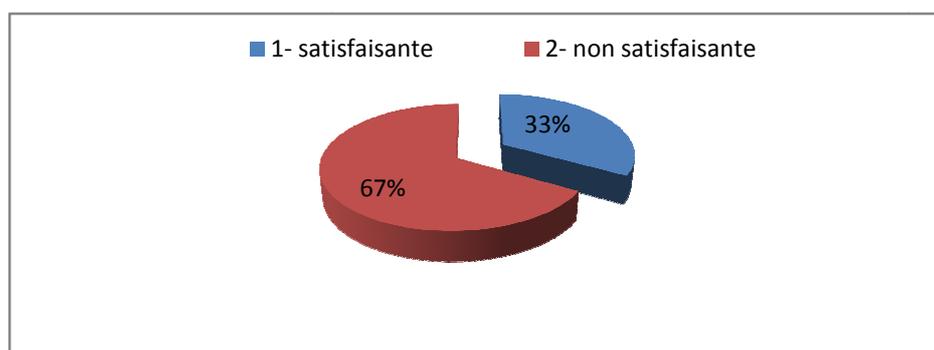
**Figure N°16** : Diagramme des taux de contamination par les coliformes fécaux

### III.2.4. Interprétation des résultats des staphylococcus aureus :

- les résultats observés sur les échantillons : 2, 3, 4 et 11 sont des résultats négatifs, donc sont de qualité satisfaisante.
- les résultats observés sur les échantillons : 1, 5, 6, 7, 8, 9, 10 et 12 sont des résultats positifs, donc sont de qualité non satisfaisante.

**Tableau N°10** : taux de contamination par les staphylococcus aureus :

	satisfaisante	Non satisfaisante	Totale (%)
<b>Staph</b>	4 (33.33%)	8 (66.67%)	100%



**Figure n°17** : Diagramme des taux de contamination par les staphylococcus aureus

### **III.2.5. Interprétation des résultats des streptocoques fécaux :**

Les résultats observés dans nos échantillons sont de qualité satisfaisante.



**Figure n°18 : Diagramme des taux de contamination par les streptocoques fécaux**

### IV. Discussion :

Il est constaté sur terrain, que l'état d'hygiène des élevages ciblés et les mauvaises pratiques au cours de la traite et du stockage du lait, ainsi que la négligence de la désinfection des locaux et du matériel d'élevage influencent à court sûr la qualité du lait produit et mis à la consommation. D'où l'intérêt de connaître l'état de contamination de ce lait ; c'est dans cette perspective que nous sommes intéressés à l'étude de la qualité bactériologique du lait cru récolté au niveau de 6 élevages dans 6 communes de la région d'Alger, et ceci en utilisant des méthodes normalisées, fixées par la réglementation.

Après l'analyse des 12 prélèvements réalisés au niveau des 6 élevages et en comparaison avec les normes Algériennes en vigueur, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Pour la flore mésophile aérobie totale à 30°C, nous avons retrouvé un taux de contamination de 8.88%, ce qui correspond à 1 des 12 prélèvements, ceci indiquerait une contamination du lait cru immédiatement après la traite, suite à une mauvaise hygiène des mains et aux nombreuses manipulations par le personnel (éleveurs). Ce résultat rejoint celui retrouvé par **Hamzaoui et Kenane (2005)**, qui est de l'ordre de 5.55%, alors que **Sahraoui et Bellal (2009)** rapportent un taux de 31.55%.
- Pour les coliformes fécaux, nous retrouvons un taux de 33.33% (4 des 12 prélèvements), ce qui pourrait être due à une contamination fécale. Ce résultat rejoint celui retrouvé par **Hamzaoui et Kenane (2005)**, qui est de l'ordre 36.11%, et celui de **Sahraoui et Bellal (2009)**, qui est de l'ordre 26.22%.
- Pour *Staphylococcus aureus*, nous retrouvons un taux de contamination de l'ordre de 66.67% correspondant à 8 des 12 prélèvements, ce qui indiquerait une inflammation de la mamelle, par contre dans l'étude de **Hamzaoui et Kenane (2005)**, les résultats rapportaient sont à un taux de 0%, alors que **Sahraoui et Bellal (2009)** retrouvent un taux de contamination de l'ordre 30.22%.
- Pour les streptocoques fécaux, le résultat ne dépasse pas les normes, et rejoint celui retrouvé par **Hamzaoui et Kenane (2005)**, alors qu'il s'oppose à celui de **Sahraoui et Bellal (2009)** qui rapportent un taux de 20.88%.

Les résultats obtenus révèle la présence des germes mésophiles totales, des coliformes totaux et des *staphylococcus aureus* ce qui peut être dû à un manque de nettoyage et de désinfection des locaux et des sanitaires. C'est ainsi qu'un lait hautement contaminé représente, un danger pour la santé humaine et une entrave à la transformation en industrie laitière.

## CONCLUSION

La production d'un lait cru propre et de qualité bactériologique satisfaisante résulte d'un cumul de nombreuses actions sur l'ensemble de tous les facteurs de cette production. A cet effet, nous recommandons les pratiques suivantes:

### **1) L'animal :**

Doit être sain de maladies jugées contagieuses telles que la tuberculose, la fièvre aphteuse et la brucellose.

Il faut veiller sur l'hygiène de la mamelle car les mammites constituent une source de contamination du lait par les nombreux germes qu'elles apportent (staphylocoques, streptocoques, colibacilles, etc.)

Et enfin, la propreté de l'animal lui-même.

### **2) Le vacher :**

Il doit laver ses mains convenablement avant la traite, porter des vêtements propres et facile à désinfecter.

### **3) L'hygiène des locaux :**

La poussière, les mouches, les débris d'aliments, la bouse et l'urine sont particulièrement chargés en germes (coliformes entre autre), certaines pratiques sont en conséquences à prohiber tout spécialement la distribution des aliments avant la traite. La traite dans un local séparé améliore largement les conditions hygiéniques et la salle de traite doit toute fois dans sa conception et son entretien, faire l'objet de soins particuliers et être propre.

### **4) L'hygiène de la traite :**

Il faut s'assurer qu'il ne reste pas de solutions détergentes ou chlore ou d'eau résiduelle dans les tuyauteries.

-Lavage du pis avant toute traite.

-Elimination de premiers jets de lait avant de poser les gobelets trayeurs.

-Nettoyage biquotidien de la machine à traire.

### **5) La conservation du lait :**

La meilleure température pour conserver parfaitement le lait cru se situe entre 3° et 5°C. Le froid ne fait que conserver les degrés de qualité initiale, il ne peut en aucun cas l'améliorer.

## Références bibliographiques

1. **ADRIAN J, POTUS J et FRANGNER R. (1995)** La science alimentaire de A à Z. ED. Lavoisier Tec et Doc. 477p.
2. **ALAIS. C ; 1984** : science du lait, principe de technique laitière, édition SPAIC.
3. **BOURGEOIS C.M, MESCLE J.F et ZUCCA J. (1988)** : Microbiologie alimentaire- aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. Lavoisier Tec et Doc. Pp : 201-405.
4. **CELC ,1998** : La microbiologie de lait, centre d'enseignement laitier par correspondance  
In : BOUTAKHEDMIT M, BELKACEMI T ,2004 : Analyses microbiologique du lait cru, thèse Ecole National Vétérinaire, Page 11
5. **DERIVAUX.J et ECTORS.F** :1980 : Physiopathologie de la gestation et obstétrique vétérinaire, Edition point vétérinaire. P. 123.
6. **Drache, R. (1986)** : Toxicologie et sécurité des aliments. Edition : technique et documentation - Lavoisier (594p).
7. **F.A.O 1995** : Lait et le produit laitiers dans la nutrition humaine.  
[http:// www.fao.org /es/ENS/index\\_en.stm](http://www.fao.org/es/ENS/index_en.stm)
8. **GUIRAUD JP, 1998** : Microbiologie et Alimentation. Tome I, édition Dunod, Paris .Pages 136,137
9. **Hamzaoui. A et Kenane. C, 2005**: Evaluation de la qualité bactériologique et physicochimique du lait cru au niveau de laiterie de Beni Tamou, PFE école nationale vétérinaire, Pp 58.
10. **INRA, ENSA, Rennes, INA, Paris Grignon., 1999** : la composition du lait et ses incidences technologiques.
11. **Luquet, F.M. (1986)** : Lait et produits laitiers, vache, Brebis, Chèvre (tome3). Edition : technique et documentation - Lavoisier (445p)
12. **Larpent J.P. (1997)** : Microbiologie alimentaire, technique de laboratoire, Collection Lavoisier et doc, Pp : 706-759.
13. **M.A.P.A** : Ministre de l'agriculture et de la pêche et l'alimentation ; de la république Française, 1997 : avenant n°2 au cahier des charges concernant le mode de production biologique du lait et des produits laitiers de l'espèce bovine.
14. **MOLL M. , MOLL N. (2000)** : Précis des risques alimentaires .Edition Tec et Docs, Paris, 378 pages.
15. **Morge S, 2009** : Fabriquer des fromages lactiques de chèvres avec du lait cru. PEP caprin. Pp 9. [http : www.pep.chambagri.fr/.../lait%20cru%20pages%20tks\\_JPO%2009.pdf](http://www.pep.chambagri.fr/.../lait%20cru%20pages%20tks_JPO%2009.pdf)

**16. Sablonniere B. (2001) :** Technologie alimentaire carrière sanitaire et sociale. Edition Ellipses. Pp : 87-90-190.

**17. Sahraoui L. et Bellal M.:** Etude de la qualité microbiologique du lait cru dans les régions d'Alger et Blida. fiplait forum international du lait et produits laitiers avec Salon SIPSA 12 et 13 Mai 2010 Alger.

**18. WATTIAUX MA., 2001 :** lactation et récolte du lait, édition, institut babcock.

## Annexe I :

### 1. Matériels et verreries

- Flacons stériles
- Tubes stériles
- Pipettes graduées de 2 à 10ml
- Micropipette de 0.1ml
- Boîtes de pétri à usage unique
- Pipettes de Pasteur
- Bain marie
- Autoclave
- Incubateurs 30°, 37° et 44°C.
- Stérilisateur
- Enceinte réfrigérée (glacier)
- Contenair
- Anse de platine
- Lames
- Microscope optique
- Bec Bensen

### 2. Milieu de culture :

- PCA (plat count agar)
- VRBL (bouillon au cristal violet au rouge neutre et à al bile, violet Red Bile Agar)
- Milieu Roth
- Milieu Litsky
- Baird Parker
- Plasma de lapin
- TSE (Eau Tryptone-Sel).

## Composition des milieux

### **Eau péptonée :**

Peptone tryptique.....	15g
Na Cl.....	5g
Eau distillée.....	1000ml

PH= 7,6.  
Stérilisée à 115°C pendant 20 minutes.

### **Plat Count Agar (PCA)**

Tryptone.....	5g
Extrait de levure.....	2.5g
Glucose.....	1g
Agar.....	5g
Eau distillée.....	1000ml

pH=7

### **Gélose au cristal violet, au rouge neutre et à la bile (VRBL, Violet Red Bile Agar) : g/l**

Peptone.....	7
Extrait de levure.....	3
Lactose.....	10
Chlorure de sodium.....	5
Mélange de sels biliaires.....	1.5
Rouge neutre .....	0.03
Cristal violet.....	0.002
Agar- agar.....	13

### **Baird-Parker – 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

pH=7,2

**Milieu de 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

**Milieu de Roth : g/l d'eau distillée**

Hydrolysats 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

## Annexe II

### ANNEXE III

#### TECHNIQUE DE PRISE D'ESSAI ET INTERPRETATION DES RESULTATS 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 parties superficielles et profondes, notamment pour les produits en tranches, hâchés, 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 (pièces) et les poissons entiers ;

— sur le produit homogénéisé 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 microbiologiques effectués à la suite de toxi-infections alimentaires, il est nécessaire de pratiquer la recherche des germes pathogènes, toxigènes et/ou de leurs toxines, aussi bien en surface qu'en profondeur.

##### 2. Interprétation des résultats d'analyses microbiologiques :

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

###### 2. 1 Plan à trois classes

###### 2. 1. 1 Principe :

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

- celle inférieure ou égale au critère "m" ;
- celle comprise entre le critère "m" et le seuil "M" ;
- celle supérieure au seuil "M".

Les critères qualitatifs "m" et "M", sauf autre indication, expriment le nombre de germes 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 résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique ;

M = 10 m lors du dénombrement effectué en milieu solide

M = 30 m lors du dénombrement effectué en milieu liquide

n : nombre d'unités composant l'échantillon ;

c : nombre d'unités de l'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 juillet 1994 lorsque, aucun résultat ne dépasse M :

a — Les valeurs observées sont :

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

b — les valeurs observées sont comprises :

entre 3 m et 10 m (=M) en milieu solide,  
entre 10 m et 30 m (=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 supérieurs 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 la cas général à :

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

Annexe III

TABLE DE MAC - GRADY

Nombre Caractéristique	Nombre de Micro-organismes
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4
101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
120	1,1
121	1,5
130	1,6
200	0,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
221	3,0
222	3,5
223	4,0
230	3,0
231	3,5
232	4,0
300	2,5
301	4,0
302	6,5
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,0
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,0

## Annexe IV

Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1419 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires .....

(N° JORA : 035 du 27-05-1998)

Le ministre du commerce,

Le ministre de l'agriculture et de la pêche et

Le ministre de la santé et de la population,

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

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

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

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

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

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

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

Arrêtent:

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

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

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

- les viandes rouges et blanches ainsi que leurs dérivés;
- les poissons et autres produits de la pêche;
- les conserves et les semi-conserves;
- les ovoproduits, les pâtisseries et les crèmes pâtisseries;
- les laits et les produits laitiers;
- les eaux et les boissons non alcoolisées;
- les graisses animales et végétales;
- les produits déshydratés;
- les confiseries;
- les plats cuisinés;
- les aliments pour nourrissons et enfants en bas âge".

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

PRODUITS	n	c	m
1. Laits cru:	!	!	!
- 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 46°C	!	1	- ! 50
- antibiotiques	!	1	- ! absence

# Annexe V

## COLORATION DE GRAM

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

Rincer à l'eau

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 )

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

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

7- laver à l'eau. Sécher Examiner à l'impression

## Résumé :

La composition et la qualité nutritive du lait en font un aliment presque complet. Il tient une place indispensable dans l'alimentation humaine et animale. Mais cet aliment est toujours prédisposé à des contaminations bactériologiques qui constituent un danger pour la santé du consommateur. C'est pour cela que sa qualité microbiologique doit être régulièrement contrôlée.

Notre étude a pour objectif d'évaluer la qualité bactériologique du lait cru dans nos élevages. Pour cela, nous avons réalisé 12 prélèvements au niveau de 6 élevages de la région d'Alger. Des examens bactériologiques ont été effectués pour la recherche des germes pouvant contaminer ce lait selon la réglementation en vigueur.

Nos résultats montrent des dépassements par rapport aux normes pour les germes aérobies à 30°C, les coliformes fécaux, et par l'existence de germes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* et l'absence des streptocoques. Ces résultats suggèrent donc un manque d'hygiène dans nos élevages.

Mot clés : lait cru, Bactériologiques, La qualité bactériologique, Alger.

## Summary :

The composition and nutritional quality of milk make one almost complete food. It is an indispensable place in human food and animal feed. But the food is always susceptible to bacteriological contamination that pose a danger to consumer health. That's why its microbiological quality should be regularly checked.

Our study aims to assess the bacteriological quality of raw milk on our farm. For this, we conducted 12 samples at 6 farms in the region of Algiers. Bacteriological tests were performed to develop the germs that can contaminate the milk according to regulations.

Our results show exceedances of standards for aerobic at 30 ° C, fecal coliforms, and the existence of pathogens such as *Staphylococcus aureus* and the absence of streptococci. These results suggest a lack of hygiene in our farms.

key words: Milk, bacteriological, The bacteriological quality, Algiers.

## ملخص:

يعتبر الحليب احد الأغذية الكاملة تقريبا ولا يمكن الاستغناء عنه في تغذية الإنسان والحيوان, وهو دائما عرضة للتلوث الجرثومي التي

تشكل خطرا على صحة المستهلك, لهذا السبب ينبغي جودتها الميكروبيولوجية وفحصا دائم

دراستنا تهدف إلى تقييم الجودة الميكروبيولوجية للحليب الطازج في مزارعنا ولهذا أجرينا 12 عينة من 6 مزارع في منطقة الجزائر العاصمة, وأجرينا اختبارات بكتريولوجية لتطوير الجراثيم التي يمكن أن تلوث الحليب وفقا للوائح المعمول بها

نتائجنا تظهر تجاوزات معايير الهوائية عند 30 درجة مئوية, القولونيات البرازية, وجود مسببات الأمراض مثل المكورات العنقودية الذهبية وعدم وجود المكورات العنقودية. هذه النتائج تشير إلى انعدام النظافة في مزارعنا.

الكلمات المفتاح : بكتريولوجية, الجزائر العاصمة, حليب الطازج, الجودة الميكروبيولوجية.