



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**

Filière : **Biologie**

Option : **Microbiologie appliquée**

Thème

*Etude de la qualité bactériologique du lait
cru de vache*

Présenté par :

Mr Benhocine Abdelwahab

Mr Berdouk Zakarya

Jury de soutenance:

Présidente: M^{me} Naili Oumaima M.C.B Univ. Abbès Laghrour-Khenchela.

Encadreur: M^{me} Hanoun Saida M.C.B Univ. Abbès Laghrour-Khenchela.

Examineur: Mr Bertella Anis M.C.B Univ. Abbès Laghrour-Khenchela.

2020 - 2021

REMERCIEMENTS

Nous rendons grâce à Allah, le Clément, le tout Miséricordieux, pour la chance qui nous a donnée pour poursuivre nos études supérieures, et pour le courage qu'il nous a donné pour mener à bien ce travail. Gloire à Allah.

*Nous exprimons toute notre gratitude et nos vifs remerciements à notre encadreur **Dr. HANOUN Saida, Maître de conférences B (Université Abbés Laghrour-Khenchela)** pour son encadrement sans faille, son soutien moral, sa rigueur au travail, ses multiples conseils, ses orientations et sa disponibilité malgré ses multiples occupations.*

*Nous tenons à remercier sincèrement les membres du jury **Dr. NAILI Oumaima, Maître de conférences B (Université Abbés Laghrour-Khenchela)** pour avoir bien voulu nous faire l'honneur de présider ce travail ;*

*A, **Dr. BERTELLA Anis, Maître de conférences B (Université Abbés Laghrour-Khenchela)** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nos plus vifs remerciements s'adressent également à l'ingénieur Sara du laboratoire 4 et aux élèves des fermes pour leur patience et leurs précieuses aides pendant la réalisation de ce travail.

Nous remercions tous ceux qui nous ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

De la part de **BENHOCINE Abdelwahab**

A mes parents, mon cher père, mon exemple de force, de patience et de défit et ma chère mère qui a souffert sans me laisser souffrir, source de tendresse et de sécurité, que Dieu les protègent pour leur soutien moral pendant tout mon parcours.

A mes frères « Ayyoub » et « Daoued ».

A mon encadreur ; pour ces précieux conseils et son aide durant toute la période du travail

A tous mes amis, on a passé les meilleurs moments ensemble.

Sans oublier mon binôme « Zaki » pour son soutien moral, sa gentillesse et sa compréhension tout au long de ce projet.

De la part de **BERDOUK Zakarya**

A mes parents, pour votre patience et votre soutien au cours de ces longues années, parce que sans vous je ne serais pas là aujourd'hui

A mes amis (M, R, C) pour les bons moments qu'on a vécu ensemble.

A mon encadreur du mémoire pour avoir accepté d'encadrer ce travail, pour sa gentillesse et ses conseils.

A mon binôme Wahab pour sa gentillesse et son esprit d'équipe.

Etude de la qualité bactériologique du lait cru de vache

Résumé

L'objectif de notre travail était d'évaluer la qualité microbiologique du lait cru de vache.

Pour cela, cinq échantillons de lait cru de vache prélevés de cinq vaches de cinq fermes différentes dans la région de la wilaya de Khenchela ont fait l'objet d'une analyse microbiologique.

Les résultats du dénombrement de la FTAM pour les échantillons (E3-E4-E5) ont donné les valeurs (2.10^4 UFC/ml - 10^5 UFC/ml - 3.10^4 UFC/ml) respectivement, alors que pour les échantillons (E1-E2) les résultats étaient ($1,33.10^6$ UFC/ml - 9.10^5 UFC/ml) respectivement.

Nos résultats ont montré aussi l'absence des coliformes fécaux, des streptocoques fécaux, des *Clostridium* sulfito-réducteurs et des salmonelles dans les cinq échantillons analysés. Par ailleurs, on a détecté la présence de *Staphylococcus aureus* dans le deuxième échantillon analysé.

Mots clés : Qualité microbiologique, lait cru de vache, Khenchela.

Study of the bacteriological quality of raw cow's milk

Summary

The aim of our work was to evaluate the microbiological quality of raw cow's milk.

For this, five samples of raw cow's milk taken from five cows from five different farms in the region of the wilaya of Khenchela were subjected to a microbiological analysis.

The results of the TAMF count for the samples (E3-E4-E5) gave the values ($2 \cdot 10^4$ UFC / ml - 10^5 UFC / ml - $3 \cdot 10^4$ UFC / ml) respectively, while for the samples (E1-E2) the results were ($1.33 \cdot 10^6$ UFC / ml - $9 \cdot 10^5$ UFC / ml) respectively.

Our results also showed the absence of fecal coliforms, fecal streptococci, Clostridium sulfite-reducing agents and *Salmonella* in the five samples analyzed. In addition, the presence of *Staphylococcus aureus* in the second sample analyzed.

Keywords : Microbiological quality, raw cow's milk, Khenchela.

دراسة الجودة البكتريولوجية لحليب البقر الطازج

ملخص

كان الهدف من عملنا هو تقييم الجودة الميكروبيولوجية لحليب البقر الطازج. لهذا الغرض، تم إخضاع خمس عينات من حليب البقر الطازج المأخوذة من خمسة أبقار من خمس مزارع مختلفة في منطقة ولاية خنشلة لتحليل ميكروبيولوجي. أعطت نتائج عد FTAM للعينات (E3-E4-E5) القيم (2.10^4 UFC / ml - 10^5 UFC / ml - 3.10^4 UFC / ml) على التوالي ، بينما بالنسبة للعينات (E1-E2) كانت النتائج ($1.33.10^6$ UFC / ml - 9.10^5 UFC / ml) على التوالي. أظهرت نتائجنا أيضًا عدم وجود *streptocoques fécaux*، *coliformes fécaux* ، *Salmonelles* و *Clostridium sulfito-réducteurs* في العينات الخمس التي تم تحليلها. بالإضافة إلى ذلك وجود *Staphylococcus aureus* في العينة الثانية التي تم تحليلها. **الكلمات المفتاحية:** الجودة الميكروبيولوجية، حليب البقر الطازج، خنشلة.

Table des matières

Table des matières

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

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur le lait

I.1. Définitions du lait	3
I.2. Les différents composants du lait	3
I.2.1. L'eau	4
I.2.2. Les lipides	4
I.2.3. Les protéines	4
I.2.4. Les glucides	7
I.2.5. Les minéraux	7
I.2.6. Les vitamines	8
I.2.7. Les enzymes	9
I.3. Les caractères physico-chimiques	10
I.3.1. Aspect macroscopique	10
I.3.2. pH du lait	10
I.3.3. L'acidité titrable du lait	10
I.3.4. Masse volumique et densité	10
I.3.5. Point de congélation ou point cryoscopique	11
I.3.6. Point de l'ébullition	11
I.4. Facteurs de variation de la composition du lait	13

Chapitre II: Microbiologie du lait

II.1. Origine de la flore du lait	14
II.1.1. Microorganismes d'origine mammaire	14
II.1.2. Contamination du lait à l'extérieure de la mamelle	15
II.2. La composition microbiologique du lait	16
II.2.1. Les bactéries	16
II.2.1.1. La flore saprophyte	17
II.2.1.1.1. Les bactéries lactiques	17
II.2.1.1.2. La flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	18
II.2.1.2. Les germes indicateurs de contamination fécale	18
II.2.1.2.1. Les coliformes	18
II.2.1.2.2. Les streptocoques fécaux	19
II.2.1.3. La flore psychrotrophe	19
II.2.1.4. La flore pathogène	20
II.2.1.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
II.2.1.4.2. Les salmonelles	21
II.2.1.4.3. <i>Escherichia coli</i>	22
II.2.1.4.4. Les brucelles	23
II.2.1.4.5. Les bacilles tuberculeux	24
II.2.2. Les levures et les moisissures	25
II.2.2.1. Les levures	25
II.2.2.2. Les moisissures	26
II.2.3. Les parasites.....	26

II.2.4. Les virus	27
-------------------------	----

PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Prélèvements	29
I.2. Analyses microbiologiques	33
I.2.1. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile	33
I.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes en milieu liquide	34
I.2.2.1. Test présomptif	34
I.2.2.2. Test confirmatif	35
I.2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	35
I.2.3.1. Test présomptif	35
I.2.3.2. Test confirmatif	35
I.2.4. Recherche et dénombrement des spores des clostridium sulfite-réducteurs.	36
I.2.5. Recherche des salmonelles	36
I.2.5.1. Pré-enrichissement non sélectif	36
I.2.5.2. Enrichissement sélectif	37
I.2.5.3. Isolement	37
I.2.5.4. Identification	37
I.2.6. Recherche des staphylocoques dorés	37
I.2.6.1. Coloration de GRAM	37
I.2.6.2. Recherche de la catalase	38
I.2.6.3. Identification par la galerie api Staph	39

II. RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Résultats	42
II.1.1. La flore microbienne de lait cru de la vache	42
II.1.1.1. La flore totale aérobie mésophile.....	42
II.1.1.2. Les coliformes	43
II.1.1.2.1. Les coliformes totaux	43
II.1.1.2.2. Les coliformes fécaux ou thermotolérants	45
II.1.1.3. Les streptocoques fécaux	45
II.1.1.3.1. Résultats du test présomptif	45
II.1.1.3.2. Résultats du test confirmatif	48
II.1.1.4. Les clostridium sulfito-réducteurs	49
II.1.1.5. Les salmonelles	50
II.1.1.6. Les staphylocoques	51
II.1.1.6.1. Etude macroscopique et microscopique de la souche	51
II.1.1.6.2. Résultat du test de catalase	53
II.1.1.6.3. Résultat de l'identification par la galerie api-Staph	53
II.2. Discussion	55
II.2.1. La flore totale aérobie mésophile	55
II.2.2. Les coliformes	56
II.2.2.1. Les coliformes totaux	56
II.2.2.2. Les coliformes fécaux	57
II.2.3. Les streptocoques fécaux	58
II.2.4. Les clostridium sulfito-réducteurs	59

II.2.5. Les salmonelles	60
II.2.6. <i>Staphylococcus aureus</i>	61
Conclusion	63

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition en acides gras du lait (Bauraind et <i>al.</i> , 2014).....	4
Tableau 2 : Composition moyenne et distribution des protéines du lait de vache (FAO, 1995).....	5
Tableau 3: La composition qualitative en protéines solubles du lait de vache et du lait maternel (Courtet -Leymarios, 2010).....	6
Tableau 4 : Constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/L) (FAO, 1998).....	8
Tableau 5 : Apport en vitamines et sels minéraux d'un bol de lait (250 ml) en regard des recommandations nutritionnelles (Bauraind et <i>al.</i> , 2014).....	9
Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache (FAO, 1995).....	12
Tableau 7 : Importance relative des contaminations du lait (Weber, 1985).....	16
Tableau 8 : les caractéristiques des différentes souches d' <i>Escherichia coli</i> (Bauraind et <i>al.</i> , 2014).....	23
Tableau 9 : Réservoir des espèces de <i>Brucella</i> et leur pathogénicité pour l'homme (Brisabois et <i>al.</i> , 1997).....	24
Tableau 10 : Répartition des échantillons en fonction des 5 exploitations bovines.....	29
Tableau 11 : Dénombrement de la FTAM des différents échantillons de lait cru de vaches analysés.....	42
Tableau 12 : Résultats de dénombrement des coliformes totaux pour les cinq échantillons collectés.....	43
Tableau 13 : Résultats de dénombrement des coliformes totaux pour le premier échantillon.....	44
Tableau 14 : Résultats du test présomptif pour les cinq échantillons collectés.....	46
Tableau 15 : Résultats du test présomptif pour le premier échantillon.....	46

Tableau 16 : Résultats du test présomptif pour le deuxième échantillon.....	47
Tableau 17 : Résultats de la recherche des clostridiums sulfito-réducteurs pour les cinq échantillons.....	49
Tableau 18 : Résultats de l'étude macroscopique et microscopique de la souche	52
Tableau 19 : Résultat de l'identification de l'espèce <i>Staphylococcus aureus</i> par la galerie api-Staph.....	54

Liste des figures

Figure 1 : Composition chimique du lait de différentes espèces (autres constituants que l'eau) (Bauraind et <i>al.</i> , 2014)	3
Figure 2 : Représentation schématique de la micelle de caséine (Bauraind et <i>al.</i> , 2014)	6
Figure 3 : Exploitation de GUESSOUM Hlel.....	30
Figure 4 : Exploitation de BOUHLALA Nourelyamine.....	31
Figure 5 : Exploitation de NAILI Ahmed.....	32
Figure 6 : Exploitation de DJAAFRI Abdelhamid.....	32
Figure 7 : Préparation des dilutions décimales.....	33
Figure 8 : L'aspect des bactéries après la coloration de GRAM (Konig, 2015).....	38
Figure 9 : Test de catalase (Collège Saint André Colmar, 2021).....	39
Figure 10 : Exemple de galerie api Staph (Jafar, 2015)	41
Figure 11 : Résultat de la présence des germes de la FTAM dans les laits étudiés.....	43
Figure 12 : Exemple de résultats positifs (A) et négatifs (B) sur bouillon BLBVB.....	44
Figure 13 : Résultats négatifs sur bouillon eau peptonée exempte d'indole après l'adjonction du réactif (kovacs).....	45
Figure 14 : Exemple de résultats positifs (A et C) et résultat négatif (B) sur bouillon Rothe D/C.....	47
Figure 15 : Exemple de résultats négatifs sur bouillon Rothe S/C.....	48
Figure 16 : Exemple de résultats négatifs sur bouillon Eva-litsky (absence de pastille blanchâtre ou violette).....	48
Figure 17 : Résultats négatifs pour la recherche des clostridiums sulfite-réducteurs sur gélose viande-foie.....	49
Figure 18 : Pré-enrichissement non sélectif sur le bouillon Eau peptonée.....	50

Figure 19 : Enrichissement sélectif sur le bouillon Sélénite-Cystéine.....	50
Figure 20 : Résultat négatif pour la recherche des salmonelles sur la gélose SS.....	50
Figure 21 : Résultats négatif (à droite) et positif (à gauche) pour la recherche staphylocoques sur gélose Chapman.....	51
Figure 22 : test de catalase positif.....	53
Figure 23 : la galerie biochimique de l'espèce de staphylococcus aureus identifiée.....	53
Figure 24 : Résultats de dénombrement de la FTAM dans le lait cru de vache.....	56
Figure 25 : Résultats de dénombrement des Coliformes totaux dans le lait cru de vache.....	57
Figure 26 : Résultats de dénombrement des Coliformes fécaux dans le lait cru de vache.....	58
Figure 27 : Résultats de dénombrement des Streptocoques fécaux dans le lait cru de vache.....	59
Figure 28 : Résultats de dénombrement des Clostridium sulfite-réducteurs dans le lait cru de vache.....	60
Figure 29 : Résultats de la recherche des Salmonelles dans le lait cru de vache.....	61
Figure 30 : Résultats de la recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le lait cru de vache.....	62

Liste des abréviations

- **FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **pH** : Potentiel d'hydrogène
- **SCN-** : Thiocyanate
- **°D** : Degré Dornic
- **kcal/litre** : Kilocalories par litre
- **MJ/litre** : Mégajoule par litre
- **FTAM** : Flore Totale Aérobie Mésophile
- **UHT** : Ultra High Temperature
- **HTST** : High Temperature, Short Time
- **EPEC** : *Escherichia coli* Entéro-Pathogène
- **EIEC** : *Escherichia coli* Entéro-Invasif
- **ETEC** : *Escherichia coli* Entéro-Toxinogène
- **EHEC** : *Escherichia coli* Entéro-Hémorragique
- **GLU** : D-Glucose
- **FRU** : D-Fructose
- **MNE** : D-Mannose
- **MAL** : Maltose
- **LAC** : Lactose
- **TRE** : D-Trehalose
- **MAN** : D-Mannitol
- **XLT** : Xylitol
- **MEL** : D-Melibiose
- **NIT** : Réduction des Nitrates en nitrites
- **PAL** : Phosphatase Alcaline
- **VP** : Voges Proskauer
- **RAF** : Raffinose
- **XYL** : Xylose
- **SAC** : Saccharose

- **MDG** : Méthyl- α D-Glucopyranoside
- **NAG** : N-Acétyle-Glucosamine
- **ADH** : Arginine DiHydrolase
- **URE** : Uréase
- **PCA** : Plate Count Agar
- **SS** : *Salmonella-Shigella*
- **VF** : Viande Foie
- **BLBVB** : Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant
- **Rothe S/C** : Rothe Simple Concentration
- **Rothe D/C** : Rothe Double Concentration
- **NPP** : Nombre Le Plus Probable
- **UFC/ml** : Unité Formant Colonie par millilitre
- **E** : Echantillon
- **JORA** : Journal Officiel De La République Algérienne

INTRODUCTION

Introduction

Le lait est une denrée ancienne utilisée par l'homme depuis la préhistoire, il constitue un aliment de choix dans tous les pays du monde grâce à sa haute valeur nutritionnelle due à sa composition complexe (des protéines, des sucres, des lipides, des minéraux et des vitamines). Sa consommation est aussi encouragée notamment pour son apport en calcium (Galantier et Bernard, 2005 ; Alais et *al.*, 2003).

En Algérie, le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de chacun, quel que soit son revenu. Ainsi, en 1990, on estime que le lait a compté pour 65,5 % dans la consommation de protéines d'origine animale, devançant largement la viande (22,4 %) et les œufs (12,1 %) (Amellal, 1995).

Cependant, le lait est un substrat instable. Il constitue un milieu de culture favorable à la prolifération d'une flore microbienne variée, qui peut altérer sa qualité organoleptique par la sécrétion de différentes enzymes protéolytiques susceptibles de provoquer des modifications des constituants du lait. Toutefois, certaines enzymes peuvent provoquer une protéolyse incontrôlée des constituants du lait lors de son stockage à basse température, et entraîner l'apparition de défauts dans certains produits laitiers. Ces protéases peuvent provenir de différentes sources. Certaines sont présentes dans le lait dès la sécrétion. Parmi ces protéases, la plasmine est le composant majoritaire. De nombreux travaux ont montré que cette dernière provient du sang et migre dans le lait via la glande mammaire (Kaminogawa et *al.*, 1972; Tomich et *al.*, 1976; Eigel et *al.*, 1979; Reimerdes et *al.*, 1981).

Par ailleurs, la contamination du lait cru par des germes pathogènes peut constituer un risque sur la santé du consommateur. Parmi ces bactéries qui peuvent se trouver dans le lait, on peut citer : les mycobactéries, *Brucella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, les entérobactéries, parmi lesquelles *Escherichia coli* productrice de toxines et *Salmonella*. (Brisabois et *al.*, 1997). Afin d'éviter ces risques, Il est nécessaire d'instaurer un contrôle rigoureux de la qualité bactériologique du lait avant d'être consommé pour s'assurer de sa qualité microbiologique.

INTRODUCTION

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude, qui a pour objectif d'évaluer et de contrôler la qualité microbiologique de cinq échantillons de lait cru de vache collectés de cinq vaches de cinq fermes différentes de la wilaya de Khenchela.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Généralités sur le lait

I.1. Définitions du lait

D'après le premier congrès international pour la répression des fraudes, tenu à Genève en 1908, « le lait est 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. » (Tapernoux, 1937).

Le *Codex Alimentarius* en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

I.2. Les différents composants du lait

Le lait contient des nutriments essentiels et il constitue une source importante d'énergie alimentaire, de protéines de haute qualité et de matières grasses. Il peut apporter une contribution significative aux besoins nutritionnels recommandés en calcium, magnésium, sélénium, riboflavine, vitamine B12 et acide pantothénique (Figure 1).

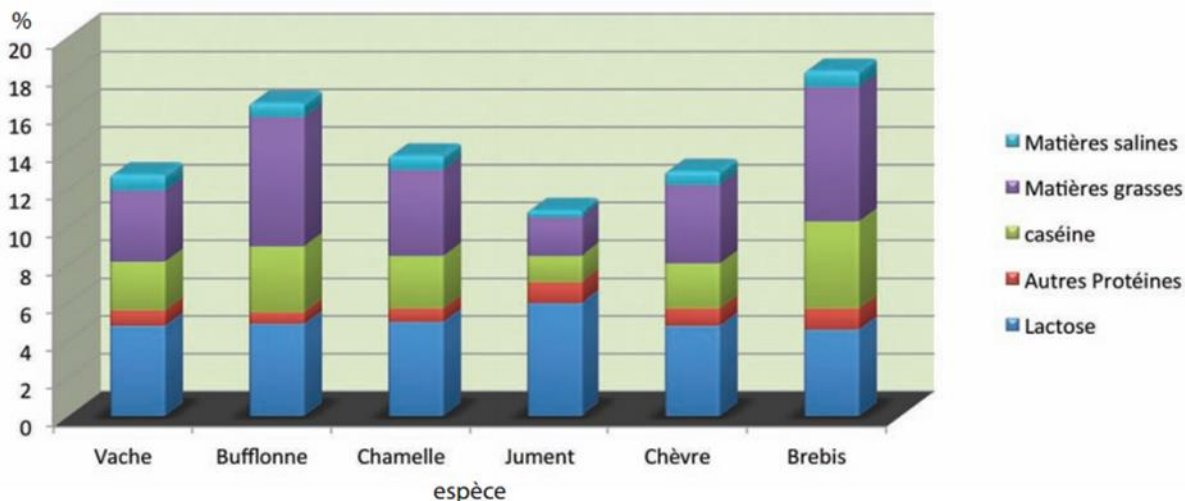


Figure 1 : Composition chimique du lait de différentes espèces (autres constituants que l'eau)
(Bauraind et *al.*, 2014)

Le lait et les produits laitiers sont des aliments nutritifs et leur consommation permet de diversifier les régimes à base de plantes. Le lait d'origine animale peut jouer un rôle important

dans l'alimentation des enfants dans les populations ne bénéficiant que d'un très faible apport en lipides et ayant un accès limité aux autres aliments d'origine animale (FAO, 2021).

I.2.1. L'eau

La proportion d'eau dans le lait varie entre 81,7% et 89,1% en fonction de l'espèce animale (Bauraind et *al.*, 2014).

I.2.2. Les lipides

Les lipides du lait sont représentés à 98,3 % par divers triglycérides (constitués de 3 acides gras + glycérol). Le reste de la fraction lipidique contient des mono ou diglycérides, des acides gras libres, des phospholipides, du cholestérol, des sphingomyélines, des cérébrosides, des gangliosides, caroténoïdes et vitamines liposolubles. Les deux tiers des acides gras sont des acides gras saturés. L'acide oléique monoinsaturé constitue 20% de la fraction lipidique et les acides gras polyinsaturés 5% (Tableau 1) (Bauraind et *al.*, 2014).

Tableau 1: Composition en acides gras du lait (Bauraind et *al.*, 2014)

ACIDES GRAS	FRACTION (%)
Acide myristique C14	11
Acide palmitique C16	26
Acide stéarique C18	10
Acide oléique C18:1 (monoinsaturé)	20
Acides gras à courtes chaînes (butyrique C4, caproïque C6, caprylique C8, caprique C10)	11
Autres	22

I.2.3. Les protéines

- Les protéines représentent 95 % environ des matières azotées et sont constituées soit d'acides aminés seulement (β -lactoglobuline, α lactalbumine), soit d'acides aminés et d'acide phosphorique (caséines α et β) avec parfois encore une partie glucidique (caséine

K). Une vingtaine d'acides aminés interviennent dans la composition de ces protéines (Tableau 2).

Tableau 2 : Composition moyenne et distribution des protéines du lait de vache (FAO, 1995).

Protéines	Moyennes absolues (g/litres)	Moyennes relatives (%)
Protides totaux ou matières azotées totales	34	100
Protéines	32	94
Protéines non solubles ou caséine entière	26	82
Caséine α	12,0	46
Caséine β	9,0	35
Caséine κ	35	13
Caséine γ	15	6
Protéines solubles	6	18
α -lactoglobuline	2,7	45
β -lactalbume	15	25
Sérum-albumine	0,3	5
Globulines immunes	0,7	12
Protéoses peptones	0,8	13
Substances azotées non protéiques	2	6

- La caséine entière (groupe protéique qui précipite à pH 4,6 à 20°C) représente environ 80 % des protéines totales du lait de vache (contre 30 % dans le lait humain). Les caséines sont des polypeptides phosphorés associés surtout à des constituants minéraux, en particulier le calcium, mais aussi le phosphate, le magnésium et le citrate, de manière à former des micelles de phosphocaséinate de calcium (Figure 2) (FAO, 1995).

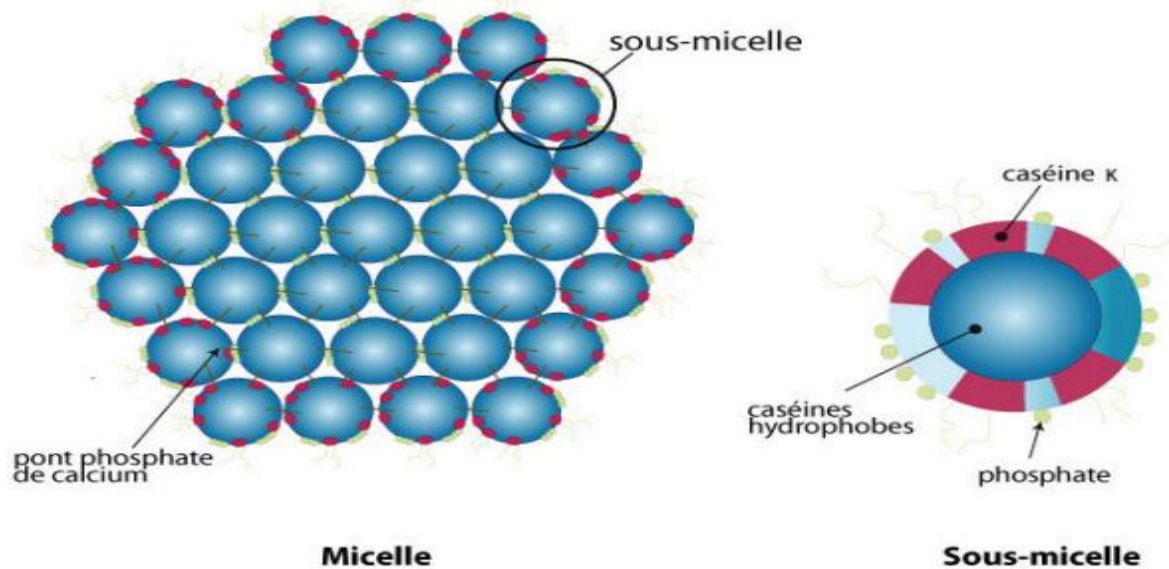


Figure 2 : Représentation schématique de la micelle de caséine (Bauraind et *al.*,2014).

- Les principales protéines du sérum sont la bêta-lactoglobuline et l'alpha-lactalbumine. Les autres protéines du sérum sont les immunoglobulines, le sérum albumine bovine et la lactoferrine (Tableau 3) (Ciriha, 2021).

Tableau 3 : Composition qualitative en protéines solubles du lait de vache et du lait maternel (Courtet-Leymarios, 2010).

Protéines solubles	Concentration en g/l	
	Lait maternel	Lait de vache
α -lactalbumine	3,6	2,7
β -lactalbumine	Traces	1,5
Lactoferrine	1,5	Traces
Lysozyme	3,0	Traces
Albumine sérique	0,5	0,3

I.2.4. Les glucides

Les sucres du lait sont constitués en majorité de lactose (48g/l dans le lait de vache) (Bauraind et *al.*, 2014). Il est synthétisé par la glande mammaire au départ du glucose prélevé dans le sang. Le lactose joue un rôle nutritionnel et intervient également comme élément de fermentescibilité (FAO, 1995). Il est transformé par les bactéries lactiques en acide lactique qui, en acidifiant le lait, va entraîner une dénaturation de la caséine et la formation du caillé du fromage (Bauraind et *al.*, 2014). La saveur sucrée du lactose est faible ; lorsqu'on impute au saccharose une valeur arbitraire de 100 %, celle du lactose atteint environ le tiers (de 27 à 39 %). Le lait contient une cinquantaine d'oligosaccharides bien répertoriés présents à l'état libre, mais en quantités souvent négligeables (0,1 g/litre) (FAO, 1995).

I.2.5. Les minéraux

Les minéraux (ou matières salines) sont présents dans le lait à hauteur de 7g/litre environ. Les plus représentés en quantité sont le calcium, le phosphore, le potassium et le chlore.

On retrouve ces matières salines soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Les autres (calcium, phosphore, magnésium et soufre) existent dans les deux fractions.

Dans la fraction soluble, ils existent en partie sous forme libre (calcium et magnésium ionisés), en partie sous forme saline (phosphates et citrates) non dissociée (calcium et magnésium), ou encore sous forme complexe (esters phosphoriques et phospholipides). Dans la fraction colloïdale, les minéraux (calcium, phosphore, soufre et magnésium) sont associés ou liés à la caséine au sein des micelles (Tableau 4) (Courtet-Leymarios, 2010).

Tableau 4 : Constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/L) (FAO, 1998)

Minéraux: totaux (g/l)	7
Calcium (g)	1,25
Phosphore (g)	1,00
Magnésium (g)	0,12
Sodium (g)	0,50
Potassium (g)	1,25
Chlore (g)	1,00
Autres (soufre, citrate...)	1,8

I.2.6. Les vitamines

Toutes les vitamines connues sont présentes dans le lait de vache. Les techniques de traitement du lait peuvent modifier sensiblement les taux, surtout pour la vitamine C (Tableau 5) (Courtet-Leymarios, 2010).

Tableau 5 : Apport en vitamines et sels minéraux d'un bol de lait (250 ml) en regard des recommandations nutritionnelles (Bauraind et *al.*, 2014).

VITAMINES/SEL MINERAUX	VALEUR NUTRITIONNELLE DE REFERENCE (VNR)
Vitamine A	800 µg
Vitamine D	5 µg
Vitamine E	12 mg
Vitamine K	75 µg
Vitamine C	80 mg
Thiamine B1	1,1 mg
Riboflavine B2	1,4 mg
Niacine PP	16 mg
Vitamine B6	1,4 mg
Acide folique B9	200 µg
Vitamine B12	2,5 µg
Biotine B7	50 µg
Acide pantothénique B5	6 mg

I.2.7. Les enzymes

Le lait cru contient deux types d'enzymes : les enzymes présentes dans le lait et celles liées à la flore microbienne du lait. En tout, on dénombre une vingtaine d'enzymes qui ont des fonctions diverses : hydrolases, catalase, oxydase, lactoperoxydase... (Bauraind et *al.*, 2014).

Certaines sont des facteurs de dégradation (utiles ou nuisibles), comme les protéases qui facilitent l'hydrolyse de la caséine et les lipases, facteurs de rancissement. D'autres possèdent une activité bactéricide ou bactériostatique. La lactoperoxydase, l'enzyme la plus abondante du lait de vache, agit contre les bactéries en présence de H₂O₂ et de thiocyanate (SCN⁻) lorsque ces substances sont présentes en concentrations suffisantes. Ce système protège aussi les muqueuses de l'animal

contre les radicaux libres. Les taux de thiocyanate du lait de vache semblent sans danger pour la fonction thyroïdienne (FAO, 1995).

L'activité biologique de plusieurs peptides a été identifiée. Ils présentent des pouvoirs hypotenseurs, une activité antithrombotique, des propriétés immunoprotectrices, de régulation du système nerveux, anticancérigènes, de contrôle de l'obésité (Bauraind et *al.*, 2014).

I.3. Les caractères physico-chimiques

I.3.1. Aspect macroscopique

Le lait apparaît comme un liquide opaque blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β -carotènes de la matière grasse. Il a une odeur peu marquée mais reconnaissable (Cudec, 2017).

I.3.2. pH du lait

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. A la traite, le pH du lait est compris entre 6,6 et 6,8 et reste longtemps à ce niveau. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH. Un lait alcalin est un lait pathogénique (lait de mammite) (Andrianantenaina, 2019).

I.3.3. L'acidité titrable du lait

Exprimée en degré DORNIC, elle correspond à une quantité d'acide lactique que l'on neutraliserait avec de la soude N/9 en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré, de telle sorte qu'1°D équivaldrait à 0,1 g d'acide lactique par litre de lait. Un tel dosage ne renseigne pas sur la quantité d'acide lactique dans le lait mais sur son acidité globale qui repose sur l'ensemble de ses constituants acides et sur sa teneur en matière sèche. L'acidité titrable est soumise à la norme NF-V04-206 de janvier 1969. Elle doit être comprise entre 15 et 18°D (Cazet, 2007).

I.3.4. Masse volumique et densité

Selon Pointurier (2003), la masse volumique d'un liquide est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de ce liquide divisée par son volume. Elle est habituellement notée ρ et

s'exprime en Kg.m^{-3} dans le système métrique. Comme la masse volumique dépend étroitement de la température, il est nécessaire de préciser à quelle température (T) elle est déterminée.

La masse volumique du lait entier à 20°C est en moyenne de 1030 Kg.m^{-3} .

La densité d'un liquide est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume d'eau.

Comme la masse volumique de l'eau à 4°C est pratiquement égale à 1000 Kg.m^{-3} , la densité du lait à 20°C par rapport à l'eau à 4°C est d'environ 1.030 (d_{20/4}) (Andrianantenaina, 2019).

I.3.5. Point de congélation ou point cryoscopique

Il est de $-0,5550^{\circ}\text{C}$ avec des variations normales entre $-0,530$ et $-0,5750^{\circ}\text{C}$ en fonction du climat.

Le mouillage rapproche le point de congélation de 0°C , l'écémage ne modifie pas le point de congélation. Cependant, l'acidification lactique et l'addition de sels solubles l'abaissent (Aliais, 1984).

I.3.6. Point de l'ébullition

L'ébullition propre du lait a lieu à 100°C ; cependant, lorsqu'on porte le lait sur le feu, à une température voisine de 80 à 90°C , il y a une montée du lait, c'est-à-dire formation d'une membrane protéinocalcaire ou peau du lait (frangipane) qui gêne l'ébullition du lait (Boivert, 1980). Pour bouillir le lait, il faut donc éliminer cette peau de lait. Le test à l'ébullition permet d'anticiper le comportement du lait à la stérilisation.

Les principales caractéristiques physico-chimiques du lait de vache sont représentées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache (FAO, 1995)

Constants	Moyennes	Valeurs extrêmes
Energie		
(kcal/litre)	701	587-876
(MJ/litre)	2930	2454-3662
Densité du lait entier à 20°C	1,031	1,028-1,033
Densité du lait écrémé	-	1,036
Densité de la matière grasse	-	0,94-0,96
PH à 20°C	6,6	6,6-6,8
Acidité titrable (°Dornic)	16	15-17
Point de congélation (°C)	-	-0,520-0,550
Chaleur spécifique du lait entier à 15°C	0,940	-
Chaleur spécifique du lait écrémé à 15°C	0,945	-
Tension superficielle du lait entier à 15°C (dynes/cm)	50	47-53
Tension superficielle du lait écrémé à 15°C (dynes/cm)	55	52-57
Viscosité du lait entier à 20°C (centipoises)	2,2	-
Viscosité du lait entier à 25°C (centipoises)	1,8	1,6-2,1
Viscosité du lait écrémé à 20°C (centipoises)	1,9	-
Conductivité électrique à 25°C (siemens) b	45×10^{-4}	$40 - 50 \times 10^{-4}$
Point d'ébullition (°C)	-	100,17 – 100,15
Potentiel d'oxydoréduction	0,25 V	+0,20 - +30
Point de fusion des graisses (°C)	36	26-42

I.4. Facteurs de variation de la composition du lait

La composition chimique du lait est susceptible de subir certaines modifications à l'échelle de l'animal. Les principaux facteurs de variation sont :

- Soit directement liés à l'animal : il s'agit des facteurs génétiques (ex : race), du stade de lactation (ex : baisse du taux protéique au pic de lactation par effet de « dilution ») et de l'état sanitaire des animaux (ex : mammite).
- Soit indirectement liés à l'animal, c'est à dire conditionnés par le milieu et la conduite d'élevage : ce sont la saison, le climat et l'alimentation.

Ces variations interviennent au niveau individuel mais aussi à l'échelle du lait de mélange (Pougheon, 2001).

Chapitre II

Microbiologie du lait

II.1. Origine de la flore du lait

Le lait cru contient une flore microbienne diversifiée. Pourtant, chez un animal sain, le lait ne contient pas de micro-organismes lorsqu'il est produit dans le pis (en sortie directe des cellules sécrétrices des glandes mammaires). La colonisation par la flore microbienne commence donc après la sécrétion du lait dans le pis (à partir des trayons).

Au moment de la traite, trois sources possibles de contamination du lait cru peuvent être distinguées : à l'intérieur du pis, à l'extérieur du pis et via le matériel qui entre en contact avec le lait (Murphy et Boor, 2010).

La flore du lait provient de l'environnement de traite et de l'animal lui-même. La composition de la flore est susceptible de varier à chaque traite et à chaque lieu de traite (Desmaures et *al.*, 1997 ; Michel et *al.*, 2001).

La diversité microbienne a été étudiée, plus de 100 espèces microbiennes ont été inventoriées dans le lait cru parmi lesquelles on retrouve des bactéries, des levures et des moisissures (Mallet et *al.*, 2012)

II.1.1. Microorganismes d'origine mammaire

A la sortie de la mamelle, même lorsque celle-ci est saine et que la traite est effectuée dans des conditions rigoureuses d'hygiène, le lait contient habituellement une centaine à quelques milliers de bactéries par ml.

Il s'agit de germes banaux appartenant le plus souvent aux genres *Corynebacterium* et *Micrococcus* et parfois de germes pathogènes. Ils proviennent du milieu extérieur d'où ils pénètrent dans la mamelle par le canal du trayon. Ils sont entraînés avec le lait au moment de la mulsion.

A cette contamination par voie ascendante peut s'ajouter une contamination par voie endogène. Elle est constituée par des germes pathogènes infectant l'animal. Ils parviennent dans la mamelle par la circulation sanguine. C'est, par exemple, le cas pour les agents de la brucellose et de la tuberculose (Weber, 1985).

II.1.2. Contamination du lait à l'extérieur de la mamelle

La Contamination exogène est en général massive par rapport à la contamination d'origine mammaire. Elle est extrêmement variable en importance selon les conditions de production et de conservation du lait. Les principales sources de contamination sont :

- **L'ambiance.** Ainsi, **l'atmosphère des étables** est souvent chargée de germes provenant des excréments, de la paille et des aliments. Ces germes sont véhiculés sous forme de poussière qui se dépose peu à peu (Frevel, 1985).
- **L'état de l'animal :** Les saletés se trouvant dans le lait proviennent le plus souvent de la chute, au moment de la traite, de particules d'excréments, de terre, de végétaux ou de litière, attachées à la peau de l'animal et aussi des poils et des cellules épithéliales. (Boubezari, 2010)
- **L'état d'hygiène du trayeur :** le trayeur malpropre et vêtu d'habits poussiéreux et sales est une cause supplémentaire de pollution dont la nature est semblable aux précédentes. La présence de germes pathogènes d'origine humaine a été souvent mise en évidence dans le lait (Boubezari, 2010).
- **Les ustensiles et les machines** sont habituellement la source de contamination la plus importante. Ce sont des milliards de germes qui peuvent exister sur les parois d'ustensiles laitiers mal lavés et mal séchés. La machine à traire mal nettoyée est certainement une source de contamination d'une importance considérable (Heuchel et Marly, 2001).
- **La qualité de l'eau :** les eaux impures servant au rinçage des récipients et des machines peuvent être la cause de contaminations très gênantes, surtout pour la crème et le beurre (Dumoulin et Peretz, 1993).

Le tableau 7 montre la relation entre la source de contamination et le nombre relatif de bactéries.

Tableau 7 : Importance relative des contaminations du lait (Weber, 1985)

Source de contamination	Nombre relatif de bactéries
Intérieur de la mamelle	1 à 5
Animal (mamelle surtout)	20 à 200
Etable	1 à 10
Matériel de traite manuelle	50 à 500
Matériel de traite mécanique	1000 à 10000

II.2. La composition microbiologique du lait

II.2.1. Les bactéries

Elles prédominent parmi les micro-organismes rencontrés dans le lait. Les cellules bactériennes sont de très petite taille (généralement au plus quelques millièmes de millimètre, soit quelques micromètres ou μm). Les formes les plus courantes sont des cellules sphériques (coques) ou des bâtonnets (bacilles), plus ou moins réguliers ou incurvés. Placées dans des conditions d'environnement défavorables, certaines bactéries sont capables de donner naissance à des structures très résistantes, les spores, qui vont leur permettre de survivre pendant des durées qui peuvent être extrêmement longues. C'est le cas par exemple des « butyriques » (*Clostridium tyrobutyricum*).

Un des premiers moyens d'étude et de classification des bactéries est l'examen en microscopie optique. La coloration de Gram - de loin la plus courante - permet d'apprécier la forme des cellules et de différencier, selon la structure de la paroi, les bactéries à Gram positif des bactéries à Gram négatif. Complétée par la recherche de quelques grandes propriétés (catalase, oxydase), cette différenciation est très utile pour diagnostiquer l'appartenance de bactéries à une famille (*Streptococcaceae*, *Enterobacteriaceae*...) (Desmaures et Beuvier, 2011).

II.2.1.1. La flore saprophyte

Elles peuvent avoir un intérêt technologique comme les bactéries lactiques ou être une flore d'altération qui est représentée par l'ensemble des micro-organismes qui sont capables de dégrader le lactose, les protéines et les lipides du lait cru. Ce qui entraîne l'apparition de défauts de goût, d'arômes et de texture (Vignola, 2002).

II.2.1.1.1. Les bactéries lactiques

Le groupe des bactéries lactiques a été défini par Orla-Jensen (1919) comme un groupe hétérogène qui réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme fermentaire. Selon le type de fermentation préférentiellement utilisé, les bactéries lactiques sont dites :

- **Homofermentaires** : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose.
- **Hétérofermentaires facultatif** : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique ou de l'acide lactique et de l'acide acétique.
- **Hétérofermentaires strict** : elles produisent, en plus de l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂ (Novel, 1993).

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène des microorganismes (Labioui et *al.*, 2005), ce sont des cellules vivantes, autonomes et procaryotes, sont des bactéries à Gram+, anaérobies partiellement tolérantes à l'oxygène, ne produisant pas en général des spores, se présentant sous formes de coques ou de bâtonnets (Larpen, 1990) et ayant pour principale fonction de fermenter les sucres en acide lactique (Ait Belghanaoui, 2006).

Elles ne possèdent ni catalase, ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase. En plus de ça, ne liquéfient pas la gélatine, ne produisent pas d'indole ni d'hydrogène sulfureux (Delaglio et *al.*, 1994).

Pour se développer, elles ont besoin de sources de carbone organique (glucides fermentescibles) et de nombreuses bactéries lactiques ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés ou les peptides, les vitamines et les acides gras (Prescott et *al.*, 1999).

II.2.1.1.2. La flore totale aérobie mésophile (FTAM)

La flore totale aérobie mésophile est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banaux de contamination. Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du lait cru et permet de suivre son évolution au cours de sa transformation. Ainsi le nombre de germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition du lait (Guiraud et Rosec, 2004).

Des valeurs élevées n'indiquent pas nécessairement la présence de pathogènes, aussi des valeurs basses peuvent accompagner la présence de pathogènes à des niveaux dangereux (Sutra et *al.*, 1998).

Cependant, la seule mesure des germes totaux ne suffit pas à bien évaluer les risques liés à ces groupes microbiens qu'il convient, alors, de dénombrer pour améliorer le diagnostic (Institut de l'élevage, 2009).

II.2.1.2. Les germes indicateurs de contamination fécale

II.2.1.2.1. Les coliformes

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

Il s'agit d'un groupe disparate non défini sur le plan taxonomique qui comprend les genres *Escherichia* (avec espèces *coli*, *intermedium*, *freudii*), *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Cuq, 2007).

Leur développement est freiné par l'abaissement du pH et leur croissance stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. Ils sont peu résistants à la chaleur (Le Minor et Richard, 1993).

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

- **les non fécaux** dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés à 30°C.
- **les fécaux** dont l'origine essentielle est le tube digestif, qui sont plus thermotolérants (détectés à 44°C). *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe.

Dans le domaine de la microbiologie des denrées alimentaires, *E. coli* sert en général d'indicateur de contaminations fécales : elle se développe à une température de 44°C, et produit de l'indole. (Jakob et al., 2009).

II.2.1.2.2. Les streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux (streptocoques du groupe D) sont des commensaux de l'intestin. *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain (Clausen et al., 1977 ; Gleeson et Gray, 1997). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains (Olivieri, 1982).

Quant aux streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer le lait, ils sont plutôt typiques des déjections animales, comme *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *S. gallolyticus* et *S. alactolyticus* (Clausen et al., 1977 ; Farrow et al., 1984 ; Bitton., 1999). Leur détection témoigne, généralement d'une pollution fécale ancienne (Clausen et al., 1977).

De toutes les bactéries non sporogènes, ces germes sont parmi ceux qui résistent le mieux à des conditions de milieu défavorables. Ils résistent mieux que les coliformes et *E. coli* à la réfrigération, à la congélation, au chauffage, à la salaison et à la dessiccation. Toutefois, ces germes sont moins souvent associés aux germes pathogènes que les coliformes fécaux (Cuq, 2007).

II.2.1.3. La flore psychrotrophe

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. Ils ne constituent pas un groupe taxonomique à part, mais, présentent quelques caractères en commun : aérobies, Gram négatif, non sporulés (Mocquot et Auclair, 1967 ; Thomas, 1973).

Parmi les micro-organismes qui composent ce groupe, nous pouvons citer :

- Gram (-) : *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Serratia*, etc ...
- Gram (+) : *Micrococcus*, *Corynebacterium*, etc ... (Dieng, 2001)

Les bactéries lactiques sont largement représentées au sein du groupe des psychrotrophes. Les lactobacilles présentent une activité jusqu'à une température de +2°C (Bornert, 2000).

Lors de leur développement dans le lait et les produits laitiers, les bactéries psychrotrophes peuvent produire des lipases et protéases extracellulaires, généralement thermostables. Ces enzymes peuvent provoquer des défauts de goût dans les fromages (goût de rance, amertume) ou être responsables (protéases) de la déstabilisation des laits UHT (Beuvier et Feutry, 2009).

II.2.1.4. La flore pathogène

La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, et elle fait, alors, suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (Brisabois et *al.*, 1997). Parmi ces germes nous avons :

II.2.1.4.1. *Staphylococcus aureus*

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococcaceae*. Ce sont des coques à Gram positif de 0,5 à 2,5 µm de diamètre, non sporulés et immobiles. En fonction de leur capacité à coaguler le plasma de lapin : on distingue ainsi des espèces à coagulase positive et des espèces à coagulase négative. Parmi les staphylocoques coagulase positive, seules les souches productrices d'entérotoxines sont impliquées dans une intoxication alimentaire (Leyral et Vierling, 2007).

S.aureus est un germe mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C, il est capable de se multiplier à des valeurs de pH comprises entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de croissance de 7,0 à 7,5. Comme beaucoup d'espèces de staphylocoques, *S.aureus* est un germe halotolérant, qui peut se multiplier en présence de concentrations élevées de chlorure de sodium (en général jusqu'à 10%) (Cuq, 2007).

Elle fait partie de la flore de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. Parasite habituellement inoffensif, il peut provoquer des infections (abcès cutanés, mammites). La contamination du lait peut survenir par l'intermédiaire de porteurs sains ou infectés, ou par l'environnement. Chez les bovins, *S.aureus* est isolé dans les narines.

On le retrouve dans de petites lésions cutanées et dans les manchons des machines à traire. La colonisation des trayons peut entraîner l'infection de la mamelle.

Les souches de *S.aureus* ne sont pas toutes toxigènes. D'après les nombreuses enquêtes réalisées à ce sujet, et dans des conditions optimales de culture, au laboratoire, le pourcentage de souches toxigènes serait de 30% à 60% chez des souches ovines et caprines, contre seulement 4% à 10% chez les souches bovines.

Les entérotoxines sont remarquablement stables. Elles résistent à l'irradiation, aux enzymes protéolytiques et surtout à la chaleur. Alors que la bactérie est détruite lors de la pasteurisation du lait, les entérotoxines ne sont que partiellement inactivées. Elles ne sont complètement inactivées qu'après 20 à 40 min à 120°C.

Les toxi-infections alimentaires à staphylocoques sont caractérisées par des vomissements violents et répétitifs survenant 30 minutes à 8 heures après l'ingestion. La maladie est de courte durée mais très éprouvante et spectaculaire. Elle est bénigne chez l'adulte en bonne santé mais peut être plus grave chez le jeune enfant et les personnes âgées (Brisabois et *al.*, 1997).

II.2.1.4.2. Les salmonelles

Ces entérobactéries lactose-, H₂S⁺ sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles ne font pas partie de la flore commensale du tube digestif de leurs hôtes, mais le portage asymptomatique reste fréquent et représente la plus grande voie de dissémination des bactéries dans l'environnement et dans les aliments (Guy, 2006). Dans le genre *Salmonella*, plus de 2000 sérotypes ont été décrits, tous présumés pathogènes pour l'homme.

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie voire leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40°C. Elles survivent aux basses températures et donc résistent à la réfrigération et à la congélation. En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 secondes). Elles sont capables de se multiplier dans une plage de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique, lorsque celle-ci entraîne des concentrations en acide lactique supérieures à 1% et un pH inférieur à 4,55 (Jay, 2000 ; Guy, 2006).

Les vaches laitières demeurent très sujettes aux salmonelloses essentiellement dues aux sérovars ubiquistes provoquant ainsi une diarrhée profuse, une anorexie et une chute importante de la quantité du lait (Brisabois et *al.*, 1997).

Les salmonelloses causées aux consommateurs par le lait et les produits dérivés sont évaluées à environ 15% (Cuq, 2007).

II.2.1.4.3. *Escherichia coli*

Les *Escherichia coli* forment un groupe de bacilles mobiles ou immobiles, à Gram négatif, de la famille des *Enterobacteriaceae* (Brisabois et *al.*, 1997). *E. coli* est un hôte normal de l'intestin de l'homme, dans les fèces, son nombre est voisin de 10^6 - 10^7 par gramme (Cuq, 2007).

Ils peuvent se multiplier à des températures comprises entre 4°C et 46°C, avec un optimum de croissance à 37°C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5 (Brisabois et *al.*, 1997).

Les principaux vecteurs de *E. coli* sont la peau des trayons, souillée par les fèces, et le matériel de traite mal conçu et de ce fait se nettoyant mal, que les bactéries coliformes peuvent coloniser entre les traites. En dehors de la source fécale, la contamination du lait peut être due à l'excrétion mammaire en cas d'infection à *E. coli*, ou à une contamination de l'eau utilisée pour les différentes opérations de nettoyage (Richard, 1983).

E. coli qui provoque la diarrhée, la gastrite aiguë ou la colite de l'homme sont désignées sous le nom d'*E. coli* pathogènes. Des critères de différenciation basés sur leur sérotype, leur virulence et leurs conséquences cliniques ont permis de classer ces souches pathogènes en quatre groupes. On distingue les *E. coli* entéropathogènes (EPEC), les *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC), les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC) et les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) (Tableau 8) (Brisabois et *al.*, 1997).

Tableau 8 : les caractéristiques des différentes souches d'*Escherichia coli* (Bauraind et *al.*, 2014).

GROUPE DE SOUCHES	CARACTERISTIQUES
<i>E.coli</i> entéro-pathogène : EPEC	-Gastro-entérite du nourrisson -Parfois responsable d'épidémie en milieu pédiatrique
<i>E.coli</i> entéro-invasif : EIEC	-Ces souches pénètrent dans les cellules épithéliales -Réactions inflammatoires localisées, ulcérations
<i>E.coli</i> entéro-toxinogène : ETEC	-Responsables de diarrhée de l'enfant dans les régions chaudes et de la diarrhée du voyageur -Adhésion aux cellules de l'intestin -Enterotoxines
<i>E.coli</i> entéro-hémorragique : EHEC ou STEC ou VTEC	-Responsables de la diarrhée hémorragique -Complication : syndrome hémolytique-urémique

II.2.1.4.4. Les brucelles

Les bactéries du genre *Brucella* sont des bâtonnets de petite taille, très fréquemment coccobacillaires, aérobies et à pouvoir glucidolytique faible. Les *Brucella* sont immobiles et ne forment pas de spores. On n'a décrit ni flagelles, ni pili, ni capsule. Bactéries à Gram négatif, pathogènes et responsables de la brucellose, maladie connue également sous les noms de «fièvre de Malte», «fièvre méditerranéenne», «fièvre ondulante» ou «mélicitococcie». (Brisabois et *al.*, 1997).

Les animaux d'élevage sont les principaux réservoirs de la brucellose mais des bactéries se sont étendues à certains mammifères sauvages et marins. La pathogénicité de la bactérie varie en fonction des espèces (Tableau 9) (Sciensano, 2018).

Tableau 9 : Réservoir des espèces de *Brucella* et leur pathogénicité pour l'homme
(Brisabois et al., 1997)

Espèce	Biovars	Réservoir	Pathogénicité pour l'homme
<i>B. melitensis</i>	1-3	Caprins, ovins, camélidés	Très forte
<i>B. abortus</i>	1-6;9	Bovins, camélidés, yacks, buffles	Forte à très forte
<i>B. suis</i>	1-5	Suidés (1-3), lièvres (2), caribous et rennes (4), rongeurs sauvages (5)	Forte pour les biovars 1 et 3, modéré pour le biovar 4, faible pour le biovar 2 et inconnue pour le biovar 5
<i>B. canis</i>	-	Canidés	Faible
<i>B. ovis</i>	-	Ovins	Non pathogène
<i>B. neotomae</i>	-	Rongeurs	Inconnue
<i>B. pinnipediae et B. cetaceae</i>	-	Baleine, dauphins, phoques, morses	Forte pour certaines espèces, inconnue pour les autres

La transmission de la brucellose se fait soit :

- Par ingestion du lait cru ou de produits à base de lait cru provenant d'animaux infectés.
- Par contact de la peau ou des muqueuses avec des animaux infectés vivants ou morts.
- Par contact avec des produits souillés mais aussi les organes infectés, foie, rate, mamelle notamment, ou par ingestion accidentelle de *Brucella* en portant à la bouche un objet souillé (cigarette).
- Par inhalation de poussières lors de la manipulation de produits souillés.
- Par contact accidentel avec une souche vaccinale (Haddad, 2005 ; Kooh et Lailier, 2006 ; Glynn et Dragon, 2008).

II.2.1.4.5. Les bacilles tuberculeux

Les bactéries du genre *Mycobacterium* appartiennent à la famille des *Mycobacteriaceae* qui est constituée par des *Actinomycetales* dont le pseudomycélium rudimentaire se présente habituellement sous la forme de petits bacilles, immobiles, ayant parfois des éléments renflés,

cunéiformes ou ramifiés (0,2-0,6 μm sur 1,0-10 μm). Ils sont caractérisés par leur aptitude à conserver la coloration malgré l'action combinée de l'alcool et des acides dilués : ils sont dits acido-alcool-résistants. La température optimale des mycobactéries s'étend approximativement de 28°C à 45°C.

Mycobacterium bovis, agent de la tuberculose bovine, est capable d'infecter l'homme et certaines espèces animales, notamment la chèvre, le porc, le chien et le chat. Du point de vue de la médecine vétérinaire et de la santé publique, ce germe est la cause la plus importante des maladies mycobactériennes chez l'animal. (Brisabois et *al.*, 1997).

Les hôtes naturels de *Mycobacterium bovis* sont les bovins, les caprins, très exceptionnellement les ovins, les humains et divers mammifères sauvages.

La transmission à l'homme par les animaux malades ou en incubation se fait par :

- inhalation des aérosols contaminés (animaux touseurs) ou des poussières infectées dans l'environnement,
- blessure ou piqûre, en manipulant des objets contaminés ou des lésions tuberculeuses à l'abattoir,
- ingestion de lait cru ou insuffisamment traité par la chaleur, très exceptionnellement de viande crue et d'abats, provenant d'animaux contaminés.

II.2.2. Les levures et les moisissures

Les levures et les moisissures sont des cellules eucaryotes, regroupées sous le vocable de flore fongique. Elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre ainsi que dans tous les autres produits laitiers (Alais, 1984).

II.2.2.1. Les levures

Les levures sont de forme arrondie ou ovale, volumineuses ou unicellulaires, les levures sont utiles en industrie laitière car elles peuvent servir comme agents d'aromatisation. Elles sont aérobies facultatives et se développent en surface formant les boutons de nature mycélienne (Rozier, 1990).

Par contre, d'autres levures *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Saccharomyces fragilis*, *Saccharomyces lactis*, peuvent avoir des effets néfastes dans les aliments. Les levures supportent des pH de 3 à 8 avec un optimum de 4,5 à 6,4. Ce qui explique leur présence dans le lait cru comme dans le lait caillé (Bouix et Leveau, 1988).

Les levures entraînent des altérations rendant le produit final indésirable : aspect trouble, odeurs ou goûts indésirables, gonflement des produits ou de leur emballage (Rozier, 1990).

II.2.2.2. Les moisissures

Les moisissures sont en général plus complexes dans leur morphologie et dans leur mode de reproduction. Elles peuvent être utiles ou indésirables en industrie alimentaire. Elles se développent en surface ou dans les parties internes aérées en utilisant le lactose ; cette propriété leur confère une utilité incontestable en fromagerie. C'est ainsi que le *Penicillium camemberti* et *Penicillium roqueforti* sont utilisés dans la fabrication de divers types de fromages. Certaines moisissures élaborent des mycotoxines thermostables et liposolubles donc difficiles à éliminer une fois formées. L'aflatoxine M1, élaborée par *Aspergillus flavus*, résiste à la température de pasteurisation des laits et produits laitiers (Wiseman et Applebaum, 1983).

II.2.3. Les parasites

Il est certain que quelques-unes des affections parasitaires de l'homme transmissibles par les aliments peuvent être véhiculées par le lait ; tel est notamment le cas des affections au cours desquelles le stade infectant du parasite peut être propagé par les manipulateurs de lait : Kystes amibiens et autres, œufs de *Taenia solium* et de *Enterobius*. Mais les caractéristiques épidémiologiques de ces infections sont telles qu'il est difficile sinon impossible de déceler les causes de transmission des agents infectieux au lait ; et c'est sans aucun doute la raison pour laquelle la littérature des maladies à transport laitier ne signale pas de cas infectieux de ce type.

Toxoplasma gondii est à notre connaissance, le seul parasite animal qui est excrété dans le lait de vache, soit infectieux pour l'homme ; mais on ignore si les humains peuvent être aussi infectés par l'intermédiaire du lait. La contamination du lait et des produits laitiers par des sols infectés d'œufs d'*Ascaris* ou de *Trichuris*, ou de larves d'helminthes, semble possible bien que difficile. De bonnes techniques sanitaires, le traitement thermique du lait et l'adoption de mesures

d'hygiène par les manipulateurs de lait devraient convenablement prévenir la transmission de ces infections (Baaziz et Benghodhbane, 2009).

II.2.4. Les virus

Le virus est le plus petit des microorganismes connus. Sa taille est de l'ordre de nanomètre, soit un millionième de mètre. Etant un parasite, il a besoin d'un organisme vivant pour se développer. Selon le virus, il peut parasiter un humain, un animal, une plante ou une bactérie. Les virus ne se développent donc pas dans les aliments. La présence de virus dans un produit laitier signifie qu'un manipulateur, un animal, l'eau ou des composantes utilisées dans la formulation du produit alimentaire a servi de vecteur d'incorporation. (Vignola, 2002)

L'encéphalite à tiques, causée par des souches de virus du groupe *louping-ill* — encéphalite verno-estivale russe, peut se transmettre à l'homme dans les conditions naturelles par deux voies principales :

- La morsure de tiques infectées
- L'ingestion de lait cru contaminé.

Des épisodes dus au lait se sont déclarés de façon sporadique chez des individus et dans des familles ; d'autres ont éclaté en flambées explosives, atteignant des collectivités entières qui s'étaient approvisionnées en lait infecté auprès d'un même centre de distribution. Quelques auteurs pensent que le lait de vache ne peut pas être une source d'infection, bien que l'on ait démontré expérimentalement la présence de l'infection chez des vaches, avec excrétion du virus dans leur lait.

Des expériences ont montré que le virus est complètement inactivé dans le lait par chauffage à 65-70°C pendant 20 minutes ; en ne le chauffant qu'à 60°C pendant 20 minutes, on y a retrouvé du virus actif. Le virus peut survivre pendant deux mois à 4°C dans du beurre préparé à partir de lait infecté, et pendant environ deux semaines dans des caillebottes. (FAO/OMS, 1960)

L'hépatite infectieuse doit être considérée comme l'une des plus graves maladies virales dont le lait peut être un important propagateur. On doit remarquer que, dans certaines circonstances (pollution initiale importante par des matières organiques, clarification insuffisante avant chloration) même la verdunisation de l'eau ne suffit pas pour assurer l'inactivation du virus. Ainsi, outre qu'elle peut être transmise par contamination manuelle directe, l'infection peut être

propagée par un approvisionnement en eau défectueux dans un centre de traitement ou de distribution du lait. (Baaziz et Benghodhbane, 2009).

Le groupe des *Entérovirus*, qui prolifèrent dans le tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux, comporte plus de 50 types distincts. Seuls certains d'entre eux se sont avérés pathogènes pour l'homme, notamment les virus de la poliomyélite et les virus coxsackie. On a montré que certains autres membres de ce groupe provoquent de graves épidémies de "diarrhées estivales" chez les nourrissons et chez les enfants. Ces entérovirus sont répandus dans le monde entier et l'on estime que c'est surtout par la voie orale qu'ils infectent l'organisme. On a soupçonné le lait d'être responsable de quelques cas de poliomyélite, les examens de laboratoire montrent que les techniques de pasteurisation sont satisfaisantes pour inactiver les virus de la poliomyélite. Les virus coxsackie mis en suspension dans le lait semblent être plus résistants aux traitements HTST (High Temperature, Short Time) habituels, certaines souches survivant aux plus faibles températures utilisées (environ 71C° pendant 15 secondes) ; les virus en suspension dans la crème sont encore plus résistants. Les entérovirus souvent excrétés dans les fèces de personnes cliniquement saines, peuvent sans doute provoquer une contamination massive des réserves de lait. Ainsi, le lait cru et le lait contaminé après pasteurisation jouent très probablement un rôle dans la dissémination de ces virus et propagent vraisemblablement les maladies correspondantes. (Baaziz et Benghodhbane, 2009).

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL
ET
METHODES

I. Matériel et méthodes

I.1. Prélèvements

Cette étude a été menée dans 5 exploitations bovines laitières dans les régions de KHENCHELA.

Afin d'apprécier la qualité bactériologique du lait cru de la vache laitière, cinq échantillons de lait cru provenant de 5 vaches de 5 exploitations différentes ont été prélevés (Tableau 10).

Les prélèvements ont été effectués directement à partir de la mamelle de la vache des quatre quartiers de façon aseptique et dans des flacons stériles et étiquetés (Figures 3, 4, 5 et 6).

Les échantillons prélevés ont été par la suite placés dans une glacière et acheminés directement au laboratoire d'analyse où ils ont été réfrigérés à +4 °C.

Tableau 10 : Répartition des échantillons en fonction des 5 exploitations bovines

ECHANTILLONS	EXPLOITATIONS
1	De GUESSOUM Hlel
2	De BOUHLALA Nourelyamine
3	De NAILI Ahmed
4	De DJAAFRI Abdelhamid
5	De BENZATTA Faouzi

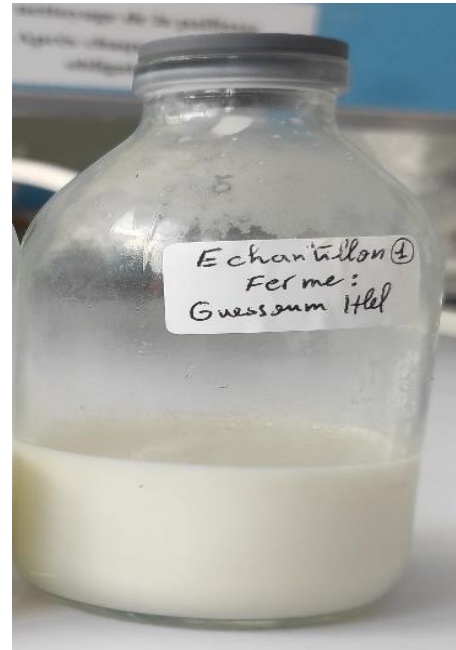


Figure 3 : Exploitation de GUESSOUM Hlel



Figure 4 : Exploitation de BOUHLALA Nourlyamine



Figure 5 : Exploitation de NAILI Ahmed



Figure 6 : Exploitation de DJAAFRI Abdelhamid

I.2. Analyses microbiologiques

✓ Préparation des dilutions décimales

A partir de lait cru de chaque échantillon, une série de dilution allant de 10^{-1} à 10^{-6} est effectuée dans des tubes contenant 9 ml d'eau physiologique stérile (Figure 7).

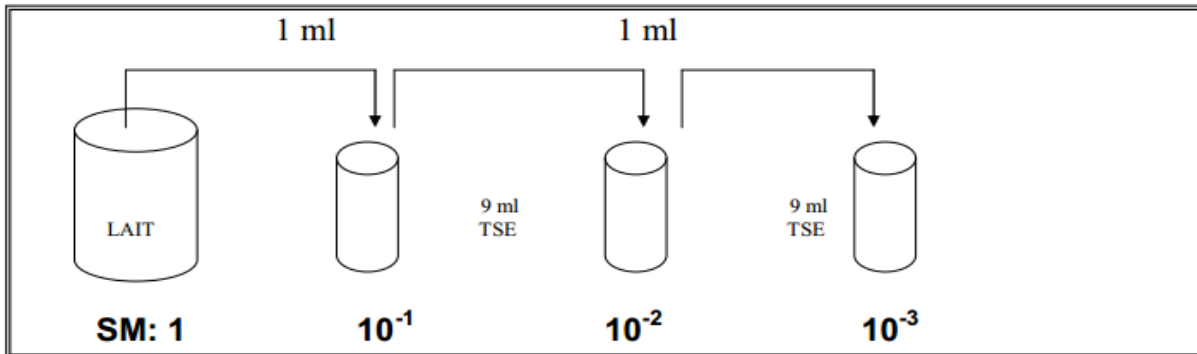


Figure 7 : Préparation des dilutions décimales

✓ Etude de la flore microbienne

I.2.1. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile

A partir de dilutions 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri vide.

Ajouter 15 ml de gélose PCA fondue et refroidie à 45 ± 1 °C. Pour homogénéiser l'inoculum à la gélose, faire des mouvements circulaires et de va-et-vient. Laisser solidifier, puis incuber à 30 °C pendant 72 h.

Les colonies apparaissent sous forme de colonies de tailles et de formes différentes. Des levures et des moisissures peuvent également se développer, ces dernières peuvent être différenciées.

On dénombre en comptant toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes et en appliquant la loi de Guiraud de dénombrement :

Deux boîtes par dilution ; dans le cas général, on prend en compte les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.

On calcule la moyenne pondérée N à partir des boites de deux dilutions successives d1 et d2 (au moins une boite doit contenir plus de 15 colonies)

$$N = \frac{\Sigma c}{(V \times (n1 + 0,1 n2) \times d1)} \text{ (Guiraud, 1998).}$$

N : nombre d'UFC (NE nombre estimé)

C : nombre de colonies dénombrées sur une boite (c1 pour la dilution d1 et c2 pour d2)

V : volume d'inoculumensemencé sur une boite

n1 : nombre de boites retenues à la première dilution

n2 : nombre de boites retenues à la deuxième dilution

d1 : taux de dilution correspondant à la première dilution

I.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes en milieu liquide

Les coliformes sont dénombrés en milieu liquide par technique du NPP (le nombre le plus probable) sur bouillon BLBVB, réparti à raison de 9 ml par tube, muni d'une cloche de Durham. La technique fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

I.2.2.1. Test présomptif

On prépare une série de tubes contenant le milieu sélectif BLBVB à raison de deux tubes par dilution.

A partir des dilutions décimales 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , on porte aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée.

On chasse le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et on mélange bien le milieu et l'inoculum. Ensuite, on incube à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche), et un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu) présents dans un tube le qualifie comme positif.

Le dénombrement se fait selon la table de Mac Grady (Annexe 1).

I.2.2.2. Test confirmatif

Pour confirmer la présence des coliformes thermotolérants et surtout *E.coli* par le test de Mac Kenzie, on procède à un repiquage à partir des tubes positifs dans un tube de BLBVB muni d'une cloche, et un tube d'eau peptonée exempte d'indole.

On chasse le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et on mélange bien le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait dans un bain marie à 44°C pendant 24 heures.

On considère les tubes comme positifs s'il y a un dégagement gazeux dans les tubes de BLBVB et un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs pour le tube d'eau peptonée exempte d'indole. Et on termine la lecture selon la table de Mac Grady (Joffin et Leyral, 2001).

I.2.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique du NPP (le nombre le plus probable). La technique fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

I.2.3.1. Test présomptif

On prépare dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe à raison de trois tubes par dilution.

Puis à partir des dilutions décimales 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , on porte aseptiquement 1ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée et on mélange le milieu et l'inoculum. Puis, on incube à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Les tubes positifs présentent un trouble microbien, mais il n'y a aucun dénombrement à faire à ce niveau.

I.2.3.2. Test confirmatif

Chaque tube de Rothe trouvé positif fera l'objet d'un repiquage dans un tube de milieu EVA Litsky et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

On incube à 37°C, pendant 24 heures.

Les tubes positifs présentent à la fois un trouble microbien et une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

Et puis on procède à une lecture selon la table de Mac Grady (Marchal et *al.*, 1987).

I.2.4. Recherche et dénombrement des spores des clostridiiums sulfito-réducteurs

On fait fondre un flacon de gélose Viande-Foie, le refroidir dans un bain d'eau à 45°C puis on ajoute une ampoule d'Alun de Fer et une ampoule de sulfite de sodium. On mélange soigneusement et aseptiquement.

Le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45°C jusqu'au moment de l'utilisation.

Le tube contenant la dilution 10^{-1} sera soumis :

- D'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes,
- puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

A partir de cette dilution, on porte aseptiquement 1 ml de celle-ci en double dans deux tubes stériles, puis on ajoute environ 15 ml de gélose Viande-Foie prête à l'emploi, dans chaque tube. On ajoute quelques gouttes d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose puis on laisse solidifier sur paillasse pendant 30 minutes et on incube à 37°C pendant 16, 24 ou au plus tard 48 heures avec une lecture accompagnée (Lebres et *al.*, 2007).

I.2.5. Recherche des salmonelles

La recherche des salmonelles nécessite quatre phases successives :

I.2.5.1. Pré-enrichissement non sélectif

Le pré-enrichissement non sélectif est effectué par l'utilisation de l'eau peptonée tamponnée comme diluant dans la préparation de la suspension mère. L'incubation se fait à 37°C pendant 18h.

I.2.5.2. Enrichissement sélectif

On utilise le bouillon Sélénite-Cystéine et l'incubation se fait pendant 24 h à 37°C.

I.2.5.3. Isolement

On ensemence la surface du milieu d'isolement sélectif SS. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h.

Puis, on procède à la lecture en examinant les boîtes afin de rechercher la présence de colonies typiques de *Salmonella* qui ont un centre noir et qui sont entourées d'un halo clair transparent.

I.2.5.4. Identification

On fait un repiquage sur la surface de la gélose nutritive puis incubation des boîtes ensemencées à 37°C durant 24 h.

A partir de la culture pure obtenue sur la gélose nutritive, on procède à l'identification en utilisant la galerie biochimique **api 20E**.

I.2.6. Recherche des staphylocoques dorés

L'ensemencement est effectué sur milieu Chapman par étalement en surface de 0,1 ml d'inoculum. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

Les staphylocoques pathogènes forment des colonies luxuriantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol. Les staphylocoques non pathogènes forment en général de petites colonies rouges qui ne modifient pas la teinte du milieu (Marchal et *al.*, 1982).

Après l'incubation, les colonies caractéristiques pures feront l'objet de trois tests complémentaires à savoir : une coloration de GRAM, une recherche de l'enzyme catalase et une identification par la galerie **api Staph**.

I.2.6.1. Coloration de GRAM

La coloration de Gram est une coloration différentielle qui permet la distinction des bactéries Gram (+) et Gram (-) sur la base de différence de composition chimique et d'ultra structure des parois cellulaires (Figure 8). C'est une technique qui se déroule comme suit :

- Réaliser sur une lame propre un frottis puis le fixer.
- Recouvrir la lame de violet de gentiane phénique pendant 1 minute puis rincer.
- Recouvrir la lame d'une solution de Lugol durant 1 minute.
- Laver la lame à l'éthanol jusqu'à ce que la dernière goutte soit transparente.
- Laver rapidement à l'eau et recouvrir la lame de Fuschine phénique pendant 1 minute puis rincer à l'eau distillée, ensuite, sécher la lame à l'aide d'un papier buvard.
- L'observation s'effectue à immersion (objectif $\times 100$) après avoir déposé une goutte d'huile de cèdre sur la lame (observation à immersion).

Les bactéries Gram positif sont colorées en violet alors que celles colorées en rose sont Gram négatif (Pro-Lab Diagnostics, 2012).

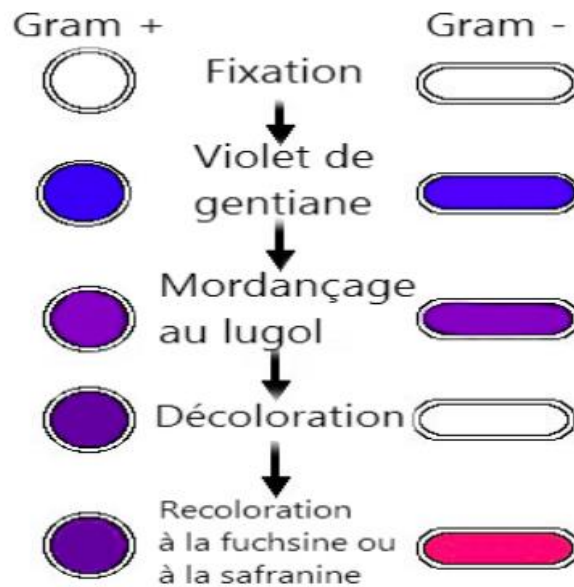


Figure 8 : L'aspect des bactéries après la coloration de GRAM (Konig, 2015)

I.2.6.2. Recherche de la catalase

La catalase permet la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produit par la souche (Figure 9). Sa recherche consiste à mettre en contact la colonie avec de l'eau oxygénée à

10 volumes. Une effervescence due à un dégagement gazeux traduit la présence de cette enzyme.

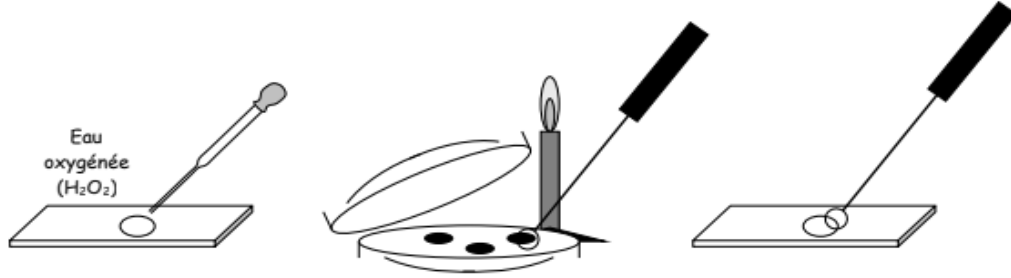


Figure 9 : Test de catalase (Collège Saint André Colmar, 2021)

I.2.6.3. Identification par la galerie api Staph

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données (Figure 10).

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (Annexe 2) et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

Les 20 tests réalisés sont :

0 : Témoin négatif

GLU : (Témoin positif) (D-GLUcose)

FRU : Acidification (D-FRUctose)

MNE : Acidification (D-ManNose)

MAL : Acidification (MALtose)

LAC : Acidification (LACtose)

TRE : Acidification (D-TREhalose)

MAN : Acidification (D-MANnitol)

XLT : Acidification (XyLiTol)

MEL : Acidification (D-MELibiose)

NIT : Réduction des NITrates en nitrites

PAL : Phosphatase Alcaline

VP : production d'acétyl méthyl-carbinol (VogesProskauer)

RAF : Acidification (RAFFinose)

XYL : Acidification (XYLose)

SAC : Acidification (SACcharose)

MDG : Acidification (Méthyl- α D-Glucopyranoside)

NAG : Acidification (N-Acétyl-Glucosamine)

ADH : Arginine DiHydrolase

URE : UREase

➤ **Mode opératoire**

✓ **Préparation de la galerie**

•Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

•Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).

•Sortir la galerie de son emballage individuel.

•Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

✓ **Préparation de l'inoculum**

•Réaliser une préculture sur gélose Columbia au sang (ou Agar P) 18-24 H à 36°C \pm 2°C.

- Vérifier l'appartenance de la souche à la famille des *Micrococcaceae* (morphologie, Gram, catalase...), ainsi que sa pureté.
- Ouvrir une ampoule d'API Staph Medium.
- Préparer une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de McFarland, utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

✓ **Inoculation de la galerie**

- A l'aide d'une pipette pasteur, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Renfermer la boîte d'incubation.
- Incuber à $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 18-24 heures (bioMérieux SA, 2017).



Figure 10 : Exemple de galerie api Staph (Jafar, 2015)

RESULTATS

ET

DISCUSSION

II.1. Résultats

II.1.1. La flore microbienne de lait cru de la vache

II.1.1.1. La flore totale aérobie mésophile

Le tableau 11 représente les résultats du dénombrement de la FTAM des différents échantillons de lait cru de vaches analysés. Un exemple de dénombrement sur milieu solide (PCA) est illustré dans la figure 11.

Tableau 11 : Dénombrement de la FTAM des différents échantillons de lait cru de vaches analysés.

Echantillons	E 1	E 2	E 3	E 4	E 5
Moyenne Cellules/ml	1.33×10^6	9×10^5	2×10^4	10^5	3×10^4
Normes (JORA n°35, 1998)	10^5 UFC/ml				

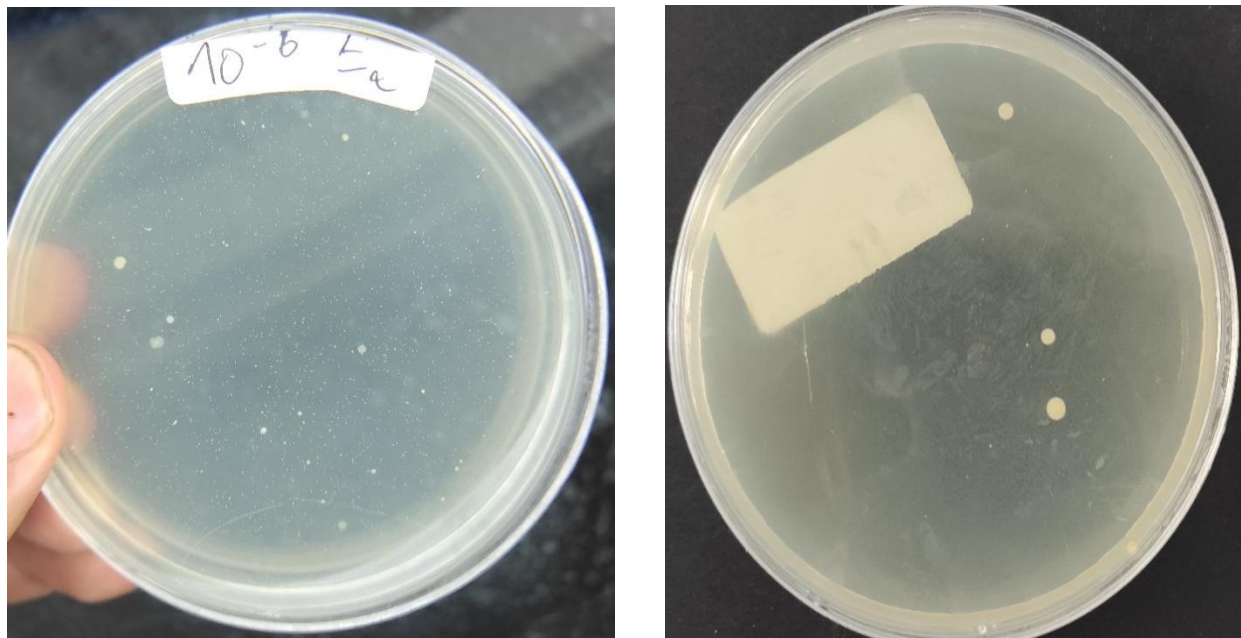


Figure 11 : Résultat de la présence des germes de la FTAM dans les laits étudiés.

II.1.1.2. Les coliformes

II.1.1.2.1. Les coliformes totaux

Seul l'échantillon 1 a montré une charge en coliformes totaux de l'ordre de $1,3 \times 10^3$. Tous les autres échantillons n'ont pas présenté une contamination en ces germes (Tableau 12 et 13).

La réglementation algérienne ne définit pas une norme pour cette flore. Pour cela, nous essayerons de comparer nos résultats à d'autres études similaires.

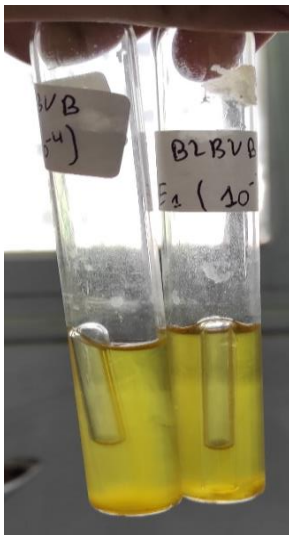
Tableau 12 : Résultats de dénombrement des coliformes totaux pour les cinq échantillons collectés

Echantillons	E 1	E 2	E 3	E 4	E 5
Cellules/ml	$1,3 \times 10^3$	0	0	0	0

Tableau 13 : Résultats de dénombrement des coliformes totaux pour le premier échantillon

Dilutions Tubes	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Tube 1	+	+	-
Tube 2	-	-	-
Résultat	1	1	0
NPP	1, 3		
UFC/ml	$1,3 \times 10^3$		

La figure 12 illustre un exemple des résultats de ce test.



(A)



(B)

Figure 12 : Exemple de résultats positifs (A) et négatifs (B) sur bouillon BLBVB

II.1.1.2.2. Les coliformes fécaux ou thermotolérants

Aucun résultat positif n'a été enregistré pour le dénombrement des coliformes thermotolérants. (Pas d'anneau rouge en surface après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée exempte d'indole) (Figure 13).

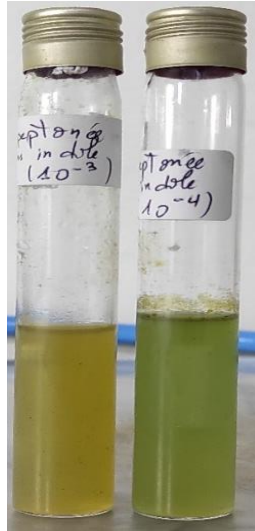


Figure 13 : Résultats négatifs sur bouillon eau peptonée exempte d'indole après l'adionction du réactif (kovacs)

II.1.1.3. Les streptocoques fécaux

Pour les streptocoques fécaux, la norme algérienne exige l'absence du germe dans 0.1 ml de lait cru (JORA n°35, 1998) (Annexe 3).

II.1.1.3.1. Résultats du test présomptif

Les principaux résultats de ce test sont illustrés dans le tableau 14 et les figures 14 et 15.

Les résultats qui concernent ce test effectué dans le bouillon Rothe ont été positifs pour le premier et le deuxième échantillon (Tableau 15 et 16), tandis que dans le reste des échantillons les résultats ont été négatifs.

Tableau 14 : Résultats du test présomptif pour les cinq échantillons collectés

Echantillons	E 1	E 2	E 3	E 4	E 5
Présence/Absence	Présence	Présence	Absence	Absence	Absence

Tableau 15 : Résultats du test présomptif pour le premier échantillon

Dilutions Tubes	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Tube 1	+	+	+
Tube 2	+	-	-
Tube 3	-	-	-

Tableau 16 : Résultats du test présomptif pour le deuxième échantillon

Dilutions Tubes	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Tube 1	+	+	+
Tube 2	-	-	-
Tube 3	-	-	-

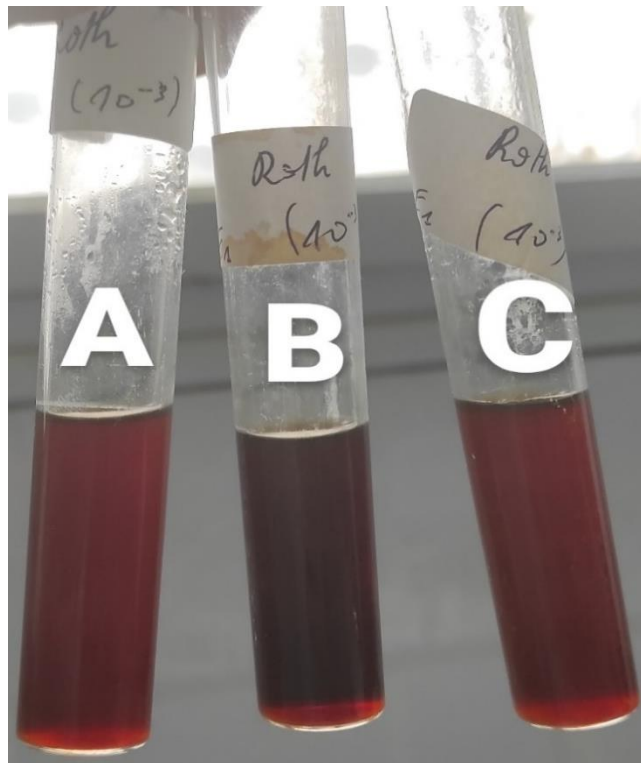
**Figure 14** : Exemple de résultats positifs (A et C) et résultat négatif (B) sur bouillon Rothe D/C



Figure 15 : Exemple des résultats négatifs sur bouillon Rothe S/C

II.1.1.3.2. Résultats du test confirmatif

Aucun résultat positif n'a été enregistré pour le dénombrement des streptocoques fécaux sur bouillon Eva-litsky (Figure 16).

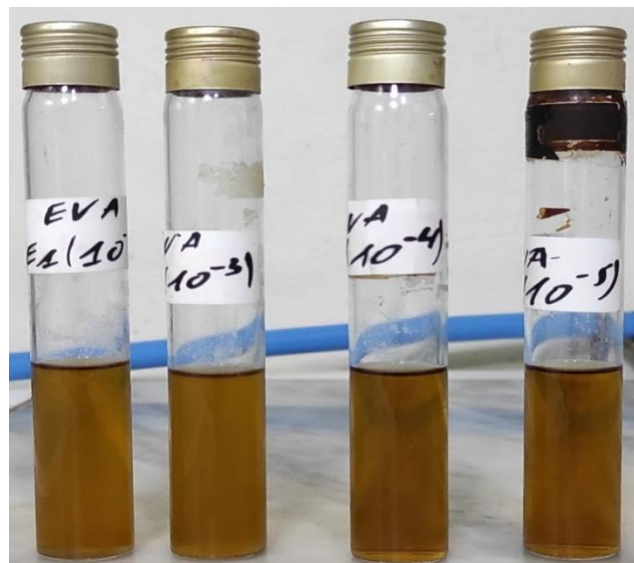


Figure 16 : Exemple de résultats négatifs sur bouillon Eva-litsky (absence de pastille blanchâtre ou violette)

II.1.1.4. Les clostridiiums sulfito-réducteurs

Ces germes ont été absents dans la totalité des échantillons analysés (Tableau 17 et Figure 17).

Tableau 17 : Résultats de la recherche des clostridiiums sulfito-réducteurs pour les cinq échantillons.

Echantillons	E 1	E 2	E 3	E 4	E 5
Présence/Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
Normes (JORA n°35, 1998)	50 UFC/ml				

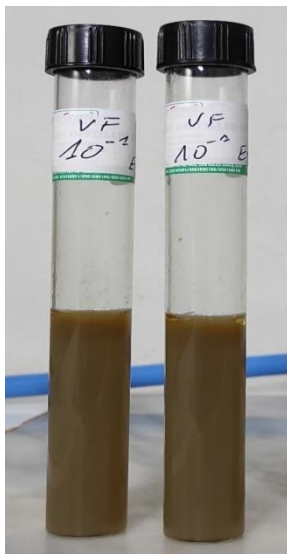


Figure 17 : Résultats négatifs pour la recherche des clostridiiums sulfito-réducteurs sur gélose viande-foie.

II.1.1.5. Les salmonelles

Aucun résultat positif n'a été enregistré pour la recherche des salmonelles dans les cinq échantillons étudiés (Figures 18, 19 et 20).



Figure 18 :Pré-enrichissement non sélectif sur le bouillon Eau peptonée



Figure 19 : Enrichissement sélectif sur le bouillon Sélénite-Cystéine

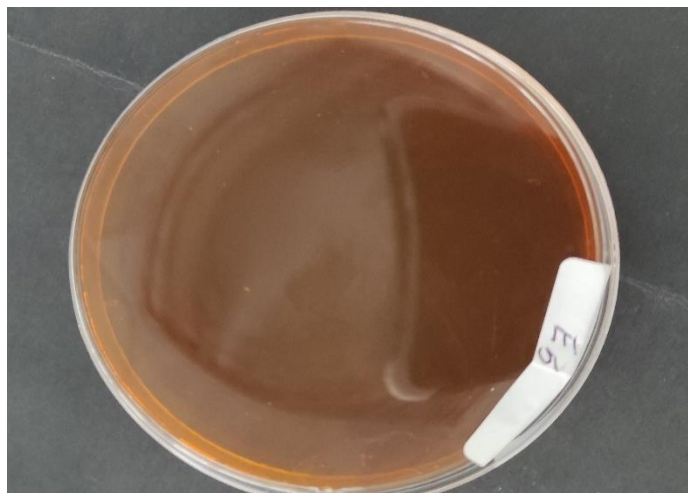


Figure 20 : Résultat négatif pour la recherche des salmonelles sur la gélose SS

II.1.1.6. Les staphylocoques

Nous avons indiqué la présence des staphylocoques sur gélose Chapman seulement dans le deuxième échantillon (Figure 21).

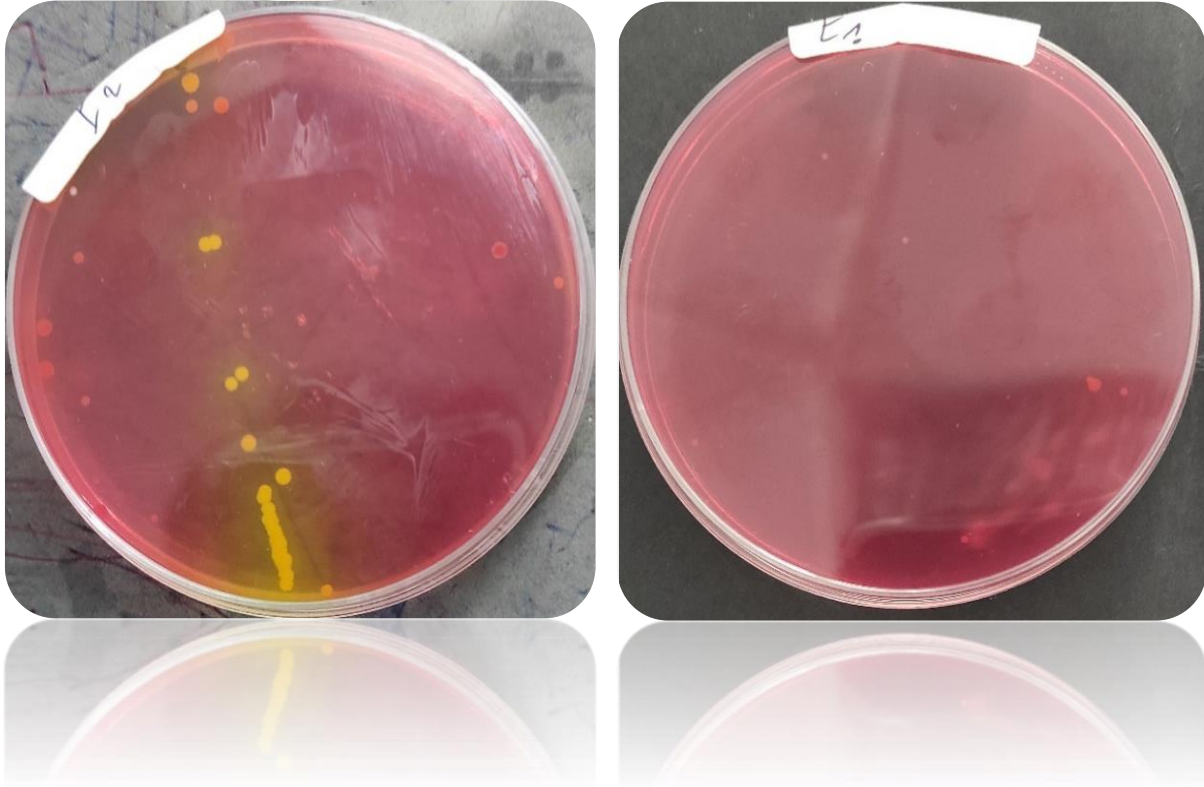
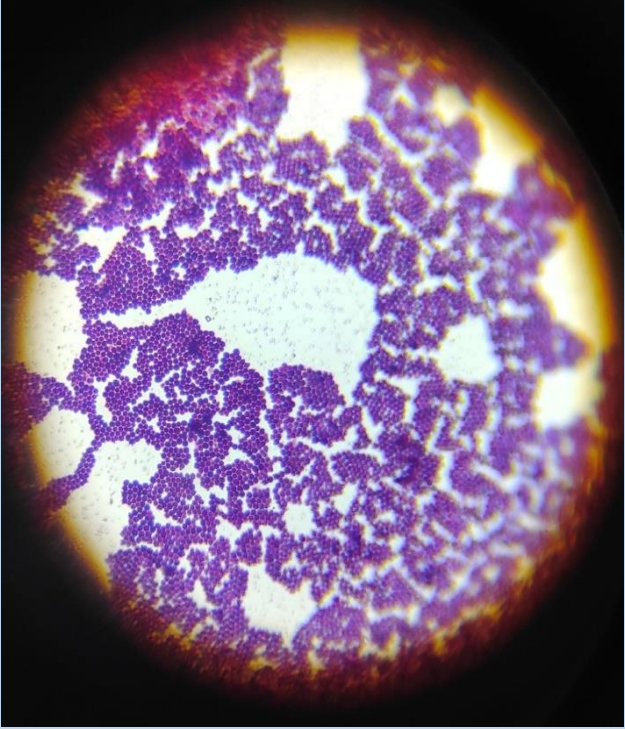


Figure 21 : Résultats négatif (à droite) et positif (à gauche) pour la recherche des staphylocoques sur gélose Chapman.

II.1.1.6.1. Etude macroscopique et microscopique de la souche

Les résultats obtenus de l'étude macroscopique et microscopique sont résumés dans le tableau 18.

Tableau 18 : Résultats de l'étude macroscopique et microscopique de la souche.

Milieu de culture	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
Gélose Chapman	Colonies de petite taille, lisses, brillantes, pigmentées en jaune (due à la fermentation du mannitol) ou non pigmentées	 <p>Coques sous forme de grappes de raisins à Gram positif.</p>

II.1.1.6.2. Résultat du test de catalase

L'apparition d'un dégagement de bulles a mis en évidence un test catalase positif (figure 22).



Figure 22 : test de catalase positif.

II.1.1.6.3. Résultat de l'identification par la galerie api-Staph

Les colonies mannitol positif purifiées par repiquage sur gélose Chapman ont subi un test d'identification biochimique en utilisant la galerie api-Staph.

La lecture des galeries biochimiques a été réalisée à l'aide du tableau de lecture, la lecture des résultats se fait soit de manière directe, par un changement de couleur du milieu du puits (en raison d'un changement du pH), soit de manière indirecte, dans ce cas il faut rajouter certains révélateurs dans les puits concernés (VP1, VP2, NIT1, NIT2, ZYM A, ZYM B) (figure 23).

Dans notre cas, il s'agissait de l'espèce *Staphylococcus aureus*.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 19.

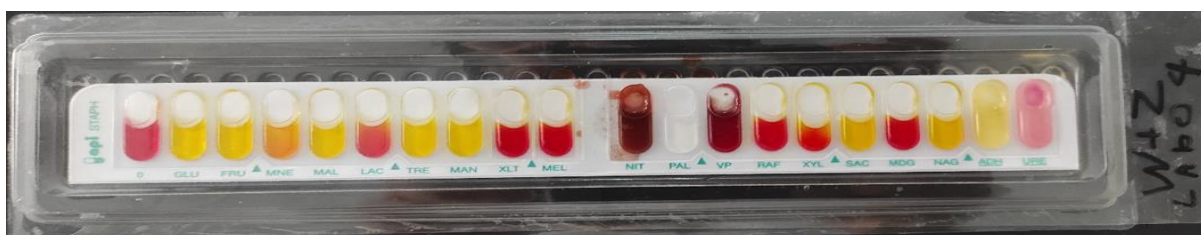


Figure 23 : La galerie biochimique de l'espèce de *Staphylococcus aureus* identifiée.

Tableau 19 : Résultat de l'identification de l'espèce *staphylococcus aureus* par la galerie api-Staph

<i>Staphylococcus aureus</i>	Bonne Id	
T	0.31	
GLU	+	
FRU	+	
MNE	+	
MAL	+	
LAC	-	
TRE	+	
MAN	+	
XLT	-	
MEL	-	
NIT	+	
PAL	+	
VP	+	
RAF	-	
XYL	-	
SAC	+	
MDG	-	
NAG	+	
ADRH	-	
URE	+	
LSTR	?	

II.2. Discussion

II.2.1. La flore totale aérobie mésophile

C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques qui nous renseigne sur la qualité hygiénique du lait cru (Guinot-Thomas et *al.*, 1995). Les résultats de l'énumération de cette flore pour les échantillons (E3-E4-E5) de lait cru analysés ont donné les valeurs (2.10^4 UFC/ml- 10^5 UFC/ml- 3.10^4 UFC/ml) respectivement. En effet selon (JORA N°35, 1998), ces chiffres ne dépassent pas le seuil de contamination en flore totale (FTAM) qui est **10^5 UFC/ml**. Tandis que les valeurs de l'énumération de cette flore pour les échantillons (E1-E2) des laits crus analysés qui étaient ($1,33.10^6$ UFC/ml- 9.10^5 UFC/ml) respectivement, dépassent le seuil de contamination (Figure 24). Ces résultats nous montrent que les échantillons (E3-E4-E5) des laits crus analysés sont de bonne qualité, et les échantillons (E1-E2) sont de mauvaise qualité en les comparant avec la limite fixée par la norme (JORA N°35,1998), qui est 10^5 UFC/ml et ce malgré les températures de tous les échantillons sont presque relativement ambiantes variées entre 20-24 C°. La charge bactérienne élevée des échantillons (E1-E2) reflète probablement un manque de respect de la bonne pratique d'hygiène (au moment de la traite, chariot traiteur, facteur humain).

Selon Ameer et *al* (2011) en Algérie, le lait cru collecté présente un taux de contamination microbienne élevé (entre 10^5 et 10^7 UFC/ml). La majorité de nos résultats (E1-E2-E4) se situent dans cet intervalle de contamination à l'exception de (E3-E5) qui ont un taux inférieur. Par ailleurs, seulement le résultat obtenu pour l'échantillon (E2) est proche des résultats rapportés par Aggad et *al* (2009) dans l'ouest Algérien ($8,3.10^5$ UFC/ml). Cependant, ils sont inférieurs à ceux de Affif et *al* (2008) ; Labioui et *al* (2009) ; Mennane (2007) ; Srhiri et *al* (2005) et Bonfoh et *al* (2002).

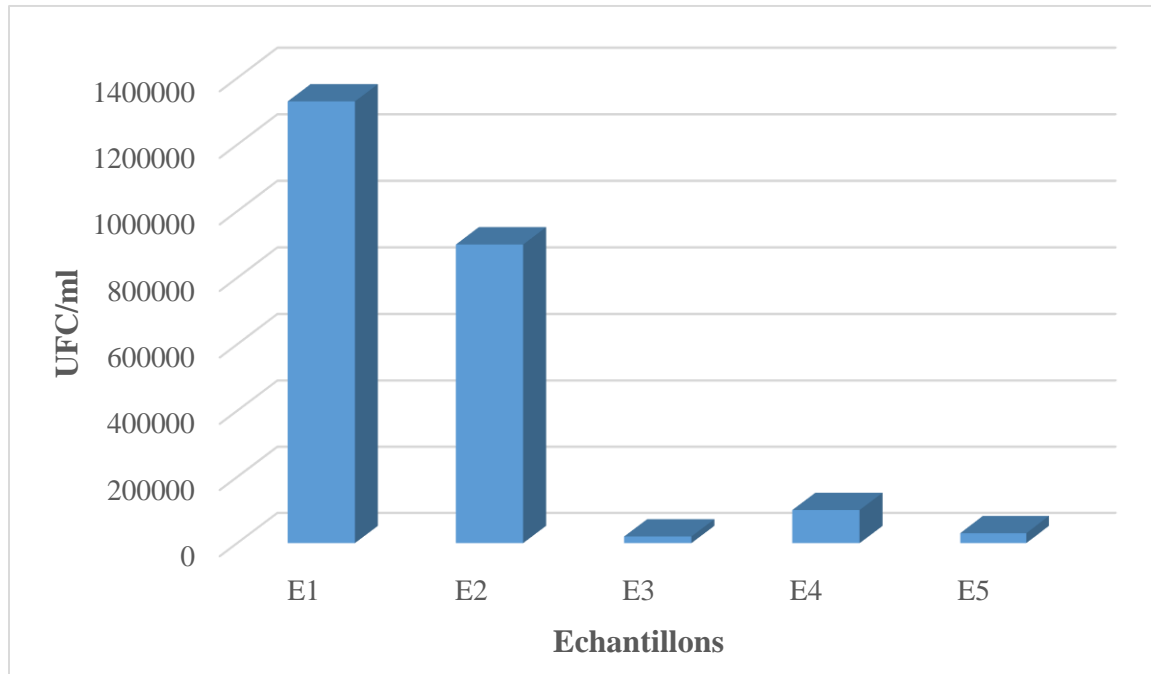


Figure 24 : Résultats de dénombrement de la FTAM dans le lait cru de vache

II.2.2. Les coliformes

II.2.2.1. Les coliformes totaux

L'énumération des coliformes totaux dans le premier échantillon (E1) de lait cru analysé a donné une valeur de $1,3 \cdot 10^3$ UFC/ml. Pour les autres échantillons les résultats négatifs ont confirmé une bonne qualité hygiénique et microbiologique. Le résultat de (E1) a révélé une contamination qui serait probablement due au manque d'hygiène des litières et à la conduite alimentaire des vaches laitières (Figure 25).

D'après (Magnusson et *al.*, 2007), les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes et la prévalence de mammites, dans ce cas, augmente, suggérant une contamination des trayons et du lait plus importante. D'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et manque d'hygiène pendant la traite.

Selon Larpent (1990), la présence des coliformes n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier.

Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par Afif et al (2008) avec une valeur de $3,2.10^5$ UFC/ml, et ils sont inférieurs aussi aux dénombrements retrouvés par Ouinine et al (2004) $1,07.10^7$ UFC/ml au Maroc.

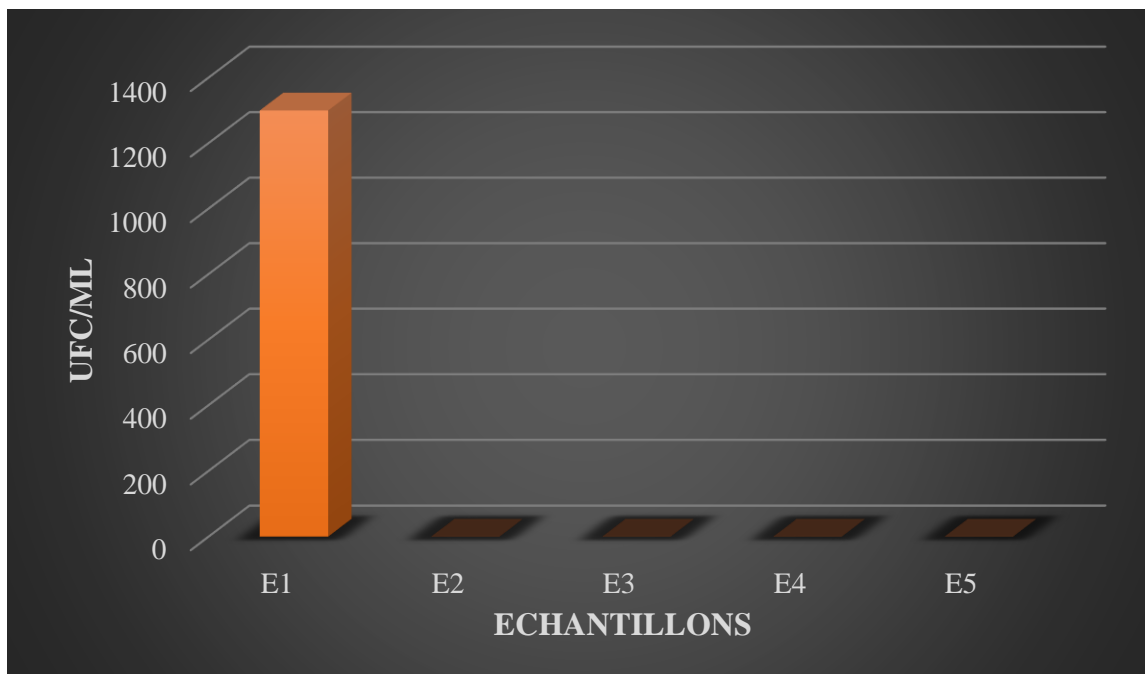


Figure 25 : Résultats de dénombrement des Coliformes totaux dans le lait cru de vache.

II.2.2.2. Les coliformes fécaux

La recherche de microorganismes indicateurs de la contamination d'origine fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit. Même à des niveaux faibles, ils témoigneraient de conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours du transport (Labioui et al., 2009). Leur présence est souvent associée à des entérobactéries pathogènes comme les *Salmonella*, les *Shigella*, les *Yersinia* et certains biotypes d'*E.coli* (Guiraud et Rosec., 2004).

Selon Rozier et al (1985), les coliformes fécaux sont représentés par *Escherichia coli* dans 95 à 99% des cas.

Les résultats rapportés par Ghazi et Niar (2011), dans la région de Tiaret indiquent une moyenne de 1,7.10 UFC/ml. Une autre étude menée par Afif et *al* (2008) dans l'une des coopératives laitières à Tadla (Maroc) a rapporté une valeur de 3,2.10⁵ UFC/ml. Par ailleurs, Ouinine et *al* (2004) ont rapporté une valeur de 1,99.10⁶UFC/ml.

Dans nos échantillons, aucun résultat positif n'a été détecté pour les coliformes fécaux (Figure 26). Notons que les laits crus de vache testés présentent une qualité microbiologique relativement bonne et ils sont acceptables du point de vue hygiénique.

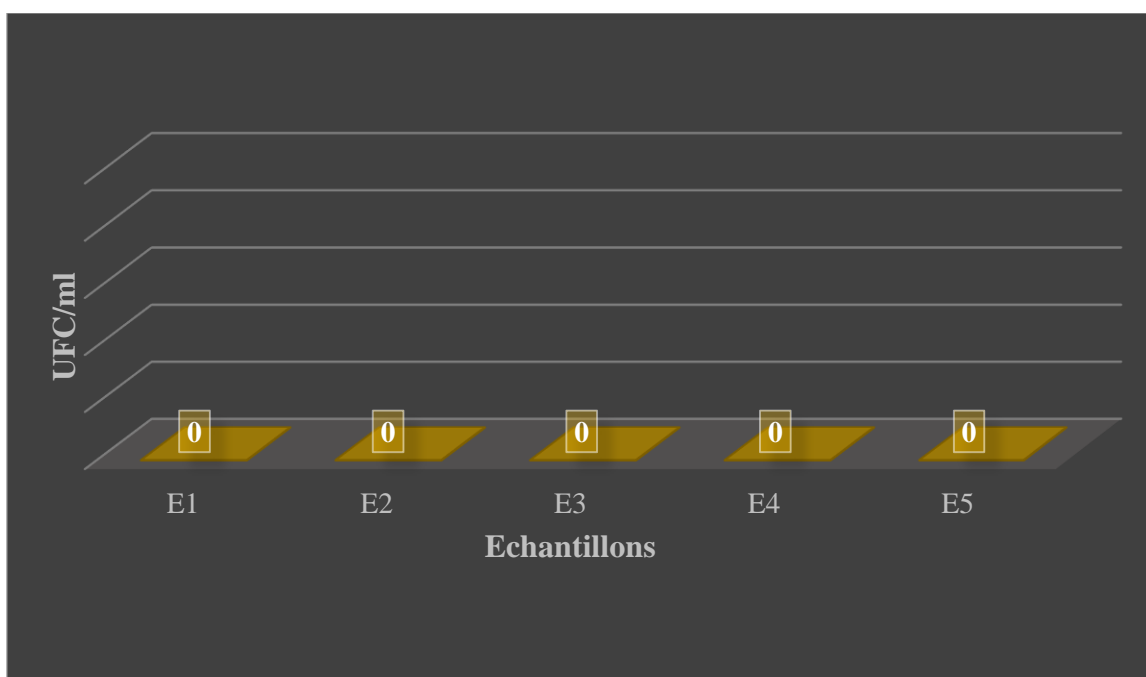


Figure 26 : Résultats de dénombrement des Coliformes fécaux dans le lait cru de vache.

II.2.3. Les streptocoques fécaux

Les streptocoques peuvent provenir de l'environnement, les canaux galactophores des vaches, équipement de traite et de stockage de lait. La présence des streptocoques fécaux est un signe de contamination fécale (Guiraud, 2003).

Selon (JORA N°35,1998), la norme pour les Streptocoques fécaux est l'absence des germes dans 0,1ml de lait cru.

Des charges en streptocoques fécaux dépassant les normes ont été enregistrées par Aggad et *al* (2009) dans des échantillons des laits analysés de l'ouest algérien, avec une valeur moyenne de $0,64.10^2$ UFC/ml. En revanche, la moyenne des résultats de l'étude menée par Labioui et *al* (2009) au Maroc est de $0,4.10^3$ UFC/ml. Alors que la valeur rapportée par Affif et *al* (2008) au Maroc est à l'ordre de 10^2 UFC/ml, et celle de Bouchibi et Boulame (1997) à Constantine est de $1,4.10^5$ UFC/ml.

Dans notre étude, les résultats de tous les échantillons (E1-E2-E3-E4-E5) étaient négatifs, ce qui présente une conformité à la norme, c'est l'indice de la manipulation hygiénique (Figure 27).

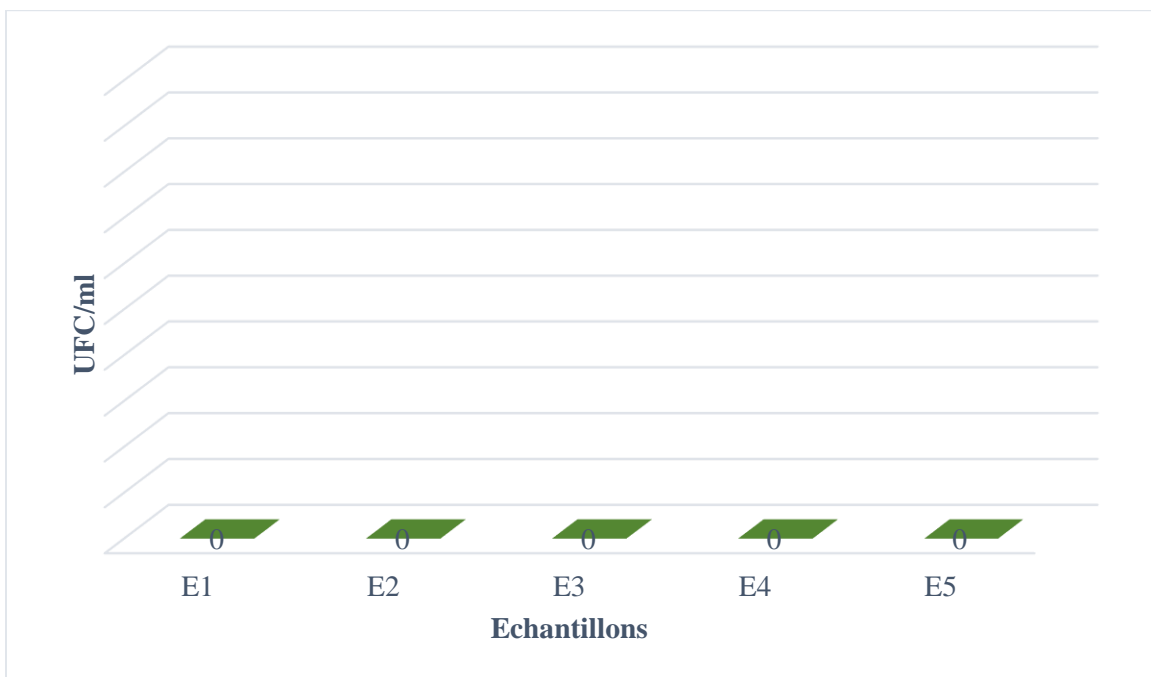


Figure 27 : Résultats de dénombrement des Streptocoques fécaux dans le lait cru de vache

II.2.4. Les clostridiiums sulfito-réducteurs

Les clostridiiums sulfito-réducteurs sont largement répandus dans le sol ou se rencontrent dans l'alimentation du bétail, dans l'environnement des étables et les souillures apportées par les animaux. Ils peuvent donc contaminer le lait au moment de la traite.

Les résultats d'analyse de ce genre de micro-organismes dans tous les cinq échantillons de lait cru analysés ont montré l'absence totale ce qui répond aux normes de (JORA N°35,1998). Ces

résultats suggèrent que la nourriture des vaches est dépourvue d'ensilage ou des balles rondes enrubannées mal conservées et que les vaches ont été en bon état sanitaire (Figure 28).

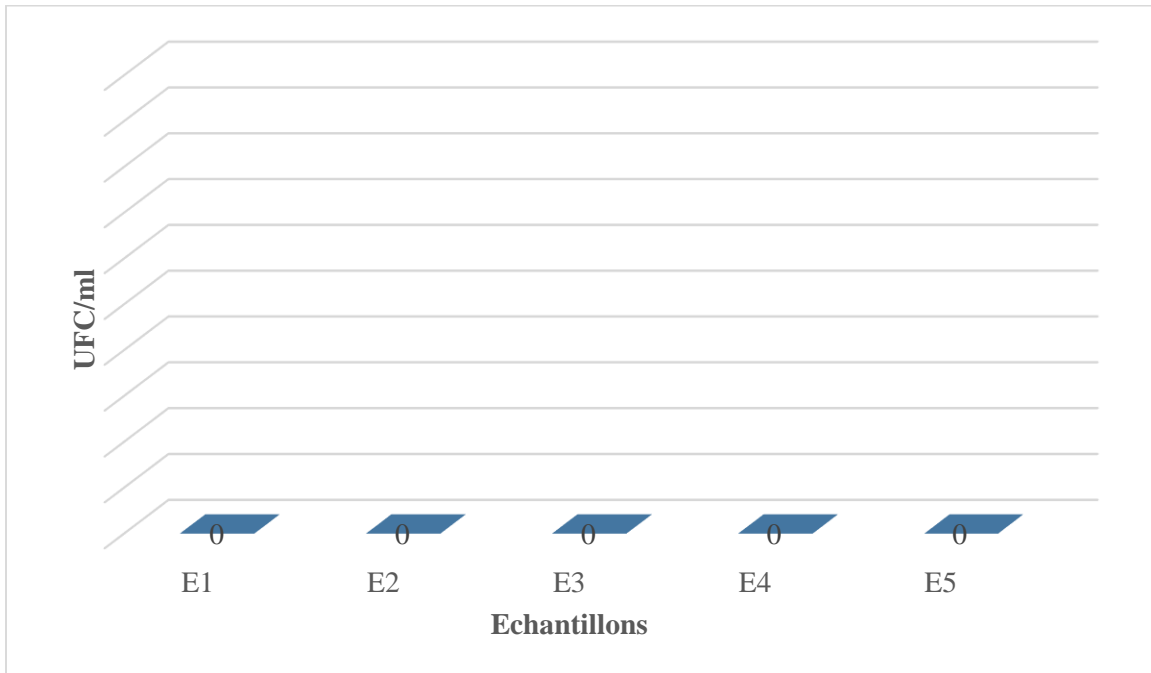


Figure 28 : Résultats de dénombrement des Clostridium sulfite-réducteurs dans le lait cru de vache.

II.2.5. Les salmonelles

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination (Figure 29), ce qui est conforme à la réglementation algérienne. En général, l'isolement des salmonelles dans le lait cru est difficile à mettre en évidence (Affif et *al.*, 2008).

Une étude de l'institut de l'élevage français réalisée en (2000) a démontré que la prévalence de l'excrétion mammaire de salmonelles est d'environ 0,6%, faisant de cette voie une source de contamination rare mais pas exceptionnelle. La principale source de contamination serait l'excrétion fécale de salmonelles, dissémination de la bactérie dans l'environnement, puis contamination de la peau des mamelles et du matériel de traite et enfin passage dans le lait (Guy, 2006).

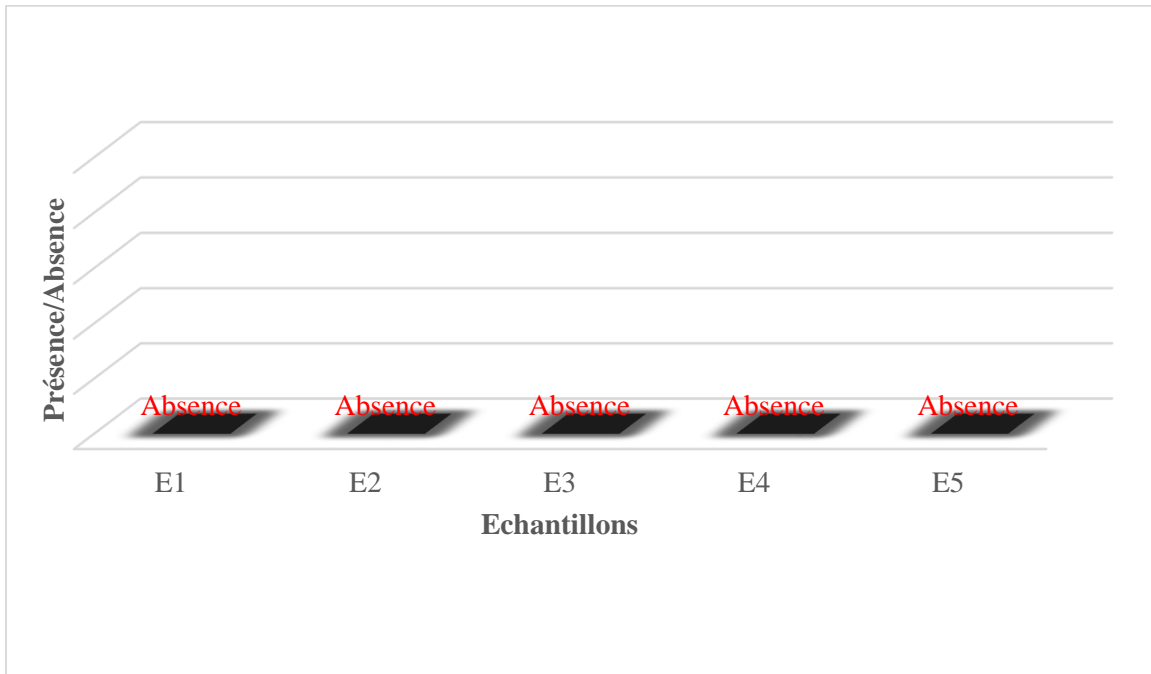


Figure 29 : Résultats de la recherche des Salmonelles dans le lait cru de vache.

II.2.6. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie ubiquiste, commensale de la peau des animaux et de l'homme. Elle peut également se retrouver sur les vêtements ainsi que dans l'environnement (Orlandini, 1999 ; Guiraud, 2003). Cette bactérie peut coloniser les pis des femelles laitières dans les élevages ovins, caprins ou bovins, et provoquer des infections de la glande mammaire. La mammite est la principale pathologie rencontrée en élevage laitier (Pujol-Dupuy, 2004)

Ce germe pathogène constitue un risque réel pour la santé publique, il peut produire dans certaines conditions des entéro-toxines thermostables qui peuvent résister aux traitements thermiques (Ashnnafi, 1996).

La présence de *Staphylococcus aureus* dans notre deuxième échantillon (E2) de lait cru analysé indique la non-conformité aux normes, et la possibilité d'atteindre par la suite des intoxications alimentaires liées particulièrement à ces entéro-toxines (Figure 30).

Afin de limiter le nombre de Staphylocoques présents dans le lait, il faut la mise en place d'un programme d'action contre les mammites bovines, le maintien de lait à température de réfrigération et le strict respect des règles d'hygiène lors des manipulations à la ferme.

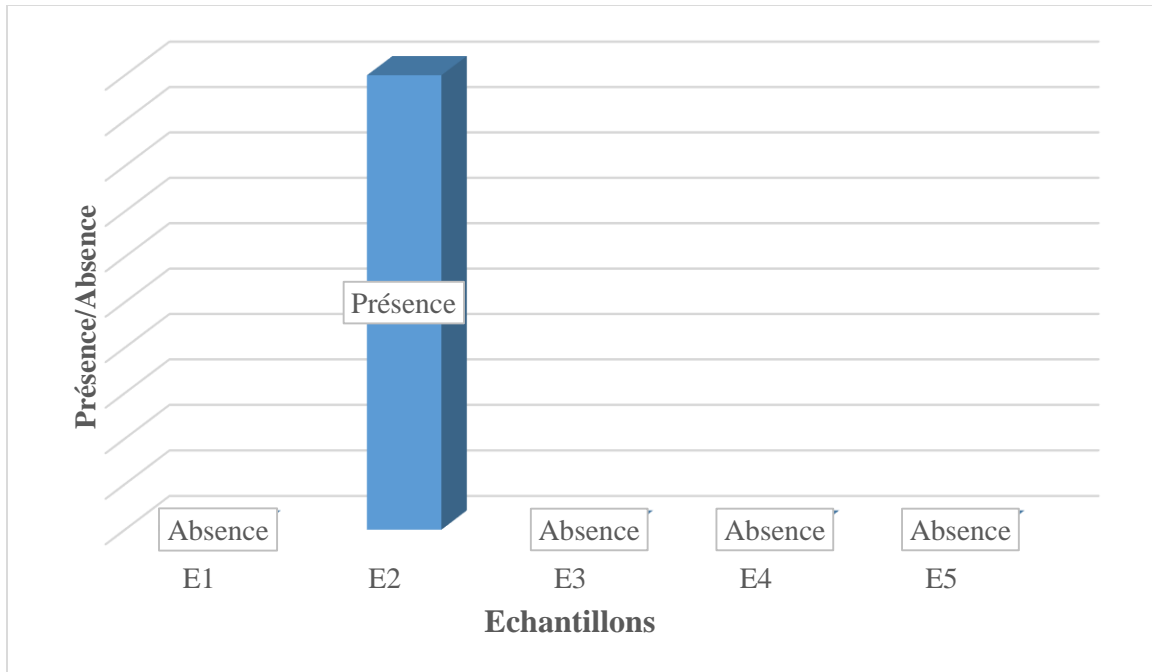


Figure 30 : Résultats de la recherche de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru de vache

CONCLUSION

Conclusion

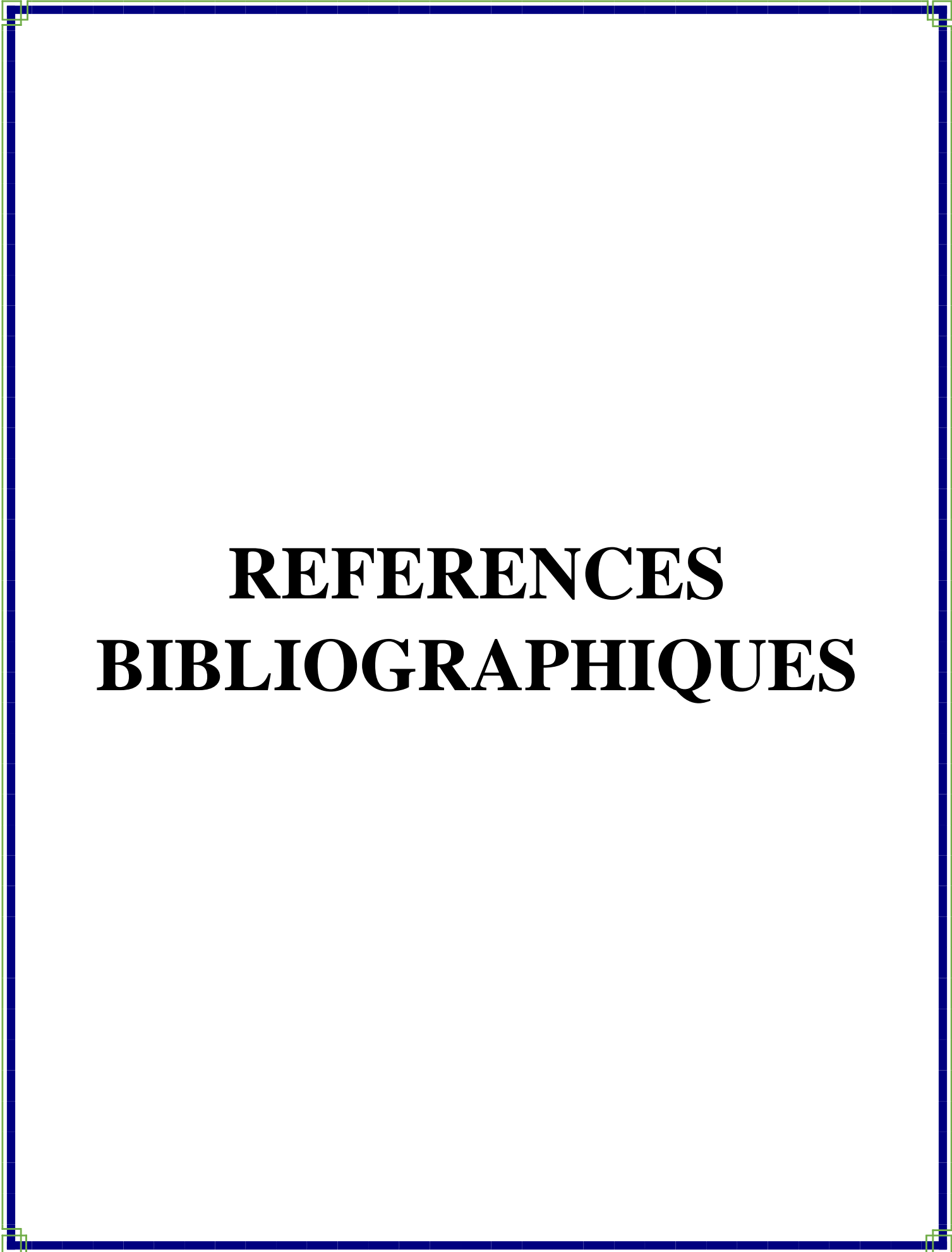
A travers cette étude, nous avons évalué la qualité microbiologique de la matière première, le lait cru de vache. Ainsi, 5 échantillons de lait cru ont fait l'objet d'une étude microbiologique portant sur le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile, les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques fécaux, les clostridiiums sulfito-réducteurs, les salmonelles et les staphylocoques, révélant une différence infime entre les échantillons.

Les échantillons E1, E3, E4 et E5 étaient de bonne qualité hygiénique tandis que l'échantillon E2 ne l'était pas à cause de la présence du *Staphylococcus aureus* qui n'est pas conforme aux normes algériennes établies par (JORA, 1998).

Concernant la recherche des germes pathogènes (clostridiiums sulfito- réducteurs, *salmonella*) nos résultats ont montré l'absence totale de ces germes dans tous nos échantillons.

A la lumière de ces résultats, la qualité hygiénique des échantillons E1, E3, E4 et E5 de lait cru analysés est mentionnée comme qualité « satisfaisante », ce qui nous indique un suprême respect des conditions d'hygiène du lait cru au niveau de ces fermes. Par contre, l'échantillon E2 révèle une mauvaise qualité hygiénique qui est dûe au manque d'hygiène.

Pour assurer une bonne protection pour le consommateur, il convient de maîtriser les conditions de conservation, et également les conditions d'hygiène lors de la traite jusqu'au produit fini (Guiraud, 1998).



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Affif, A., Faid, M et Najimi M., 2008. Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology* Vol 7. N°1. P: 2-7.

Aggad, H., Mahouz, F., Ahmed Ammar, Y., et Kihal M., 2009. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Revue Méd. Vét.*, 160, 12. p :590-595.

Ait Belghanaoui, A., 2006. Influence d'un traitement probiotique (*Lactobacillus farciminis*) sur les altérations de la sensibilité viscérale liées au stress : rôle de la barrière épithéliale colique. Thèse pour obtenir ingénieur d'état en biologie, Contrôle de qualité et analyses. Institut national polytechnique de toulouse, 152p.

Alais, C., 1984. Science du lait - principes des techniques laitières. Paris, Editions Sepaic. 4^{ème} édition. 814 p.

Alais, C., Linden, G et Miclo, L., 2003. Biochimie alimentaire. 5^{ème} édition. Paris : Dunod, 250 p.

Amellal, R., 1995. La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. Département Economie Rurale, INA El Harrach, Alger (Algérie) Options Méditerranéennes, Sér : B /n°14, 1995 - Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000.

Ameur, A., Rahal, K., et Bouyoucef, A., 2011. Evaluation du nettoyage des tanks de réfrigération dans les fermes laitières de la région de Freha (Algérie). *Revue Nature et Technologie*. N°6. p :80-84.

Andrianantenaina, F., 2019. Lait de vache collecté au sein de la société socolait à antsirabé, 91p.

Ashnafi, M., 1996. Effects of container smoking and uncubation temperature on the microbiological and Ergo a traditional Ethiopian sour milk. *International Dairy J.*, 6p. 94
Arimi S.M, Omar A.O, Dermo J.J 2000, 5-104.

B

Baaziz, S et Benghoudbane, H., 2009. Les maladies transmises par le lait. Université Badji Mokhtar annaba – Biologie (ecotoxicologie).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bauraind, C., Cantaert, V., Cheval, J.M., Daniaux, C., De Laubier, J., Demeffe, L., Fameree, C., Henrotte, B., Lecocq, G., Ninane, V., Piraux, E., Sindi, M et Zdanov, N., 2014. A propos du lait cru, Filière Lait et Produits Laitiers Wallonne, 66p.

Beuvier, E et Feutry, F., 2009. Quelques bases sur la microbiologie du lait et de fromage. Fiche de synthèse. Réseau fromages de terroirs, 6p.

Bitton, G., 1999. Wastewater Microbiology. John Wiley & Sons. 578p.

Boivert, C., 1980. Contribution à l'étude de la contamination du lait : mise en évidence de virus dans le lait cru par microscope électronique. Thèse : Med. Vét., Toulouse, 66p.

Bonfoh, B., Fané, A., Traoré, N.A., Coulibaly, Z., Simbé, C.F., Alfaroukh, O., Nicolet, J., Farah, Z., et Zinsstag, J., 2002. Qualité microbiologique du lait et des produits laitiers vendus en saison chaude dans le district de Bamako au Mali. Bioterre, Rev. Inter.Sci. de la vie et de la terre, N° spécial actes du colloque international, centre Suisse. Editions Universitaires de Cote d'Ivoire. p : 242-250.

Bornert, G., 2000. Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires. Revue Méd. Vét., 151, 11. p : 1003-1010.

Bouix, M et Leveau, J.Y., 1988. Les microflores responsables des transformations ; **In :** techniques d'analyses et de contrôle dans les IAA : le contrôle microbiologique. Vol. III.

Boubezari, M.T., 2010. Contribution à l'étude des caractéristiques physicochimique et mycologiques du lait chez quelques races bovines, ovines et caprines dans quelques élevages de la région de Jijel, thèse de Magister en médecine Vétérinaire, Option : hygiène alimentaire, université Mentouri de Constantine- faculté des sciences, 112p.

Bouchibi, A.M et Boulame, M., 1997. Contribution à l'étude microbiologique du lait cru de trois fermes de la région de Constantine. Mémoire d'ingénieur d'état en industries agro alimentaires. Institut de la Nutrition de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires. Université de Constantine. p: 50-74.

Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillard, A., De Buyser, M.L., Collette, C., Garin-Bastuji, B et Thorel M.F., 1997. Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 16 (1). p : 452-471.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

C

Cazet, L.D.M., 2007. Bilan du taux de contamination et étude préparatoire au dosage de résidus de produits phytosanitaires dans le lait de grand mélange bovin. Thèse Présentée à l'université Claude Bernard : Médecine. Lyon. 184p.

Clausen, E.M., Green, B.L et Litsky, W., 1977. Fecal streptococci: indicators of pollution. Dans: Hoadley, AW et BJ Dutka, édit., Bacterial Indicators/Health hazards associated with water. American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635, p : 247-264.

Codex Alimentarius., 1999. Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie, Codex stan 206-1999. p : 1-4.

Courtet leyamarios, F., 2010. Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Thèse pour le doctorat vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort, 122p.

Cuq, J.L., 2007. Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. p : 20-25.

D

Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C et Janssens, D., 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. **Dans** : De Roissart, H et Luquet, F.M. Eds. Bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques, vol 1, p : 25-116.

Desmaures, N., Bazin, F et Guéguen, M., 1997. Microbiological composition of raw milk from selected farms **in** : the Camembert region of Normandy, .Journal of Applied Microbiology, 83 (1) : p : 53–58.

Desmaures, N et Beuvier, E., 2011. Nature et quantité de microflore des laits, **in** : Cécile Laithier (Ed), Microflore du lait cru : Vers une meilleure connaissance des écosystèmes microbiens du lait et de leurs facteurs de variation, paris : RMT filières fromagères valorisant leur terroir animé par le CNAOL et le GIS Alpes Jura, p : 17-26.

Dieng, M., 2001. Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, 111p.

Dumoulin, E et Peretz, G., 1993. Qualité bactériologique du lait cru de chèvre en France, Le lait 73 (5 - 6), p : 475 – 483.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

E

Eigel, W.N., Hofman, C.J., Chibber, B.A.K., Tomich, J.M., Keenan, W et Mutz, E.T., 1979. Plasmin mediated proteolysis of casein in bovine milk. Proc. Natl. Acad. Sci., 76, p : 2244-2248.

F

FAO., 1995. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Ed. ROME, 651p.

FAO., 1998. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine Collection FAO : Alimentation et nutrition N°28 ISBN 92-5-20534-6.

FAO/OMS., 1960. Comité mixte FAO/OMS d'exportation de l'hygiène du lait. 2^{ème} rapport. Série de rapports techniques, n° 197, Genève, 60p.

Farrow, J.A.E., Kruze, J., Phillips, B.A., Bramley AJ et Collins, M.D., 1984. Taxonomic studies of *S. bovis* and *S. equinus*: description of *S. alactolyticus* sp. nov. and *S. saccharolyticus* sp. nov. Systematic and Applied Microbiology, 5. p : 467-482.

Frevel, H.J., 1985. Les moisissures dans les ensilages et le lait cru, Milchwissenschaft. Kempten. Allemagne, vol 40 no 3. p : 129-132.

G

Galantier, M et Bernard, B., 2005. En pratique : connaissance et place du lait et des produits laitiers dans une alimentation équilibrée. Cahiers de Nutrition et de Diététique, vol. 40, n° Supplément 1, p : 57-63.

Ghazi, K et Niar, A., 2011. Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). Institut des Sciences Vétérinaires, Université Ibn-Khaldoun de Tiaret, Tropicultura, 29, 4. p : 193-196.

Gleeson, C et Gray, N., 1997. The coliform index and waterborne disease. E & FN Spon. 194p.

Glynn, K et Dragon, D., 2008. Brucellose (Fièvre ondulante. fièvre de Malte, fièvre sudorale. méliococcie ou fièvre méditerranéenne). Manuel Contrôle des Maladies Transmissibles, GLOBE (Global Link for Online Biomedical Expertise), 19^{ème} édition. 4p.

Guinot Thomas, P., Ammoury, M et Laurent, F., 1995. Effects of storage conditions on the composition of raw milk. International Dairy Journal N° 5. p : 211-223.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Guiraud, J.P., 1998. Microbiologie alimentaire, Dunod, paris, 652p.

Guiraud, J.P., 2003. Microbiologie Alimentaire. Tome 2 Dunod. Paris. p : 136-139.

Guiraud, J.P et Rosec, J.P., 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.

Guy, F.I., 2006. Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central. Thèse doctorat d'état, université Paul-Sabatier de Toulouse, France. 17p.

H

Haddad, N., 2005. Brucelloses. Ministère de l'agriculture et de la pêche. Direction générale de la forêt et des affaires rurales. Direction générale de l'alimentation, France, 2p.

Heuchel, V et Marly, J., 2001. Origines, diagnostic et moyens de maitrise de la contamination du lait de vache par les salmonelles, Institut de l'élevage, paris, France.

I

Institut de l'élevage., 2009. Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1^{ère} Edition France Agricole. Produire mieux. p : 55-506.

J

Jakob, E., Winkler, H et Haldemann, J., 2009. Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. p : 5-31.

Jay, J.M., 2000. Taxonomy, role, and significance of microorganisms in food. Dans Modern Food Microbiology, Aspen Publishers, Gaithersburg MD.13p.

Joffin, J.N et Leyral, G., 2001. Microbiologie technique, Tome 1, dictionnaire des techniques, 3^{ème} édition.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

K

Kaminogawa, S., Mizobuchi, H et Yamauchi, K., 1972. Comparison of bovine milk protease with plasmin. *Agric. Biol. Chem.*, 36, p : 2163-2167.

Kooh et Lailier., 2006. *Brucella* spp. Fiche de description de danger transmissible par les aliments: *Brucella* spp. AFSSA, 4p.

L

Labioui, H., Elmoualdi, L., EI Yachioui, M et Ouhssine, M., 2005. Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*, 144: 237-250

Labioui, H., Laarousi, E., Benzakour, A., El Yachioui, M., Berny, E et Ouhssine M., 2009. Étude physico-chimique et Microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 148. p: 7-16.

Larpent, J.P., 1990. Lait et produits laitiers non fermentés. **In :** Microbiologie alimentaire. (Bourgeois, C.M., Mescle, J.F et Zucca, J.) Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Tec et Doc. Lavoisier. p : 201-215

Lebres, Azizi, D et Boudjellab, B., 2007. Manuel des travaux pratiques : Maitrise de la qualité microbiologique des aliments, Huitième cours d'hygiène et de la microbiologie des aliments, 48p.

Le Minor, L et Richard, C., 1993. Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur.

Leyral, G et Vierling, É., 2007. Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires. 4^{ème} édition Biosciences et techniques. 87p.

M

Magnusson, M., Christiansson et Svensson, B., 2007. *Bacillus cereus* spores during housing of dairy cows: factor affecting contamination of raw milk . *journal of dairy science*. n° 90. p : 2745-2754.

Mallet, A., Guéguen, M., Kauffmann, F., Chesneau, C., Sesboué, A et Desmasures, N., 2012. Quantitative and qualitative microbial analysis of raw milk reveals substantial diversity influenced by herd management practices. *International Dairy Journal*, 27(1–2), p : 13–21.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Marchal, N., Bourdon, J.I et Col, R., 1987. Les milieux de culture pour isolement et identification biochimique des bactéries, 3^{ème} édition DOIN, 405p.

Marchal, N., Obre, A., Buttion, R., Boudon, J.L et Richard, C.L., 1982. Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries, 2^{ème} édition DOIN, Paris.

Mennane, Z., Ouhssine, M., Khedid, K et Elyachioui, M., 2007. Hygienic quality of raw cow's milk feeding from waste in two regions in Morocco. International journal of agriculture and biology. Vol.9, n°1. p : 46-48.

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

Mocquot, G et Auclair, J., 1967. Les bactéries psychrotrophes dans le lait conservé à basse température. Le lait n°239. p :21-25.

N

Novel, G., 1993. Les bactéries lactiques **In** : Microbiologie industrielle: les microorganismes d'intérêt industriel. Leveau J-Y., Bouix M. Tec & Doc, Lavoisier. p: 170-374.

O

Olivieri, V.P., 1982. Bacterial indicators of pollution. **Dans:** Pipes.WO: Bacterial indicators of pollution, edit CRC Press, p: 21-41.

Orla-Jensen, S., 1919. The Lactic Acid bacteria. Dairy Bacteriology. Fred Host and Son, Copenhagen.

Orlandini., 1999. Les bactéries pathogènes à l'origine d'accidents alimentaire en France : rappels généraux et méthodes de détection rapide. Thèse de doctorat vétérinaire, Université de Claude Bernard Lyon, 185p.

Ounine, K., Rhoutaisse, A et El Halou, N.E., 2004. Caractérisation bactériologique du lait cru produit dans les étables de la région du Gharb. Al awamia, 109 -110. p : 187-204.

P

Pointurier, H., 2003. La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France : 64, 388p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Pougheon, S., 2001. Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, école nationale vétérinaire Toulouse, 102p.

Prescott, L.M., Harley, J.P et Klein D.A., 1999. Microbiology. 4th Edition. New York: WCB/McGraw-Hill.

Pujol-Dupuy, C., 2004. Accidents alimentaires d'origine bactérienne liés à la consommation de lait et produits laitiers. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, école nationale vétérinaire de Lyon 183p.

R

Reimerdes, E.H., Halpaap, J et Klostermeyer, H., 1981. Milchproteinase. VIII. Vergleichende charakterisierung von plasmin aus rinderblut mit einer serinproteinase aus kuhmilch. Milchwissenschaft, 36, p : 19-22.

Richard, J., 1983. Nature de la flore microbienne dominante et sous-dominante des laits crus très pollués. Le lait n°63. p : 148-170.

Rozier, J., 1990. Comprendre et pratiquer l'hygiène en cuisine. Milan, Imp. Maury, 200p.

S

Srairi, M.T., Hasni Alaoui, I., Hamama, A et Faye, B., 2005. Relations entre pratiques d'élevage et qualité globale du lait de vache en étables suburbaines au Maroc. Revue Méd. Vét. 156 (3).p: 155-162.

Sutra, L., Federighi, M et Jouve, J.L., 1998. Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p.

T

Tapernoux, A., 1937. Le lait La production d'un lait propre et sain à la ferme. Le lait, INRA Editions, 17 (163), p : 241-259.

Thomas, S.B., 1973. Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk collected in raw milk. Dairy industry, part 1, 38. p : 10-15.

Tomich, J.M., Eigel, W.N et Chibber B.A.K., 1976. Evidence for the presence of plasminogen and plasmin in bovine milk. Fed. Proc., 35, 1487.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

V

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

W

Weber, F., 1985. Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47.

Wiseman, D.W et Applebaum, T., 1983. Distribution and resistance to pasteurisation. Using High Temperature, Short-Time Pasteurization. J. Dairy Sei. 90, p : 3202-3211.

Sites web :

bioMérieux SA., 2017. api Staph Système d'identification des staphylocoques, microcoques et apparentés. URL : <https://microbiologiemedicale.fr/wp-content/uploads/2019/02/API-STAPH.pdf> . Consulté le 20 mai 2021.

CIRIHA., Allergie et intolérance, Le lait, Composition et propriétés du lait de vache. URL : <http://ciriha.org/index.php/allergies-et-intolerances-2/le-lait/composition-et-proprietes-du-lait-de-vache> . Consulté le 24 avril 2021.

Collège Saint André Colmar., 2021. Test d'orientation pour identification bactérienne Test Catalase, Fiche pratique. URL : https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjxy6u_qdfxAhWYA2MBHQ1mBYUQFjACegQIDxAD&url=https%3A%2F%2Fwww.ac-strasbourg.fr%2Ffileadmin%2Fpedagogie%2Fbiotechnologies%2FEnseignement_technologique%2FFilieres_prebac%2FSTL_Biotechnologies%2F2.FP_test_calatase_et_oxydase.docx&usg=AOvVaw1HtJsDdsYbxuEYjH0I4gwS . Consulté le 21 mai 2021.

Cudec., 2017. Université Libre de Bruxelles, Le lait. URL : <https://www2.ulb.ac.be/sciences/cudec/LaitComposition.html> Consulté le 27 avril 2021.

FAO., 2021. Produits, La composition du lait. URL : <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/la-composition-du-lait/fr/> . Consulté le 20 avril 2021.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Jafar, k .,** 2015, Shows the Api Staph system for the identification of Staphylococcus aureus in :Isolation of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from Rattus rattus from Adhamiyah district in Baghdad governorate. URL : https://www.researchgate.net/figure/Shows-the-Api-Staph-system-for-the-identification-of-Staphylococcus-aureus_fig3_294736929 . Consulté le 23 mai 2021.
- Konig, C.,** 2015. Gram plus et moins, Futura Santé, URL : <https://www.futura-sciences.com/sante/dossiers/medecine-bacteries-microbes-tout-genre-704/page/3/> Consulté le 10 mai 2021.
- Murphy, S.C et Boor, K.J.,** 2010. Sources and Causes of High Bacteria Counts in Raw Milk : An Abbreviated Review. URL : <http://www.extension.org/pages/11811/sources-and-causes-of-high-bacteria-counts-in-raw-milk:-an-abbreviated-review> Consulté le 23 avril 2021.
- Pro-Lab Diagnostics.,** 2012. Coloration gram(Réservé à l'usage diagnostic in vitro). URL : https://www.pro-lab.com/wp-content/uploads/2016/11/Stains_Grams_French.pdf .Consulté le 18 mai 2021.
- Sciensano.,** 2018. Brucellose. Fiche informative, URL : <https://www.wiv-isp.be/matra/fiches/brucellose.pdf> . Consulté le 30 avril 2021.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1: Tables de Mac Grady

<i>2 tubes par dilution</i>		<i>3 tubes par dilution</i>					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

Annexe 2 : Tableau de lecture de la galerie api-Staph.

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

Annexe 3 : Extrait du journal officiel de la république Algérienne (N°35 datant 27 mai 1998)

Germes recherchés	n	c	m
Germes aérobies à 30°C	1	-	10 ⁵
Coliformes fécaux	1	-	10 ³
Streptocoques fécaux	1	-	Absence /0.1ml
Staphylococcus aureus	1	-	Absence
Clostridium Sulfito-Réducteurs à 46°C	1	-	50
antibiotiques	1	-	absence

n : nombre d'unités d'échantillonnages du produit examiné
m : nombre de germes présents dans un gramme ou un millilitre de produit analysé (25g pour salmonelles) ;
c'est le seuil en dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante
M : nombre de germes présents dans un gramme ou un millilitre de produit analysé (25g pour salmonelles) ;
il correspond à la valeur dessus de laquelle la qualité du produit est considérée comme inacceptable.
c : nombre maximal d'unités d'échantillonnage de produit analysé qui peut dépasser « m » tout en étant inférieur à « M » sans que le lot soit rejeté