



*République Algérienne Démocratique Et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR –KHENCHELA-**

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

*Département de biologie moléculaire et cellulaire*

## **MEMOIRE**

*Présenté Pour l'obtention du Diplôme de*

## **MASTER**

**FILIERE : Biologie Moléculaire et Cellulaire**

**OPTION : Microbiologie**

### **Thème**

**Evaluation de la qualité microbiologique du lait  
pasteurisé à Khenchela**

**Présenté par**

**HASSAD Narimene**

**GUEBBOUDJ Wided**

**Soutenu le :14/06/2015**

### **Jury de soutenance**

**Président : Mr THABET Rachid MAA Université Abbes Laghrou –Khenchela**

**Rapporteur : Mr BOUSSAA Abdalhalim MAB Université Abbes Laghrou –Khenchela**

**Examineur : Melle BOUTARFA Soumia MAB Université Abbes Laghrou –  
Khenchela**

**Promotion : juin -2015**



## *Remerciements*

*Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné le courage, la force, la santé et la persistance.*

*Nous remercions notre Rapporteur BOUSSAA Abdelhalim pour l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.*

*A Mme CHORFI Leila, nous adressons nos remerciements les plus sincères pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce jury.*

*A Melle BOUTARFA Soumia , qui nous avons fait l'honneur de bien vouloir accepter de juger ce travail.*

*Au personnel des laboratoires pédagogiques, surtout MAJDA, qui ont contribué à créer une ambiance de travail stimulante.*

*Enfin, nous remercions, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

*Dédicace*

*Grace Allah ...*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes parents :*

*\*Ma chère mère, pour l'affection et l'amour qui m'ont donné le courage et la force dans les moments les plus difficiles.*

*\*Mon père, pour son soutien moral et ses conseils les plus précieux qui m'ont servi dans ma vie et son encouragement sans limite. Vous resterez à jamais dans mon cœur. \**

*\*A mes chères sœurs : Hayet , Nabila ,Hiba ,Wided .*

*\*A mes chers frères : Morad ,Sabri ,Hichem ,Kamel .*

*\*A mes neveux et nièces :Sohaib,Yanis,Ritaje ,Rayen ,Siraj , Adem ,Mounib ,Alaa ,Amir .*

*\*\*\* A toute la famille Hassad .*

*\*A mon binome Wided d'avoir eu le courage d'achever ce travail malgré tout ce qu'elle a enduré.*

*\*A tous mes amis et particulièrement à Zizou qui est tout le temp proche de moi, à Rayene . Sarah ,Chahrazed ,Rihanna , Houda , Souhila ,Soumia , je suis très heureuse de ces années passées avec vous des liens créés et de nouvelles amitiés, ainsi que pour tous les moments passés ensemble et ceux encore à venir .*

*Narimene .*

*Dédicaces*

*Grace Allah ...*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de  
mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et  
source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour  
me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi*

*Mon père.*

*A mes chères frères et Khaled, Hichem, Saber et Ali*

*A toute ma famille*

*A tous les collègues de la promotion*

*A mon Binôme « Narimene » qui a partagée avec moi les moments difficiles*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour,*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient*

*toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon*

*chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude,*

*et frères de cœur, Wissam, Khadidja Meryem, Hayam, et Afaf*

*A mes amis de l'enfance Saoucene et chams al houda*

*Wided .*

# SOMMAIRE

*Dédicace*

*Remerciements*

*Liste des abréviations.....I*

*Liste des tableaux .....II*

*Liste des figures.....III*

*Résumé*

**Introduction.....2**

**Synthèse bibliographique.....3**

**Chapitre I : Généralité sur le lait.....4**

**I.1.définition du Lait .....4**

**I.2. Composition du lait.....4**

**2.1. Les glucides.....4**

**2.2. Les lipides.....4**

**2.3. Les protéines.....6**

**2.4. Les minéraux.....7**

**2.5. Les vitamines.....7**

**I.3. Les caractéristiques microbiologique du lait.....8**

**I.3.1 flore originelle.....8**

**3.2.1 Source de contamination / Ensemencement.....10**

**I.3.2. flore de contamination.....10**

**I.4. Le contrôle bactériologique du lait.....10**

**I.4.1. flore totale aérobie mésophile.....10**

**I.4.2. flore psychrotrophe.....11**

**I.4.3. flore thermorésistante.....12**

**I.4.4. Coliformes.....13**



I.4.5. Les streptocoques fécaux.....	13
I.4.6. Flore pathogène.....	14
I.4.7. Les salmonelles.....	14
I.4.5. Staphylocoque Fécaux.....	15
<b>Chapitre II : La qualité microbiologique du lait.....</b>	<b>16</b>
I. Définition.....	18
I.1. La qualité.....	18
I.2. La qualité microbiologique.....	18
II. Contamination de la qualité microbiologique du lait.....	19
II.1 Les bactéries non lactique de contamination.....	19
II.2. Flore originelle.....	19
II. Flore de contamination.....	20
II.1. Contamination du lait cru.....	21
II.1.1. Contamination par l’animal.....	21
II.1.2. Contamination au cours de la traite.....	22
II.1.3. Contamination au cours du transport.....	22
<b>Chapitre III : Fabrication du lait.....</b>	<b>23</b>
I.1. Le lait pasteurisé.....	24
I.2. le lait reconstitué .....	24
I.2.1. Définition.....	25
II.3. Matière première.....	25
II.3.1. le lait en poudre.....	25
II.3.2. Les matières grasses.....	26
II.3.3. L’eau de reconstitution.....	27
II.3.4. Les additifs.....	27
III. Atelier de recombinaison et de recombinaison.....	27
III.1. Traitement de l’eau.....	27

<b>III.2.</b> Température.....	28
<b>III.3.</b> Inclusion de la poudre écrémée.....	28
<b>III.4.</b> Agitation et recyclage.....	28
<b>III.5.</b> Thermisation.....	29
<b>III.6.</b> Dégazage.....	29
<b>III.7.</b> L'homogénéisation.....	29
<b>III.8.</b> Thermisation secondaire et refroidissement.....	29
<b><i>Etude Expérimentale</i></b> .....	<b>30</b>
<b>I. Matériel et Méthode :</b> .....	<b>31</b>
<b>I.1.</b> Matériels.....	31
<b>I.1.1.</b> Matériel de laboratoire.....	31
<b>I.1.2.</b> Verreries.....	31
<b>I.2.3.</b> Matériel biologique.....	32
<b>II. Méthode</b> .....	<b>33</b>
<b>II.1.</b> Echantillonnage.....	33
<b>II.2.</b> Préparation de l'échantillon.....	34
<b>II.2.1.</b> Dilutions décimales.....	34
<b>III.</b> Analyse d'échantillon du lait pasteurisé.....	35
<b>III.1.</b> Dénombrement de la flore aérobie mésophile.....	35
<b>III.2.</b> Dénombrement des entérobactéries.....	36
<b>III.3.</b> Dénombrement des coliformes totaux.....	36
<b>III.4.</b> Dénombrement des coliformes fécaux.....	36
<b>III.5.</b> Dénombrement des staphylocoques.....	37
<b>III.6.</b> La recherche des salmonelles.....	37
<b>III.7.</b> La recherche des CSR.....	37
<b>III.8.</b> Dénombrement des streptocoques fécaux.....	38
<b>III.9.</b> Dénombrement des levures et moisissures.....	38

<b>Résultats et discussion</b> :.....	<b>39</b>
<b>I.1.</b> La flore aérobie mésophile.....	<b>40</b>
<b>I.1.1.</b> Analyse statistique de la flore aérobie mésophile.....	<b>41</b>
<b>I.2.</b> Les Entérobactéries .....	<b>42</b>
<b>I.3.</b> Les coliformes totaux et thermo tolérants.....	<b>42</b>
<b>I.4.</b> Les staphylocoques.....	<b>42</b>
<b>I.4.1.</b> Analyse statistique des staphylocoques.....	<b>45</b>
<b>I.5.</b> Les salmonelle.....	<b>46</b>
<b>I.6.</b> Les CSR.....	<b>46</b>
<b>I.7.</b> Les Streptocoques.....	<b>48</b>
<b>I.8.</b> Les levure et moisissures.....	<b>49</b>
<b>I.6.1.</b> Analyse statistique des levures et moisissures .....	<b>49</b>
<b>Conclusion générale</b> .....	<b>54</b>
<b>Références bibliographique</b> .....	<b>56</b>

*Annexe*

## Liste des abréviations :

- °C : degré Celsius
- % : pour cent
- **mg** : milligramme
- **ml** : millilitre
- **g** : gramme
- **h** : heure
- **min** : minute
- **s** : seconde
- **g/l** : gramme par litre
- **FTAM** : flore totale aérobie mésophile
- *S. aureus* : *staphylococcus aureus*
- **CT** : coliforme totaux
- **CTT** : coliforme totaux thermo tolérant
- **CSR** : clostridium sulfite reducteur
- **J** : jour
- **VRBL** : milieu lactose biliée au cristal violet rouge neutre
- **VRBG** : violet red bile glucose
- **OGA** : gélose glucose a l'oxytétracycline
- **UFC** : unité formant une colonie
- **HSD** : honestly significat difference
- **ANOVA** : Analysis of variance

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : distribution des principaux acides gras du lait de vache.....	<b>05</b>
<b>Tableau II</b> : composition moyenne de distribution des protéines du lait de vache.....	<b>06</b>
<b>Tableau III</b> : concentration des minéraux et de vitamines dans le lait.....	<b>07</b>
<b>Tableau IV</b> : principaux groupe bactérien du lait.....	<b>08</b>
<b>Tableau V</b> : résultat de dénombrement de la FTAM.....	<b>40</b>
<b>Tableau VI</b> : résultat de l'analyse statistique de la FTAM.....	<b>41</b>
<b>Tableau VII</b> : résultat de dénombrement des entérobactéries.....	<b>42</b>
<b>Tableau VIII</b> : résultat de dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants....	<b>43</b>
<b>Tableau IX</b> : résultat de dénombrement des staphylocoques.....	<b>45</b>
<b>Tableau X</b> : résultat de l'analyse statistique des staphylocoques.....	<b>45</b>
<b>Tableau XI</b> : résultat de dénombrement des Salmonelles.....	<b>47</b>
<b>Tableau XII</b> : résultat de dénombrement de CSR.....	<b>47</b>
<b>Tableau XIII</b> : résultat de dénombrement des streptocoques fécaux.....	<b>48</b>
<b>Tableau XIV</b> : résultat de dénombrement des levures et moisissures.....	<b>50</b>
<b>Tableau XV</b> : résultat de l'analyse statistique des levures et moisissures .....	<b>50</b>

## Liste des figures et des photos

<b>Figure 1</b> : source de contamination du lait .....	<b>10</b>
<b>Photo 02</b> : Un bain marie.....	<b>31</b>
<b>Photo 03</b> : Les milieux de culture solides.....	<b>32</b>
<b>Photo 04</b> : La représentation des deux marques le lait .....	<b>33</b>
<b>Photo 05</b> : les dilutions décimales.....	<b>34</b>
<b>Photo 06</b> : Le dénombrement de la FTAM.....	<b>42</b>
<b>Photo 07</b> : Le dénombrement des entérobactéries.....	<b>43</b>
<b>Photo 08</b> : Le dénombrement des Coliformes fécaux.....	<b>44</b>
<b>Photo 09</b> : Le dénombrement des staphylocoques .....	<b>46</b>
<b>Photo 10</b> : Le dénombrement de CSR.....	<b>48</b>
<b>Photo 11</b> : Le dénombrement de Streptocoque fécaux.....	<b>49</b>
<b>Photo 12</b> : Le dénombrement des levures et moisissures.....	<b>50</b>

### Résumé

Le lait est considéré comme le produit alimentaire le plus consommé en Algérie. La qualité du lait concerne sa faculté de conservation et son aptitude à être transformé avec un bon rendement en dérivés sains, savoureux et de haute valeur nutritionnelle.

L'objectif de l'étude consiste à évaluer la qualité microbiologique des deux marques de lait pasteurisé partiellement écrémé ( Rmila et Athmani) produit localement, dans la région de Khenchela. Au total 06 échantillons de laits ont été prélevés pour l'analyse microbiologique. La contamination moyenne de la flore totale est de  $233.3 \times 10^5 \pm 76.4 \times 10^5$  UFC/ml et  $4,6 \times 10^4 \pm 1,5 \times 10^4$  UFC/ml pour le lait de marque Rmila et Athmani successivement.

D'autre part, les échantillons des deux marques de lait ont une charge considérable en levures moisissures avec une moyenne de  $50 \times 10^2$  UFC/ml pour le lait Rmila, et  $26,28 \times 10^2$  UFC/ml pour le lait de la marque Athmani. Il n'y a pas de différence significative détectée entre les deux marques de lait. En outre, Les résultats ont montré l'absence totale de tous microorganismes pathogènes, sauf que le lait Athmani est légèrement contaminé avec le genre staphylococcus. L'absence de tous microorganismes pathogènes dans tous les échantillons de lait pasteurisé fabriqué à Khenchela reflète bien le respect des conditions d'hygiène lors de la production.

**Mots-clés** : lait pasteurisé, qualité microbiologique, Khenchela .

### **Abstract:**

Milk is considered the most consumed food in Algeria. The quality of milk concern its conservation faculty and ability to be transformed with a good yield to healthy, tasty and high nutritional value derivatives. The objective of the study is to assess the microbiological quality of the two brands partly skimmed pasteurized milk (Rmila and Athmani) produced locally in Khenchela. In total, six milk samples were taken for microbiological analysis.

The average contamination of the total flora is  $233,3 \times 10^5$  UFC / ml and  $46,66 \times 10^3$  UFC / ml for both brands (Rmila and Athmani) successively.

The results showed a high number of fungal flora, in all samples with an average  $50 \times 10^2$  UFC / ml for Rmila milk and  $26,28 \times 10^2$  UFC / ml for Athmani milk. No significant difference is detected between the two brands. Both brands are free of pathogenic microorganisms except the brand Athmani that is contaminated with *Staphylococcus* genus. The absence of all pathogens in all samples of both Rmila and Athmani milk reflect the respect of hygiene practices during production and conservation.

**Keywords:** pasteurized milk, microbiological quality, Khenchela,

### ملخص

يعتبر الحليب الغذاء الأكثر استهلاكاً في الجزائر. نوعية الحليب تتمثل في قدرته على الحفظ و أن يتحول الى مشتقات جيدة و صحية ولذيذة و ذات قيمة غذائية عالية. والهدف من هذه الدراسة هو تقييم الجودة الميكروبيولوجية للاثنين من العلامات التجارية للحليب المبستر منزوع الدسم جزئياً ( Rmila وAthmani) التي تم انتاجهما محلياً في منطقة خنشلة.

6 في مجموع العينات من الحليب اتخذت للتحليل الميكروبيولوجي. متوسط التلوث الإجمالي بالفلورة الهوائية المعتدلة تبلغ  $233.3 \times 10^5$  UFC / مل للعلامة التجارية Rmila  $4,6 \times 10^4$  UFC / مل بالنسبة لحليب Athmani, اما بالنسبة للتلوث بالخمائر تبين ان العلامتين Athmani, Rmila ملوثة بالخمائر والعفن مع المتوسط  $10^2$  UFC / مل و  $26.28 \times 10^2$  UFC / مل.

كل من العلامات التجارية خالية من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض إلا ان العلامة التجارية (Athmani) ملوثة بجنس المكورات العنقودية.

رداءة نوعية الحليب تعكس ظروف سيئة في الإنتاج وعدم مراعاة الممارسات الصحية الجيدة أثناء الإنتاج و الحفظ.

**كلمات البحث:** الحليب المبستر ، والجودة الميكروبيولوجية ، والكائنات الدقيقة المسببة للأمراض .

# *Introduction*

## Introduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an (**Kirat, 2007**).

Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière Lait connaît une croissance annuelle de 8%. Avec un taux de collecte inférieur à 15%, cette filière reste, cependant, fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (**Silait, 2008**).

Le lait est un excellent milieu de croissance pour les microorganismes et leur nombre peut augmenter rapidement dans le lait si les conditions de production et d'entreposage ne sont pas bien contrôlées. Toutefois, et malgré les traitements thermiques la qualité du lait pasteurisé et sa durée de vie sont limitées par le développement des populations microbiennes de contamination. Le lait mérite bien l'intérêt de tout le monde puisqu'il est introduit dans les habitudes alimentaires de tous les membres de la famille. (**Silait, 2008**).

Actuellement, le lait pasteurisé a sa place à tous les moments de la journée d'où l'intérêt du consommateur d'avoir un lait de haute qualité.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude. Elle se donne comme objectif d'évaluer le degré de contamination microbiologique du lait pasteurisé.

Notre recherche concernera les germes témoins de défaut d'hygiène : flore totale, flore psychrotrophe, flore thermorésistante, coliformes totaux, coliformes fécaux, *Escherichia coli* et streptocoques fécaux, ainsi que les germes pathogènes : *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*.

Pour ce faire notre étude est divisée en deux parties :

- Une synthèse bibliographique : subdivisée en trois chapitres, à savoir, généralité sur le lait, la fabrication du lait pasteurisé, et la qualité du lait pasteurisé.
- Une partie pratique : subdivisée en matériel et méthodes, résultats et discussion, et une conclusion.

# Chapitre I

## *Généralité sur le lait*



### I. Définition du lait

Le lait est un liquide alimentaire, opaque blanc mat, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre, à l'odeur peu marquée et au goût douceâtre, sécrété, après parturition par la glande mammaire des animaux mammifères femelles, pour nourrir leur(s) nouveau né(s). (**Marcel Mazyoyer., 2007**) .

#### I. 1. Le lait dans l'alimentation humaine

Le lait est un élément essentiel de la nutrition humaine. Il est une source très essentielle de Ca, P, de la riboflavine, la vitamine B12, et une grande majorité de protéine, sucre, lipides de qualité, avec tous ces éléments nutritifs exige sa nécessité en matière de nutrition humaine (**Kaan-Tekinsen et al., 2007**).

#### 2. Composition du lait

Le lait ayant des caractéristique communes (composé d'eau, de matière grasse, de lactose de caséines et autres protéines, de sels minéraux, notamment de calcium, et des vitamines), Mais son composition varie, qualitativement et quantitativement, selon les espèces, Le lait est un aliment complet répondant aux besoins physiologique du nouveau né. (**Marcel Mazyoyer., 2007**)

##### 2. 1. Les glucides

Le lactose, présent en quantités importantes. Sa faible contribution à l'apport énergétique du lait (30 %), ne fait pas de ce dernier un aliment équilibré en termes de répartition calorique. Le lait contient une cinquantaine d'oligosaccharides bien répertoriés présents à l'état libre, mais en quantités souvent négligeables (0,1 g/litre). ( **Fao, 1998** )

##### 2. 2. Les lipides

Les lipides est présente dans le lait sous forme de petits globules suspendus dans l'eau. Chaque globule est entouré par une couche de phospholipides. Tant que cette structure reste intacte, la matière grasse reste sous forme d'émulsion. Cependant, la destruction de cette structure provoque l'agglutination des globules gras et leur "montée" à la surface du lait pour former une couche de crème. (**Michel A. et Wattiaux, 2000**).

De tous les composants du lait de vache, les lipides sont ceux qui, quantitativement et qualitativement, varient le plus (**Tableau I**). Les taux moyens précisés dans la littérature (33 g/litre) peuvent être retenus en pratique industrielle lorsque le lait est un mélange provenant de plusieurs animaux. (**Fao, 1998**).

**Tableau I** : Distribution des principaux acides gras du lait de vache(%) : (**Fao, 1998**)

<b>Acide Gras</b>	<b>Moyenne</b>	
<b>Saturés</b>	Butyrique	3.6
	Caproïque	2.3
	Caprylique	1.3
	Caprique	2.7
	Laurique	3.3
	Myristique	10.7
	Pentadéconoïque	1.2
	Palmitique	27.6
	stéarique	10.1
	Arachidique	0.2
<b>Monoinsaturés</b>	Myristoléique	1.4
	Palmitoléique	2.6
	Oléique	26.0
<b>Polyinsaturés</b>	Linoléique	2.5
	Linoléinique	1.4
	Arachidonique	0.3
	Diène	0.8
	Polyénes	Traces

### 2. 3. Les protéines

Le lait constitue une importante source de protéines pour l'homme, en particulier pour l'enfant. Sa teneur en protéines est par voie de conséquence une caractéristique essentielle de sa valeur marchande. **(Hamama, 2002)**

Les protéines (32,7 g/L), parmi lesquelles la caséine, les protéines solubles (albumines et globulines) soit 19 %, et des protéines diverses (enzymes) soit 1% en constituent la fraction essentielle. Pendant la lactation, la glande mammaire a un grand besoin en acides aminés pour la synthèse des protéines du lait. La majorité des acides aminés absorbés par la glande mammaire sont utilisés pour la synthèse des protéines du lait. **(Michel et Wattiaux, 2000).**

Les caséines forment facilement des polymères contenant des molécules de type identique ou différent. Ils sont constitués de milliers de molécules individuelles et forment une solution colloïdale, qui donne au lait écrémé sa teinte bleue blanchâtre **(Tableau II). (Gosta, 2000).**

**Tableau II:** Composition moyenne et distribution des protéines du lait de vache **(Fao, 1998).**

<b>Protéines</b>	<b>Moyennes absolues (g/litre)</b>	<b>Moyennes relatives (%)</b>
<b>Matières azotées Totales</b>	34	100
<b>Protéines</b>	32	94
<b>Protéines non solubles</b>	26	82
<b>Caséine <math>\alpha</math>S1</b>	12.0	46
<b>Caséine <math>\alpha</math>S2</b>	9.0	35
<b>Caséine <math>\beta</math></b>	35	13
<b>Caséine K</b>	15	6
<b>Protéines solubles</b>	6	18
<b><math>\alpha</math> -lactoglobuline</b>	2.7	45
<b><math>\beta</math> -lactoglobuline</b>	15	25
<b>Sérumalbumine</b>	0.3	5
<b>Globuline immunes</b>	0.7	12

### 2. 4. Les minéraux

Le lait est une excellente source de minéraux nécessaires pour la croissance du jeune. La digestibilité du calcium et du phosphore est exceptionnellement élevée dans le lait, en partie parce qu'ils se trouvent en association avec la caséine. Ainsi, le lait est la meilleure source de calcium pour la croissance du squelette du jeune et le maintien de l'intégrité des os chez l'adulte. Le fer présente une situation particulière. Il est en quantité insuffisante dans le lait pour couvrir les besoins du jeune; cependant, sa faible concentration permet d'y limiter la croissance bactérienne (**Tableau III**) (**Michel et Wattiaux, 2000**).

### 2. 5. Les vitamines

Le lait de vache constitue une source alimentaire importante de riboflavine (Vitamine B2) pour l'homme. Elle s'y trouve à l'état libre ou associée à des protéines et des phosphates à la surface des globules gras. Cette vitamine intervient dans les phénomènes d'oxydoréduction et peut entraîner la destruction de la vitamine C avec apparition de saveurs désagréables. Elle est très photosensible et, après quelques heures d'exposition au soleil, le lait peut avoir perdu entre 50 et 80 % de son activité vitaminique B2 (**Tableau III**), (**Fao, 1998**).

**Tableau III:** Concentration de minéraux et vitamines dans le lait (mg/100 ml) (**Michel et Wattiaux, 2000**).

<b>Minérales</b>	<b>Concentration</b> mg/100 ml	<b>Vitamine</b>	<b>Concentration</b> mg/ 100 ml
<b>Potassium</b>	138	<b>Vitamine A</b>	30.0
<b>Calcium</b>	125	<b>Vitamine D</b>	0.06
<b>Chlore</b>	103	<b>Vitamine E</b>	88.0
<b>Phosphore</b>	96	<b>Vitamine K</b>	17.0
<b>Sodium</b>	58	<b>Vitamine B1</b>	37.0
<b>Soufre</b>	30	<b>Vitamine B2</b>	180.0
<b>Magnésium</b>	12	<b>Vitamine B6</b>	46.0
<b>Micro-minéraux</b>	<0.1	<b>Vitamine B12</b>	0.42
		<b>Vitamine C</b>	1.7

### 3. Les caractéristiques microbiologiques de lait :

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. De ce fait on trouve que le lait comporte une flore originelle et une flore de contamination. (Guiraud, 2003)

#### 3. 1. Flore originelle

Le lait contient peu de Microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 103germes /ml). Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles (Guiraud, 2003).

Des germes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire peuvent être présents lorsque le lait est issu d'un animal malade (*Streptocoque pyogène, carnobactéries pyogènes, desstaphylocoques*) qui sont des agents des mammites et peut s'agir aussi de germes d'infection générale Salmonella, Brucella, et exceptionnellement *listeria monocytogene, mycobactérie, Bacillus anthracis* et quelque virus (Guiraud, 2003).

#### 3.2. Flore de contamination

Le lait peut se contaminer par des apports microbiens divers :

- Fèces et téguments de l'animal : *Coliformes, Entérocoques Clostridium, Salmonella.*
- Sol : *Streptomyces, Listeria*, bactéries sporulés, spores fongiques.
- L'air et l'eau : Flores diverses, bactéries sporulés (**Tableau IV**) (Guiraud, 2003).

**Tableau IV:** Les principaux groupes bactériens du lait (Alais, 1984).

	Groupes	Caractères
<b>-Bacteries «Gram +»</b>	1-bactéries lactiques	Activité biologique : fermentation du lactose
	2-Microcoques	* Flore banale de contamination du lait *Activité enzymatique réduite
	3-Staphylocoques	*Anaérobies facultatifs, fermentent le lactose exemple

		<p>: <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>*Développement dans le lait à 15°C pendant plusieurs heures</p>
	4-Bacillaceae.	<p>*Mésophiles, inhibées à 45°C,</p> <p>* Absentes dans le lait crus et les produits laitiers qui n'ont pas été chauffés,</p> <p>*Responsables des altérations des laits insuffisamment stérilisés.</p>
<b>-Bactéries « Gram-»</b>	1-Entérobactéries.	<p>*Des coliformes, fermentent le lactose</p> <p>*Leur présence est lié à une contamination fécale *Moins abondantes dans le lait par rapport à d'autres Gram (-),</p> <p>*Ces espèces résistent aux antibiotiques, se développent à des températures très différentes.</p>
	2-Achromobactériaceae	<p>*Ces microorganismes forment l'essentiel de la flore psychrotrophe</p> <p>* Ne fermentent pas les sucres.</p>
	3- Bactéries divers.	<p>Les plus importantes <i>Pseudomonas</i> véhiculées par les eaux non potables et <i>brucella</i> pathogènes.</p>

### 3.2.1. Sources de contamination/d'ensemencement du lait

La figure ci-dessous schématise les principales sources de contamination/d'ensemencement

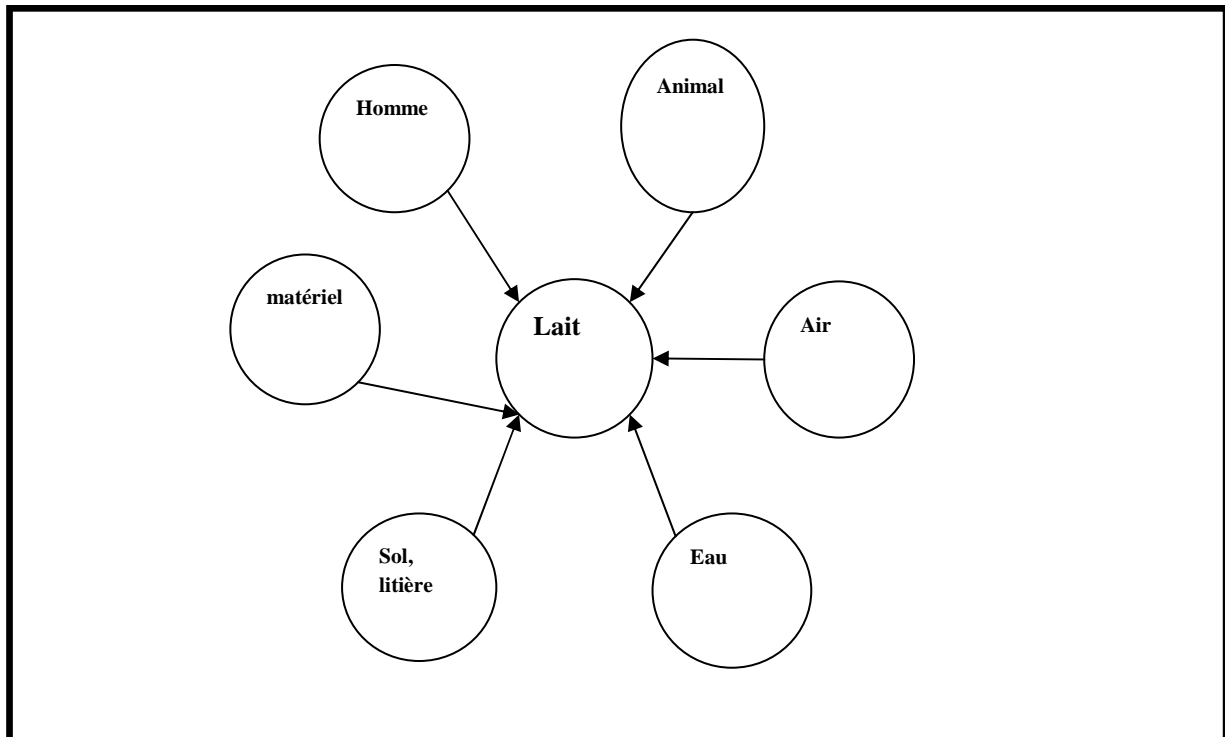


figure 1 : sources de contamination du lait (Guiraud et Rosec, 2004)

## 4. Contrôle bactériologique du lait

L'appréciation de la qualité bactériologique du lait cru consiste en la recherche des germes pathogènes, des germes utiles et des germes nuisible à la conservation. Ces micro-organismes peuvent proliférer dans le lait qui constitue un excellent milieu de culture. Selon l'intérêt de l'étude, on oriente donc notre recherche. Dans ce cas précis, on s'intéresse aux germes pathogènes et aux germes indésirables qui génèrent des problèmes de transformation fromagère et qui peuvent être gênants pour le consommateur. (Guiraud et Rosec, 2004)

### 4.1. Flore mésophile aérobie totale

La flore mésophile aérobie totale 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 (altération) 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).

Les germes responsables des défauts de fabrication Il s'agit principalement de psychrotrophes et de thermorésistants. Ces deux types de germes entraînent des défauts organoleptiques.

### 4.2. 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**).

Ces bactéries appartiennent à certains genres : *Pseudomonas* (*Ps. fluorescens*, *Ps. putrefaciens...*), *Alcaligenes* (*A. viscolactis*, *A. tolerans...*), *Flavobacterium* (*F. lactis*, *F. malodosis*), ainsi que des entérobactéries des genres *Enterobacter*, *Serratia* et *Hafnia*. Les espèces bactériennes Gram positif, sont moins fréquentes.

On rencontre notamment des *Bacillus* et des *Clostridium* (**Auclair, 1979**). Les bactéries lactiques sont largement représentées au sein du groupe des psychrotrophes. Ce sont des bacilles ou des cocci à Gram positif, non sporulés, dépourvus de catalase, produisant de l'acide lactique selon un métabolisme homo ou hétéro-fermentaire.

Les lactobacilles présentent une activité jusqu'à une température de +2°C ( **Bornert, 2000**).

Selon **Schultz, (1958)** cité par **Dehkal, (1982)**, 90% des souches psychrotrophes sont, soit lipolytiques, soit protéolytiques, 60% possèdent ces deux caractères. Les protéases extracellulaires de ces bactéries sont, sans doute, les enzymes qui ont été les plus étudiées. Il s'agirait, pour la plupart, de métalloprotéases (inhibition par des agents chélateurs). Elles résistent remarquablement à haute température.

Cependant, certaines d'entre elles ont un minimum de stabilité au voisinage de 55°C (**Auclair, 1979**). Leur action peut se manifester dans le lait cru, car elles sont produites dès le début de la phase de croissance, elle est particulièrement importante à basse température. Chez *Ps. fluorescens*, par exemple, l'élaboration d'enzyme est six fois plus forte à 3°C qu'à 28°C (**Lenoir et al., 1974**) (**Auclair et Lenoir, 1980**).

Une activité lipasique extracellulaire a été trouvée dans la plupart des bactéries psychrotrophes, et des défauts des produits laitiers reliés à cette activité ont été reconnus. Il s'agit d'abord de la rancidité due à l'hydrolyse des triglycérides et à l'apparition d'acides gras libres et

occasionnellement de défauts dus à la formation de composés carbonylés et d'autres produits volatils (**Bourgeois et al., 1996**).

Certaines lipases sont inactivées entre 52,5°C et 57,5°C, mais les lipases de la plupart des bactéries psychrotrophes sont thermostables. Ainsi, l'enzyme de *Pseudomonas fragi* n'est complètement inactivée qu'après un chauffage de 100°C pendant 3mn, celle d'*Achromobacter lipoliticum* exige un traitement de 99°C durant 40 mn (**Lenoir et al., 1974**).

### 4.3. Flore thermorésistante

Un certain nombre de bactéries sont capables de résister aux traitements thermiques usuels utilisés dans le but d'assainir ou de conserver le lait. Elles sont dites thermorésistantes (**Guiraud, 2003**). Leur développement ultérieur peut altérer les produits et, parfois, être dangereux pour la santé. On distingue:

- La flore thermorésistante totale, définie comme la flore résiduelle après un traitement à 63°C pendant 30 minutes ou un traitement équivalent tel que la pasteurisation HTST (High Temperature Short Time) 72 °C pendant 15 secondes).
- La flore moyennement thermorésistante, qui n'est pas détruite par chauffage à 75°C pendant 12 secondes.
- La flore fortement thermorésistante, qui n'est pas détruite par chauffage à 80°C pendant 10 minutes. Elle comprend notamment des spores bactériennes, dont beaucoup nécessitent des températures supérieures à 100°C pour être inactivées (**FAO, 1995**).
- Les spores butyriques en sont un exemple. En effet, ils germent lors de l'affinage des fromages et provoquent des fermentations à l'origine de la formation de gaz (CO<sub>2</sub> et hydrogène) qui font gonfler, voire éclater certains fromages à pâte cuite (**Cauty et Perreau, 2009**). Cette flore est apportée dans le lait par le sol, les ensilages, les fèces et les résidus dus à l'insuffisance de nettoyage et de désinfection des matériels en contact avec le lait (**Mourgues et al ., 1983**).
- Au même titre que les coliformes, elle est une bonne indicatrice de l'hygiène de la machine à traire (**Institut de l'élevage, 2009**). **Mourgues et Auclair (1973)**, ont démontré qu'en l'absence de toute recontamination post-pasteurisation, la durée de conservation du lait pasteurisé est limitée par des bactéries provenant du lait cru, donc thermorésistantes.

### 4.4. 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 dès 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. En fabrication fromagère, on rencontre les colibactéries surtout en tant qu'agent causal du défaut «mille trous». Ceci pouvant être dû soit à une contamination excessive du lait, soit à un stockage du lait à une température trop élevée ou encore à une mauvaise acidification due à la présence de substances inhibitrices (Jakob et Winkler, 2009).
- Le contrôle d'*E. coli* s'effectue au cours du processus de fabrication. Pour les fromages à pâte mi-dure, le contrôle se fait dans le fromage avant saumurage. En ce qui concerne les fromages au lait cru ou partiellement thermisés, le contrôle s'effectue dans le fromage après saumurage et pour les fromages à pâte molle au lait thermisé ou pasteurisé, il se fait sur produit fini avant commercialisation (Jakob *et al.*, 2009).

### 4.5. Streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux (*Enterococcus* ou *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) 28 Gray, 1997). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains (Olivieri, 1982), à des concentrations variant de 10<sup>5</sup> à 10<sup>8</sup> bactéries/g (Gleeson et Gray, 1997) (Edberg *et al.*, 2000) (Hancock et Gilmore, 2000).

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)). Ces espèces colonisent les intestins du bétail, des chevaux et de la volaille bien qu'elles puissent parfois être présentes chez l'humain, en particulier *S. bovis* (Ruoff *et al.*, 1989) (Devriese *et al.*, 1998). 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 (Cuq, 2007) et sont, donc selon certains auteurs de meilleurs indicateurs de la qualité hygiénique du lait (Waes, 1973).

Toutefois, ces germes sont moins souvent associés aux germes pathogènes que les coliformes fécaux. Ils ne renferment pas d'espèce considérée pathogène du point de vue alimentaire. Cependant, après prolifération abondante dans l'aliment, ces germes peuvent être à l'origine de toxi infections bénignes qui sont, toutefois, exceptionnelles (Cuq, 2007).

### 4.6. Flore pathogène

L'origine des contaminations par les bactéries pathogènes varie en fonction de la nature du produit et de son mode de production et de transformation. 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 (eaux, personnel) (Brisabois *et al.*, 1997). Parmi ces germes nous avons :

#### 4.6.1. Salmonelles

Ces entérobactéries lactose-, H<sub>2</sub>S + 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 Synthèse Bibliographique 29 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 sec). 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)

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 produit dérivés sont évaluées à environ 15% (Cuq, 2007).

### 4.6.2. Staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococaccae*. 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'entérotoxine 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%).

Chez l'animal et plus particulièrement chez la vache, il est présent sur la peau de la mamelle et des trayons et a, donc, toute la possibilité de coloniser des blessures de trayons et l'intérieur de la mamelle. On qualifie les staphylocoques de germes pathogènes à réservoir mammaire puisque les quartiers infectés, les plaies, les Synthèse Bibliographique 30 gerçures sont les principaux réservoirs et les germes sont transférés dans les trayons sains à l'occasion de la traite. Etant donné son habitat et sa fréquente mise en cause dans les mammites, la présence des staphylocoques dans le lait paraît quasi inévitable. (Cuq, 2007).

L'éleveur devra s'attacher à réduire le niveau de contamination du lait par des pratiques qui visent à réduire le risque d'infection tant sur les trayons qu'à l'intérieur de la mamelle, à éviter toute dissémination des staphylocoques au sein du troupeau et à supprimer tout risque de multiplication au cours du stockage du lait à la ferme Si le lait cru reste la principale source de

contamination des produits laitiers en staphylocoques, il faut préciser que ces germes sont détruits par la pasteurisation. Par contre, ils sont peu gênés par l'acidification des fromages pas plus que par des taux élevés de sel ; par conséquent, la plupart des fromages réunissent, durant les 24 premières heures de fabrication des conditions souvent favorables à la croissance des staphylocoques s'il y en a au départ (**Fatet, 2004**).

Le pouvoir pathogène de certaines espèces de staphylocoques est dû à la production d'une enterotoxine, elle n'est détruite ni par la pasteurisation du lait, ni au cours de l'affinage des fromages. L'entérotoxine staphylococcique étant un métabolite secondaire, sa production nécessite une température minimale de 8-10°C, elle est synthétisée en fin de phase exponentielle et au cours de la phase stationnaire de croissance (**El Atyqy, 2008**).

Le nombre minimum de germes nécessaires à la production de suffisamment de toxine pour provoquer l'empoisonnement est évalué selon les auteurs à 5.10<sup>5</sup> ou 5.10<sup>6</sup> germes/g. Sur un plan pratique, la prévention contre les staphylocoques passe par une bonne prévention des mammites et une attention toute particulière aux trayons (**Cuq, 2007**).

# Chapitre II

## *La qualité microbiologique du lait*

### I. Définition

#### I.1. La qualité d'un produit alimentaire

Au sens de la norme **ISO 8402**, La qualité est l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un service ou d'un produit qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés (organoleptiques) ou implicites (par exemple la sécurité) (**Flaconnet et al., 1994**).

Pour un produit alimentaire, elle peut se décrire par la règle des 4 S (Satisfaction, Sécurité, Service, Santé).

- **Satisfaction** : le produit alimentaire doit satisfaire le consommateur au niveau des sens : aspect, goût, odeur du prix, etc.

- **Service** : dans ce critère, on pense à la praticité d'utilisation du produit, à son type de conditionnement et à son mode de distribution, etc.

- **Santé** : ce critère se traduit par le besoin d'une nourriture plus nature et apparemment plus saine :

- Produits biologiques, sans conservateur, sans pesticide.
- Produits plus riches : produits diététiques, produits enrichis en vitamines et en minéraux, etc.
- **Sécurité** : la sécurité alimentaire se définit comme étant la maîtrise de la santé et de la sécurité du consommateur par :
  - L'absence des contaminants naturels ou exogènes.
  - L'absence de pathogènes.
  - L'absence d'additifs à risque toxique (**Bariller, 1997**).

#### I.2. Qualité microbiologique du lait

La qualité des matières première et des aliments est définie par les contraintes des transformateurs, les attentes des consommateurs et les exigences réglementaires. Les composantes de la qualité sont multiples (**Jeante et al., 2006**).

La qualité hygiénique du lait est étroitement liée aux conditions d'élevage et, en particulier, de niveau d'hygiène des locaux (stabulation, traite, stockage du lait), de l'eau et de l'alimentation et de la traite (**Jeante et al., 2006**).

### II. contamination de la qualité microbiologique du lait

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse.

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement : *entérobactéries*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *microcoques*, *corynébactéries*, *Bacillus*, etc, par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière.

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries, coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (**Leyral et Vierling, 2007**) .

#### II. 1. Les bactéries non lactiques de contamination

Ces bactéries ont deux grands effets indésirables qui sont l'altération du produit et l'effet pathogène pour le consommateur. La flore d'altération, essentiellement mésophile est constituée par les coliformes et la flore aérobie mésophile totale qui dégradent les produits laitiers en altérant le goût, l'odeur, l'aspect, en somme la qualité marchande du produit (**Abdussalam, 1991**) . Il s'agit de microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, avec une grande relation avec la qualité organoleptique de l'aliment, (**Guiraud, 2003**) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (**Varnam et Sutherland, 2001**).

##### II .1.1. la flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (**Cuq, 2007**).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (**Vignola, 2002**).

les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives:

Flore originelle du lait cru (**Vignola, 2002**) Microorganismes Pourcentage (%)  
Micrococcus sp. 30-90.  
Lactobacillus 10-30 .  
Streptococcus ou Lactococcus < 10 .  
Gram négatif <10

### II.1.2 Flore de contamination

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

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement : *entérobactéries, Pseudomonas, Flavobacterium, microcoques, corynébactéries, Bacillus, etc.*, par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière. Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium, d'entérobactéries coliformes* et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella, Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (**Leyral et Vierling, 2007**).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : *Streptococcus pyogenes, Corynebactérium pyogenes, staphylocoques*, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : *Salmonella* ; *Brucella*, agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, agent de la listériose ; *Mycobacterium bovis et tuberculosis*, agents de la tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon ; *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, et quelques virus. Hormis les maladies de la mamelle, le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (**Fao, 1995**).

### II.1.3. Contaminations du lait cru

Au stade de la production La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au mieux dans l'heure qui suit la traite.

Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelques jours) (**Guiraud et Galzy, 1980**).

#### II.1.3. 1. Par l'animal

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

Le canal du trayon est toujours contaminé, même chez un animal sain ; de ce fait, les premiers jets de lait obtenus lors de la traite doivent être éliminés. L'extérieur de la mamelle est toujours chargé en germes ; l'importance de la charge, qui est liée aux conditions de propreté de la stabulation, représente une source de contamination majeure du lait. Un nettoyage correct de la mamelle effectué avant la traite est donc indispensable pour obtenir un lait de bonne qualité microbiologique. Deux méthodes peuvent être conseillées pour y parvenir :

- La première consiste à réaliser un nettoyage à sec du pis à l'aide de serviettes en papier ou en polyester et à usage unique;
- La seconde méthode consiste à laver la mamelle avec une solution désinfectante tiède (chlore: 500 mg/l - iode: 75 mg/l), puis à la sécher avec une serviette propre à usage multiple ou mieux à usage unique (**Boudier et Luquet, 1978**).

La propreté des vaches a un impact significatif sur la santé du pis et en particulier sur le taux de mammites environnementales. Le maintien de la propreté du pis et des membres des vaches permet de diminuer la propagation d'agents pathogènes de l'environnement vers le canal du trayon. Selon la zone de l'animal qui est souillée, on peut déterminer que les lieux dans l'étable où le niveau de propreté est inadéquat et ainsi apporter les correctifs nécessaires (**Levesque, 2004**).

### II.1.3. 2. Au cours de la traite

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

Les groupes microbiens utiles (bactéries lactiques) sont fortement dominants, leurs niveaux étant au moins 100 fois supérieurs à ceux des groupes d'altération ou pathogènes (staphylocoques à coagulase positive).

La propreté du pis (arrière et côtés) est un indicateur de l'hygiène des logettes et de la litière La propreté des pattes arrière est un indicateur de l'hygiène des couloirs La propreté des flancs et des cuisses est un indicateur de l'hygiène des logettes et de la litière Synthèse Bibliographique 18 Dans le lactoduc et l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque que seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents. Les niveaux des flores d'altération sont alors du même ordre de grandeur que ceux des groupes utiles. Pour un même réservoir, des différences de niveaux et de composition microbienne existent et sont liées à la saison ; ainsi, en été, les surfaces des trayons abritent des niveaux moindres de tous les groupes microbiens ; par contre, dans les lactoducs, en été, on extrait des niveaux plus importants de *Pseudomonas* (germes d'altération).

Pour une même saison, des différences de composition microbienne de ces réservoirs existent entre les exploitations : elles sont alors associées aux pratiques mises en œuvre. Ainsi, en hiver, le niveau et la composition de la charge microbienne présente en surface des trayons sont en lien avec la nature des litières et le confinement de l'ambiance (**Lemire, 2007**).

### II.1.3. 3. Au cours du transport

La collecte et le transport se font grâce à des camions-citernes réfrigérés qui récoltent régulièrement le lait dans les fermes. Ils doivent respecter un certain nombre de règles légales afin de livrer un lait de bonne qualité, notamment par le maintien du lait au froid qui a pour but d'arrêter le développement des microorganismes. Il constitue un traitement de stabilisation (**Weber, 1985**).

Une altération de la qualité au cours du transport par une mauvaise réfrigération, peut avoir un impact grave sur la qualité du lait et engendrer des pertes financières importantes (**Jakob et al., 2011**).

# Chapitre III

## *La fabrication du lait*

### I. Fabrication du lait :

#### I.1. Le lait pasteurisé

**Harding, (1995)** évoque que la pasteurisation a pour objectif la destruction de toutes les formes végétatives des micro-organismes pathogènes du lait sans altérer la qualité chimique, physique et organoleptique de ce dernier.

Le lait pasteurisé est fabriqué à partir de lait cru ou de lait reconstitué, écrémé ou non, est un lait qui a subi un traitement thermique (pasteurisation) qui détruit plus de 90 % de la flore (Jusqu'à 98 %) contenue dans le lait (notamment tous les germes pathogènes non sporulés, tels que les germes de la tuberculose et de la brucellose) (**Jean christian, 2001**).

D'après **Jeantet et coll. (2008)**, on distingue trois types de traitements :

- Pasteurisation basse (62-65°C/30min) elle n'est réalisable qu'en batch et est abandonnée en laiterie.
- Pasteurisation haute (71-72°C/15-40s) ou HTST (high temperature short time) elle est réservée aux laits de bonne qualité hygiénique. Au plan organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets. Au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite par contre la peroxydase reste active et les taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines sont faibles. La date limite de consommation (DLC) des laits ayant subi une pasteurisation haute est 7 jours après conditionnement (bouteille en verre ou en carton, polyéthylène ou aluminium).
- Flash pasteurisation (85-90°C/1-2s) : elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne ; la phosphatase et la peroxydase sont détruites.

#### I.2. Le lait reconstitué.

Les usines de reconstitution sont en majorité implantées dans les pays en développement qui grâce à leurs ressources naturelles ont une population dont le pouvoir d'achat et le nombre augmentent rapidement. En outre, dans beaucoup de ces pays des créations d'élevage ont démontré aux responsables locaux qu'il leur en coûterait toujours sensiblement plus cher de produire du lait frais chez eux que d'importer de la poudre pour la reconstitution, même non subventionnée, des nations spécialisées dans l'élevage des vaches laitières. Ceci s'est vérifié aussi bien en Afrique du Nord qu'en Egypte et que dans tout le Moyen-Orient (**Apria, 1980**).

### I.2.1 .Définitions

**Avezard et Lablee ( 1990)**, a défini la reconstitution et la recombinaison comme suit:

- **La recombinaison:** l'opération de recombinaison consiste à mélanger dans une eau convenable les différents composants du lait pour réaliser un produit le plus voisin possible du lait initial. Les trois composants essentiels sont l'eau, la poudre de lait écrémé spray et la matière grasse laitière anhydre. Dans certains cas quelques adjuvants complémentaires sont utilisés.
- **La reconstitution :** la reconstitution est l'opération qui consiste à diluer dans une eau convenable une poudre spray grasse, elle peut aussi correspondre à reconstituer un lait écrémé.**Le journalle officiele de la république algérienne (1993)** a donné les définitions du lait reconstitué et du lait recombinaison comme suit :

Le lait reconstitué est dit:

- **écrémé**, en cas d'utilisation de lait en poudre écrémé extra grade c'est à dire tirant moins de 1,25 % de matières grasses,
- **Entier**, en cas d'utilisation de lait en poudre tirant au moins 26% de matières grasses.

Le lait recombinaison est obtenu par mélange d'eau, de matière grasse et de lait en poudre écrémé extra grade titrant moins de 1.25 de matière grasse.

## II. La matière première

Selon **Apria ,(1980)**, il s'agira :

- Des laits en poudre gras ou écrémé,
- Des matières grasses laitières ou végétales,
- De l'eau de reconstitution,
- Des additifs.

### II.1. Le lait en poudre

En effet, il s'agira dans la quasi- totalité des cas de poudre écrémé ,non pas que la grasse ne donne pas d'excellente résultats mais parce que la durée de conservation de cette dernière est trop limitée et n'atteint quelques mois que si la poudre est maintenue à une température de l'ordre de 15°C. La matière grasse contenue dans la poudre étant en présence d'air s'oxyde, en effet, rapidement et communiquera un goût désagréable aux produits reconstitués (**Apria ,1980**) .

Les poudres écrémées qui seront donc mises en œuvre auront une composition en effet identique aux spécifications admises internationalement pour définir les poudres destinées à l'alimentation humaine :

Humidité maximale	4.0%
Matières grasses maximale	1.25%
Acidité titrable maximale	0.10-0.15
Solubilité	1.2 ml
Teneur en germes totaux(g)	50.000 maxi
Coliformes	absence dans 1g

### II.2. Les Matières grasses

Dans la majeure partie des cas, les usines de reconstitution utilisent des huiles des matières grasses laitières anhydres (MGLA). Cette dernière ne peut être obtenue à partir de lait frais en passant au besoin, par le stade crème ou beurre non maturée alors que les huiles de beurre sont fabriquées à partir de beurre de stockage.

La MGLA et les huiles de beurre ont une composition voisine :

Humidité maximale	0.1%
Teneur en matières grasse minimale	99.8%
Acides gras libres maximale	0.3%
Teneur en cuivre maximale	0.05ppm
Teneur en fer maximale	0.2ppm
Absence de coliformes dans 1 gramme	
Absence de neutralisants	

### II.3. L'eau de reconstitution

Selon **Bylund, (1995)**, l'eau est l'une des matières premières de tous les types de produits laitiers reconstitués et recombines. Elle doit être une eau potable de bonne qualité, dépourvue de micro-organismes pathogènes et d'un niveau de dureté acceptable  $\text{CaCO}_3 < 100$  mg/l. Une teneur excessive en matière inorganique menace l'équilibre des sels du produit reconstitué ou recombines qui, à son tour, pose des problèmes au niveau de la pasteurisation, sans parler de la stérilisation ou du traitement UHT. Trop de cuivre ou de fer dans l'eau peut introduire des goûts atypiques à cause de l'oxydation de la matière grasse. Les niveaux maxima recommandés sont par conséquent :

- Cu (cuivre) 0,05 mg/l
- Fe (fer) 0,1 mg/l

### II .4. Les additifs

Les additifs secs tels que le sucre, les émulsifiants et les stabilisants peuvent être manipulés de la même manière que la poudre de lait : on peut les vider des sacs directement dans le mélangeur ou le système de mélange (**Bylund, 1995**).

### III. Atelier de reconstitution ou de recombinaison

**Avezard et Lablee, 1990** ont montré que les opérations de reconstitution ou de recombinaison sont à distinguer selon qu'il s'agit d'addition d'eau à une seule ou plusieurs matières premières déshydratées, la technique la plus couramment employée est la combinaison du lait. En effet, cette technique met en œuvre ; à partir de composants pouvant être stockés sans suggestion particulière de température et d'humidité :

- La MGLA, généralement conditionnée dans des futs métalliques de 200 kg,
- La poudre de lait spray écrémé, conditionnée sous sacs de 25 kg de polyéthylène doublée de sacs papier.

### III .1. Le Traitement de l'eau

Ce traitement devra se faire avec des procédés compatibles avec la législation en vigueur dans le pays concerné. En présence d'eau riche en ions alcalino-terreux, il est illusoire de considérer qu'un traitement d'adoucissement par permutation sur résine cationique constitue un facteur d'amélioration pour l'eau de

recombinaison. Il est indispensable de ramener les quantités d'ions chlore à une quantité inférieure ou égale à 15 mg/l (Avezard et Lablee, 1990).

### III.2. La Température de recombinaison

Selon Avezard et Lablee (1990), la potabilité bactériologique de l'eau est fondamentale pour les besoins de nettoyage en place. Elle est également souhaitable pour la recombinaison, même si le traitement thermique du lait est prévu en aval. La température recommandée est de 35/45°C à cette température la poudre a :

La meilleure mouillabilité,

La meilleure dissolvabilité.

### III.3 .Inclusion de la poudre écrémé

Le dispositif d'inclusion pour les débits importants est généralement composé de deux éléments :

A) le système de manutention de poudre qui doit :

- Éviter toute agglutination des particules,
- Éliminer les fines au maximum,
- Éviter toute désamination de poudre dans la salle de traitement,
- Etre, si possible nettoyable en place.

B) Le système d'inclusion de poudre proprement dit qui doit réaliser :

- La meilleure dispersibilité,
- La meilleure mouillabilité immédiate des particules de poudre,
- Éviter l'entrée de l'air dans le liquide,
- Etre évidemment parfaitement nettoyable.

### III.4. Agitation et recyclage

Le recyclage couplé avec l'agitation dans les tanks a pour but :

- D'augmenter la dispersibilité,
- De favoriser l'hydratation des composants colloïdaux,
- D'éviter la formation d'agglomérat (dus surtout à la présence de fines) .

### **III.5. Thermisation**

Le lait recombinaé est à la fin du recyclage porté à une température convenable en vue de réaliser le dégazage. Cette opération se fait généralement à l'aide d'un appareil à plaques.

### **III.6. Le Dégazage**

Cette opération a pour but de permettre l'homogénéisation de la MGLA dans les meilleures conditions. Elle a également comme intérêt de retirer partiellement au moins certaines odeurs caractéristiques des laits reconstitués. Le dégazage se fait généralement à 75°C avec une chute de température de l'ordre de 8 à 10°C.

### **III.7. L'homogénéisation**

L'homogénéisation se fait à une température de l'ordre de 65°C. Il est envoyé, à l'aide d'une pompe doseuse, une quantité de MGLA liquide en amont de l'homogénéisateur. Suivant les cas et l'affection ultérieure du lait recombinaé ; l'homogénéisation peut être partielle ou totale selon que la puissance de l'homogénéisateur installé permet le passage de la totalité ou d'une partie simplement du lait écrémé, sortant du dégazage.

### **III.8. Thermisation complémentaire et refroidissement**

A la sortie de l'homogénéisateur il est logique de conférer au lait une thermisation complémentaire, réalisant ainsi une pasteurisation du lait avant refroidissement à une température comprise entre 4 et 6°C.

# *Matériels et Méthodes*

## I. Matériels et méthodes

### I.1. Matériels

#### I.1.1. Matériels de laboratoire

- Etuve de 37°C et de 44°C
- Balance électrique
- Plaque chauffante
- Bec bensen
- Bain marie
- Agitateur vortex
- Réfrigérateur pour conservation des échantillons



**Photo 01** : Un bain marie.

#### I.1.2. Verreries

- Pipettes pasteur
- Boîtes pétrie
- Pipettes graduée
- Tubes à essai
- Béchers
- Verre de montre
- Flacons

- Fioles

### I. 1. 3. Matériel biologique

#### 1) Milieux de culture solides

- Gélose nutritive ou PCA (plate count agar)
- Gélose OGA
- Gélose VRBG
- Gélose au Viande foie
- Gélose Hektoen
- Gélose Baird parker
- Gélose Chapman



**Photo 02** : Les milieux de cultures solides.

#### 2) Milieu liquide

- Milieu Roth
- Milieu VRBL
- Milieu Eva Lisky
- Eau physiologique stérile
- Eau distillé stérile

## II. Méthodes

### II. 1. Echantillonnage

L'échantillonnage consiste à choisir une partie, un certain nombre de récipients ou d'unités du produit représentant le mieux la livraison ou lot d'aliment d'où ils proviennent (**Guiraud, 2003**).

La prise d'essai servant à l'analyse ne doit pas avoir subi de transformations bactériologiques par rapport à l'aliment dont elle doit refléter la qualité, ceci implique que les opérations précédant l'analyse proprement dites n'agissent sur la microflore ni qualitativement ni quantitativement (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

L'échantillon doit être choisi au hasard dans le lot (**Guiraud et Rosec, 2004**).

La quantité dépend de la nature de l'analyse et du plan d'échantillonnage, d'après **Guiraud, 2003** ; il est nécessaire en générale de prélever 5 échantillons de 100 ml du lait éventuellement sous forme de 5 unités ; c'est la méthode qu'on a appliqué pour prélever un échantillon globale de 500 ml dessiné aux analyses microbiologiques.

Les prélèvements sont constitués uniquement de sachets du lait pasteurisé (Rmila et Athmani) fabriqué dans la Wilaya Khenchela. Les échantillons du lait sont prélevés au hasard de différent point de vente de la Wilaya de Khenchela.

Les échantillons sont ensuite placés dans une glacière. Le temps entre le prélèvement et les premières analyses ne dépasse guère 24 heures et les échantillons arrivent à une température comprise entre +4° et +8°C. (**Bioterre, Rev 2001**).

Les analyses microbiologiques sont réalisées dans le laboratoire de microbiologie de l'université de Khenchela.



**Photo 03 :** Représentation de deux sachets du lait (Ramila et Athmani).

## II. 2. Préparation de l'échantillon

Dans le cas des produits liquides, le mélange de trois à cinq sachets de lait par exemple constituera la solution mère ( $SM = 1$ ). (**Hart et Shears**)

### II. 3. 1. Préparation des dilutions décimales

- Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile,  $1\text{ ml}$  de la  $SM$ , dans un tube à vis stérile contenant au préalable  $9\text{ ml}$  du même diluant : cette dilution est alors au  $1/10$  ou  $10^{-1}$ .
- Introduire par la suite  $1\text{ ml}$  de la dilution  $10^{-1}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable  $9\text{ ml}$  du même diluant ; cette dilution est alors au  $1/100$  ou  $10^{-2}$ . (**Hart et Shears**)
- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile,  $1\text{ ml}$  de la dilution  $10^{-2}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable  $9\text{ ml}$  du même diluant ; cette dilution est alors au  $1/1000$  ou  $10^{-3}$ .
- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile,  $1\text{ ml}$  de la dilution  $10^{-3}$  dans un tube à vis stérile contenant au préalable  $9\text{ ml}$  du même diluant ; cette dilution est alors au  $1/10000$  ou  $10^{-4}$ . (**Hart et Shears**) .
- Au moment de la réalisation des dilutions décimales, il est impérativement de changer de pipettes entre chaque dilution, Contrairement à cela, lors de l'ensemencement recommande de commencer par la plus forte dilution à savoir  $10^{-3}$  dans le but justement

de ne pas changer de pipettes. On travaillera alors à l'aide d'une pipette graduée en verre stérile de 5 ml.



**Photo 04 :** Les dilutions décimales.

### III. Analyses d'échantillons du lait pasteurisé

#### III. 1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale

Les germes aérobies totaux ne constituent pas une famille bactérienne particulière. Il s'agit des microorganismes formant des colonies dénombrables après leur multiplication dans des conditions de laboratoire définies.

Le milieu de culture utilisé est le plate count agar (PCA) contenant un digeste enzymatique de caséine, de l'extrait de levure et du glucose, selon l'ISO, 2003) avec incubation à 30°C pendant 72 h (Ghafir, 2007).

On porte aseptiquement 0.1ml de la solution mère et des dilutions décimales successives allant de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-5}$  est mis en culture en profondeur dans des boîtes de Pétri stériles préparées et numérotées à cet usage. 3 boîtes de milieu culture (PCA) ou (GN) gélose nutritif sont incubé a 37°C pendant 24h. Les boîtes sont incubées couvercles en bas (Dennaï, et al., 2001).

### III. 2. Dénombrement des Entérobactéries

Les entérobactéries sont isolées et dénombrées sur un milieu gélosé sélectif le VRBG. Les prélèvements sont dilués jusqu'à  $10^{-3}$ . Les entérobactéries sont dénombrées après incubation à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24h.

On porte aseptiquement 0.1 ml des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  dans des boîtes de Pétri vides préparées et étiquetées à cet usage. On homogénéise le contenu en effectuant des mouvements circulaires et de «va-et-vient» et en formes de «8» sur une surface fraîche et horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose et laissé refroidir la gélose puis l'incubation à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24h .**Norme NF V 08-017**.

### III.3. Dénombrement des coliformes totaux

selon **la Norme NF V 08-017**, relative au dénombrement des coliformes totaux. Les coliformes totaux sont isolés et dénombrées sur bouillon sélectif le VRBL. Les prélèvements sont dilués jusqu'à  $10^{-3}$ . On porte aseptiquement 1 ml de la solution mère et des dilutions décimales dans des tubes stériles contenant 9ml de bouillon VRBL ensuite les tubes sont homogénéisés à l'aide d'un Vortex. Enfin les tubes sont incubés à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h.

### III. 4. Dénombrement des coliformes fécaux

Le dénombrement des coliformes thermo-tolérants (coliformes fécaux) par comptage des colonies obtenues à  $44^{\circ}\text{C}$ , a été réalisé selon (**Norme NF V 08-017**). Les coliformes fécaux sont isolés et dénombrées sur bouillon sélectif (VRBL).

Les prélèvements sont dilués jusqu'à  $10^{-3}$ . On porte aseptiquement 1 ml de la solution mère et des dilutions décimales dans des tubes stériles contenant 9 ml de bouillon (VRBL), puis on homogénéise avec un Vortex. Enfin l'incubation est réalisée à  $44^{\circ}\text{C}$  pendant 24h.

### III. 5. Dénombrement des Staphylocoques

Le dénombrement des staphylocoques est réalisé par un ensemencement en surface sur le milieu sélectif ; Chapman. L'incubation a été de 24-48h à  $37^{\circ}\text{C}$ . A partir de la solution mère ou des dilutions décimales, on porte aseptiquement 0,1ml dans les boîtes de Pétri contenant préalablement le milieu solide, étaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaloir. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures (**Dennaï n et al. 2001**). Après 48 heures d'incubation sur milieu sélectif (Chapman), des colonies de 1 à 2 mm de diamètre produisant parfois un pigment jaune et constituées de cocci à Gram (+) en amas. Sur milieu de Chapman, Staphylocoques provoque une acidification (virage au jaune) du mannitol (**Avril, 1992**).

### III. 6. Recherche de Salmonella

La recherche des salmonelles est réalisée selon la norme Française **NF V08-052**.

#### III. 6. 1. Mode opératoire

##### a) Pré-enrichissement

Après l'incubation de la solution mère à 37°C pendant 16 à 20 heures. 1ml de l'inoculum est porté dans un tube contenant 9ml l'eau peptonée tamponnée.

##### b) Enrichissement

Porter aseptiquement 0,1 ml de la solution de pré-enrichissement dans des tubes contenant 10ml d'eau peptonée tamponnée. Après homogénéisation, les tubes sont incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures.

##### c) Isolement

L'isolement est réalisé par ensemencement en surface du milieu sélectif solide : Hektoen à partir du bouillon d'enrichissement. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures et parfois même pendant 48 heures, (**Rodier et al, 1996**).

### III. 7. Recherche et dénombrement des anaérobies sulfite réducteur

On recherche les anaérobies sulfite-réducteurs (et en particulier *Clostridium perfringens*) dans les aliments car ils peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires, CSR ont des spores résistants à 80°C pendant 10 minutes.

CSR commensales de l'intestin ou saprophyte du sol, les clostridies thermophiles sont recherchés dans le lait pasteurisé car elle peuvent résister aux traitements thermiques.

On prend 3 tubes stérile contenant 20ml de gélose VF (viande foie).

Placer 5ml de produit (le lait) les dilutions dans des tubes stériles et le porter 10 minutes à 80°C.

Verser 5ml de chaque dilution dans le milieu (VF) sans faire des bulles.

Bien mélanger par rotation sans faire des bulles.

Solidifier sous l'eau froide, puis incubé à 37°C pendant 24h. (**Christelle.Larcher**).

### III. 9. La recherche des streptocoques fécaux

La recherche et dénombrement des streptocoques fécaux sont réalisés selon la méthode décrite par (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

Le dénombrement passe par deux étapes :

#### a) Le test présomptif

Un tube de milieu « Roth D/C » est ensemencé avec 1ml de la solution mère, on mélange bien l'inoculum avec le milieu, après incubation à 37°C pendant 24h tous les tubes présentant un trouble microbien sont considérés comme positifs et sont soumis au test de confirmation

#### b) Le test de confirmation

Un tube de milieu « Eva Lisky » est inoculé par 0,1 ml de culture de test de présomption, avec une agitation manuelle de tube

L'incubation se fait à 30°C pendant 24-48h, tous les tubes présentant un trouble et une pastille violette au fond sont considérés positifs.

### III. 10. Le dénombrement des levures et moisissures

Selon la norme **Afnor (XP V059, 1996)**. La recherche des champignons (levures et moisissures) se fait dans un milieu spécifique OGA (Oxytétracycline Glucose Agar), par ensemencement en surface. Un volume (0.1ml) est prélevé de la solution mère et ces dilutions ( $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-3}$ ), et déposé sur la boîte de pétri contenant le milieu adéquat OGA, Enfin incubation est réalisée à une température ambiante pendant 5 jours, et les colonies des levures et moisissures sont dénombrées séparément.

# *Résultats et Discussion*

**I. Résultat et discussion**

Le nombre et le type de microorganismes présents sur et dans la denrée alimentaire peuvent être utilisés pour juger ou décider de la qualité et de la sécurité microbiologique de ce produit. En effet, le lait et les produits laitier sont des aliments très périssables fréquemment associés aux toxi-infections alimentaires collectives, car ils constituent un terrain très favorable à la plupart des contaminations microbiennes principalement les microorganismes protéolytiques (Federighi, 2005).

**I.1. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile**

Les résultats de dénombrement de la flore totale mésophile sont représentés dans le tableau V

**Tableau n° V : résultats de dénombrement de la flore totale mésophile.**

FTAM Marque	La moyenne	L'écart type	Norme (journal officiel 1998)
<b>Ramila</b>	233,3x10 <sup>4</sup> UFC/ml	76.4x10 <sup>4</sup> UFC/ml	3x10 <sup>4</sup> UFC/ml
<b>Athmani</b>	4,6x10 <sup>4</sup> UFC/ml	1,5 x10 <sup>4</sup> UFC/ml	

L'énumération de cette flore pour les deux échantillons de lait a montré qu'il y a une contamination importante du lait par la laiterie. En effet, nous avons relevé que tous les échantillons analysés, ont une flore totale qui se situe entre 4,6x10<sup>4</sup>±1,5 x10<sup>4</sup> UFC/ml et 233.3x10<sup>5</sup>±76.4x10<sup>5</sup> UFC/ml, pour les deux type de lait analysé Athmani et Ramila, respectivement. L'analyse microbiologique des deux qualités du lait a montré la présence d'une flore aérobie totale abondante. Il ressort du tableau des variations notables entre eux.

L'analyse de la variance obtenue par le test (ANOVA) a montré que les résultats de dénombrement de la FTAM varient d'une manière significative selon les marques du lait (p<0.05).

Le classement selon le test de comparaison multiple (HSD) a montré une différence significative entre les deux marques concernant la charge microbienne globale (FTAM) avec  $p < 0.05$  (**Tableau**).

**Tableau VI** : résultat de l'analyse statistique de la FTAM

Modalités	Moyenne	Regroupement	P-value
<b>Rmila</b>	233.33	<b>A</b>	0.007
<b>Athmani</b>	4.667	<b>B</b>	

Selon le journal officiel de la république algérienne 1998, qui donne des normes de  $3 \times 10^4$  UFC/ml et aussi selon (**Jora, 1998**), ces seuils de contaminations en flore totale dépassent la norme fixée à  $10^5$  UFC/ml. Ils sont également supérieurs aux charges maximales tolérées par les deux réglementations françaises et américaines qui sont respectivement de  $5 \cdot 10^5$  UFC/ml et  $3 \cdot 10^5$  UFC/ml (**Alais, 1984**).

La comparaison des résultats avec celles obtenus lors des deux échantillons montre que le lait issu de la laiterie Rmila est le plus contaminé que ce de la laiterie de Athmani. Les résultats de l'analyse microbiologique du lait pasteurisé montrent une contamination avec des valeurs qui dépassent largement le seuil critique d'altération du lait.

Cette flore appelée aussi « flore aérobie mésophile revivifiable » (FTAM) est un bon Indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que la qualité (propreté) des installations (**Guiraud, 1998**). La FTAM reflète la qualité microbiologique générale d'un produit naturel (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Le dénombrement de la flore totale nous donne une idée générale sur la pollution d'un aliment donc l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération du produit). Ainsi que la qualité générale de propreté des installations (**Guiraud, 2003, joffin et joffin, 1999**).

Ces germes n'agissent pas sur l'aliment et n'ont de répercussion du point de vue qualitatif (altération du produit) et hygiénique (santé et consommateur) qu'au-delà d'une certaine quantité. Il est donc possible d'en tolère un certaine nombre (**Guiraud et Rosec, 2004**).

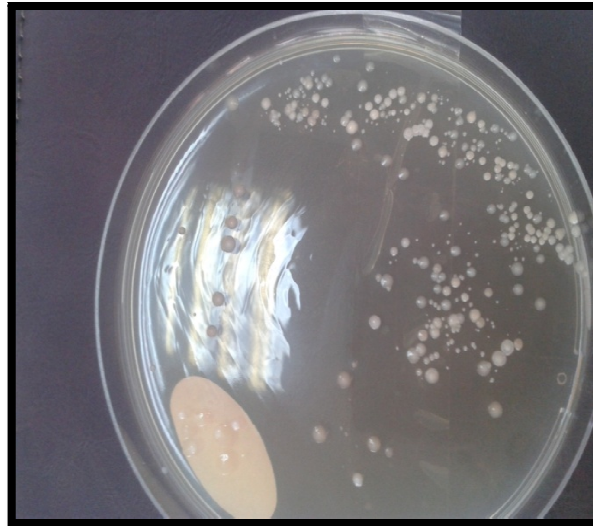


Photo 05 : Dénombrement de la FTAM

## I. 2. Dénombrement des Entérobactéries

Les résultats de dénombrement des Entérobactéries sont résumés dans le tableau VII

Tableau ° VII : résultat de dénombrement des Entérobactéries

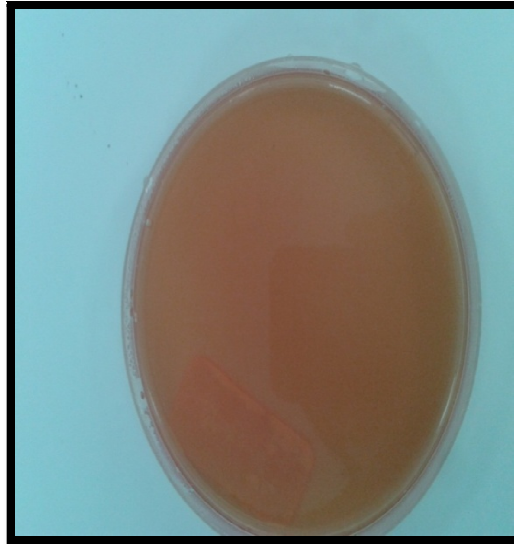
Entérobactéries ( $10^{-2}$ ) Marque	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3
Rmila ( $10^{-5}$ )	Absence	Absence	Absence
Athmani ( $10^{-5}$ )	Absence	Absence	09

Selon les résultats on observe l'absence totale des entérobactéries dans tous les échantillons, sauf un échantillon de la marque (Athmani) qui apparait contaminé par ces germes.

La famille des Entérobactéries regroupe de nombreuses espèces dont la plupart sont des hôtes normaux (commensaux) de l'intestin de l'homme et des animaux. Ce sont des contaminants alimentaires très fréquents (contamination fécale), ces bactéries sont capables de développement abondant dans un produit alimentaire et donc dégradation importante (Guiraud, 2003).

En effet, dans notre cas la contamination par les Entérobactérie dans l'échantillon Athmani est due probablement à un manque d'hygiène des personnels ou de matériel, ou encore à des mauvaises conditions de stockage dans les locaux de vente.

La numération des Entérobactéries totales, est intéressante au niveau industriel comme test de qualité hygiénique globale (**Guiraud et Rosec, 2003**).



**Photo 06 : Dénombrement des entérobactéries**

### I. 3. Dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants

Les résultats de dénombrement des coliformes totaux et thermo tolérants sont représentés dans le tableau VIII **Tableau n° VIII : Résultat de dénombrement des coliformes**

<b>Coliformes marque</b>	<b>CT</b>	<b>CTT</b>	<b>Norme (ISN, 1998)</b>
<b>Rmila (<math>10^{-5}</math>)</b>	Absence	Absence	Absence
<b>Athmani (<math>10^{-5}</math>)</b>	Absence	Absence	

L'analyse microbiologique des deux types de lait (Athmani et Rmila) a montré l'absence totale des coliformes totaux et thermo tolérants dans tous les échantillons analysés, ce qui indique les bonnes conditions de fabrication et de conservation.

Ainsi que la recherche des microorganismes indicateurs de la contamination fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit. Même à des niveaux faibles, il témoignerait de condition hygiénique dégradés lors de la traite ou au cours de transport (**Rasic et kurman, 1978**).

En effet, la recherche des coliformes est actuellement effectuée dans les aliments transformés (produit pasteurisé), elle peut entrer en évidence l'insuffisance du processus ou de mauvaise condition de fabrication (ré contamination par exemple). (**Louis, 1998**).

De plus cette contamination peut être le reflet du non respect de la chaîne de froid (**Cuq, 2008**).

Les coliformes, qui représentent environ 1% de la flore intestinale ( $10^8$  par gramme de matière fécale) et ne provoquent généralement pas de maladie chez l'homme adulte. Peuvent être associés dans un aliment contaminé à des entérobactéries pathogènes comme les salmonelles, les *Shigella* et certains biotypes d'*E. Coli* (**Guiraud et Rosec, 2004**).

En outre, comme la résistance des coliformes totaux et thermo tolérants aux conditions extérieures défavorables est faible, leur nombre fourni par l'analyse n'est pas toujours proportionnel à l'importance de contamination (**Cuq, 2008**).



**Photo 07 : Dénombrement des coliformes totaux**

**I.4. Dénombrement des staphylocoques**

Les résultats de dénombrement des staphylocoques sont représentés dans le tableau IX

**Tableau n° IX : Résultat de dénombrement des staphylocoques**

S. aureus Marque	La moyenne	L'écart type	Norme (journal officiel, 1989)
<b>Rmila</b>	Absence	Absence	01
<b>Athmani</b>	$4,33 \times 10^{-3}$ UFC/ml	$7,05 \times 10^{-3}$ UFC/ml	

D'après nos résultats, nous remarquons l'absence de du genre staphylocoque dans les échantillons du lait (Rmila), par contre aux échantillons de (Athmani) qui sont contaminées avec une moyenne de  $4,33 \times 10^3 \pm 7,05 \times 10^3$  UFC/ml .

L'analyse statistique des résultats par le test d'ANOVA a montré que les résultats de dénombrement des staphylocoques varient d'une manière non significative selon les marques du lait ( $p > 0.05$ ).

Le test de comparaison multiple HSD ne montre aucune différence significative entre les deux types de lait (Athmani et Rmila), en ce qui concerne la contamination par les Staphylocoques ( $p > 0.05$ ) (Tableau).

**Tableau n° X : résultat de l'analyse statistique des staphylocoques**

modalités	moyenne	regroupement	p-value
<b>Rmila</b>	0,000	<b>A</b>	0.374
<b>Athmani</b>	4,333	<b>A</b>	

Selon **Louis (1998)**, le nombre des staphylocoques dans les aliments est généralement peu élevé.

Les staphylocoques sont des parasites saprophytes de l'homme et de l'animal. Les fosses nasales et la peau constituent le réservoir principal du germe. Celui-ci peut être disséminé

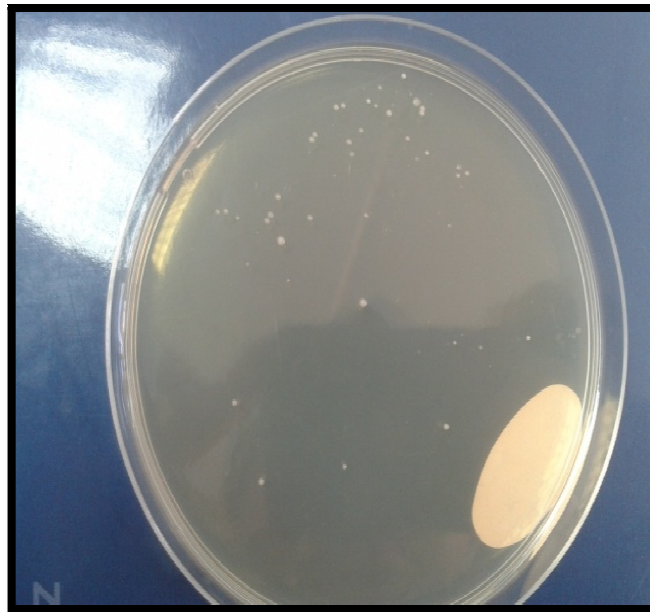
facilement dans l'environnement et contaminent les aliments en entraînant des dégradations et des problèmes sanitaires (**Dubuyser, 1988 et Guiraud, 2003**).

En effet, les contaminations par les staphylocoques sont d'abord des contaminations de contact, essentiellement au niveau des mains. (**Guiraud, 2003**).

Leur présence peut indiquer des mauvaises conditions d'entreposage sur le plan de manipulation et d'hygiène de manipulateurs car ce sont des bactéries fréquemment présentes sur la peau et les muqueuses de l'homme (**Cardinal, 2006; Tremolieres, 1984**).

La présence de ce germe est dans les échantillons de la marque (Athmani) est due probablement à une présence du départ dans le produit fini, ce qui reflète les maies conditions de l'entreposage et de vente chez les vendeurs.

Leur croissance dans ces aliments constituent un risque pour la santé publique par ce que certains souches appartient à l'espèce staphylococcus aureus produisent des Entérotoxine dont l'ingestion provoque une toxi-infection alimentaire (TIA) à staphylocoque, ce type d'intoxication est un des plus courant dans l'alimentation (**Debuyser, 1991, Guiraud et Rosec, 2004**).



**Photo 08 : Dénombrement des staphylocoques de la qualité Athmani**

### **I.5. Les salmonelles**

Les résultats de dénombrement des salmonelles sont résumés dans le tableau XI

**Tableau n° XI : résultat de dénombrement des salmonelles.**

Salmonelles Marque	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Norme (journal officiel, 1989)
<b>Rmila</b>	Absence	Absence	Absence	Absence
<b>Athmani</b>	Absence	Absence	Absence	

Les résultats de la recherche des salmonelles indiquent que la totalité des échantillons du lait est jugée exempte de ce germe.

D'après **Guiraud (2003)**, les salmonelles étant des bactéries dangereuses, responsables d'un grand nombre des troubles d'origine alimentaire, elles ne doivent pas être présentes dans les aliments, leurs recherches et leurs identifications permettent donc de montrer le danger possible.

L'absence totale de salmonelles dans toutes les échantillons de deux types de de lait (Rmila et Athmani), reflète les bonne conditions de fabrication du lait et le respect du la chaine du froid lors du transport et de la vente.

*Salmonella* est toujours pathogène, il s'agit là d'un problème très important en microbiologie alimentaire qu'il faut prendre en considération, car elle occupe une importance considérable tant sur le plan de la santé humaine provoquant des toxi-infections alimentaires que sur celui de la santé animale, entraînant une perte économique conséquente (**Cuq, 2008**).

#### **I.6. Les Clostridium sulfito-réducteur (CSR) :**

Les résultats de dénombrement des clostridium sont représentés dans le tableau XII

**Tableau n°XII** : Résultat de dénombrement des *clostridium sulfito-réducteur* (CSR).

Clostridium Marque	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Norme (ISN, 1998)
<b>Rmila</b>	Absence	Absence	Absence	Absence
<b>Athmani</b>	Absence	Absence	Absence	

Les résultats de dénombrement des CSR, montrent une absence totale de ce germe dans tous les échantillons des deux marques du lait (que ce soit Athmani ou Rmila).

Les CSR sont des bactéries commensales de l'intestin ou saprophyte du sol, ils contaminent de nombreux produits : eau, lait, aliments fermentés et surtout les conserves

alimentaire. Ainsi qu'il sont considérés comme test de contamination fécale. (Joffin et Joffin, 1999, Guiraud, 2003).

Nos résultats étaient négatifs pour tous les échantillons analysés. Leur absence dans tous les échantillons analysés nous laisse supposer de la bonne qualité hygiénique de ceux-ci.



**Photo 09 : Dénombrement des CSR**

### I. 7. Le dénombrement des streptocoques fécaux :

Les résultats de dénombrement des streptocoques sont représentés dans le tableau XIII

**Tableau n° XIII : Résultat de dénombrement des streptocoques**

streptocoque marque	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3
<b>Rmila (<math>10^{-5}</math>)</b>	Absence	Absence	Absence
<b>Athmani (<math>10^{-5}</math>)</b>	Absence	Absence	Absence

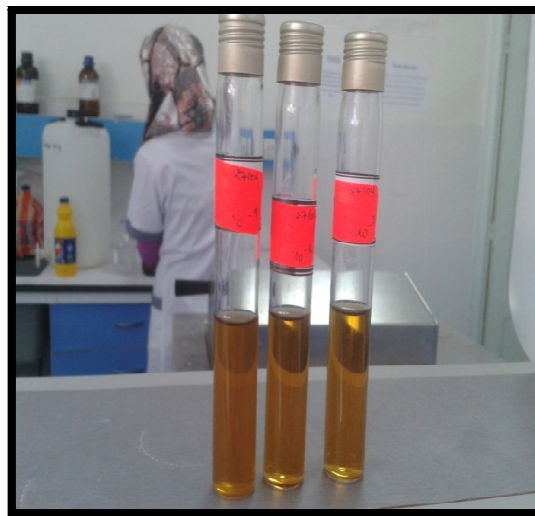
Le contrôle des trois échantillons pour les deux qualités du lait (Athmani et Rmila) montre l'absence totale des streptocoques fécaux dans tous les échantillons analysés.

Les streptocoques sont utilisés long temps comme indicateur de pollution fécale dans les eaux, mais leur valeur indicatrice dans le cas des aliments est beaucoup plus discutée (**Catsaras, 1991**).

Selon le même auteur, leur présence en nombre excessif est le signe d'un défaut d'hygiène de fabrication ou des conditions défectueuses, leur fréquence dans l'intestin de l'homme et des animaux permet de déceler la contamination fécale.

Dans le même sens, **Louis (1998)** a rapporté qu'il est peu courant que les streptocoques fécaux soient impliqués dans les maladies d'origine alimentaire, et les maladies provoquées par les streptocoques hémolytiques sont fréquemment transmis par les aliments mais leur fréquence est faible.

L'absence de streptocoques fécaux dans tous les échantillons analysés pour les deux marques (Athmani et Rmila), montre encore une fois leur bonne qualité sanitaire.



**Photo 10 : Dénombrement des streptocoques fécaux**

### **I. 8. Dénombrement des levures et moisissures**

Les résultats de dénombrement des clostridium sont représentés dans le tableau XIV

**Tableau n° XIV : Résultat de dénombrement de flore fongique.**

Flores fongiques Marque	La moyenne	L'écart type	Norme (journal officiel, 1998)
<b>Rmila</b>	$50 \times 10^{-2}$ UFC/ml	$46,58 \times 10^{-2}$ UFC/ml	$\leq 10$
<b>Athmani</b>	$26,28 \times 10^{-2}$ UFC/ml	$46,58 \times 10^{-2}$ UFC/ml	

Concernant les résultats des échantillons des deux marques du lait, les levures et moisissures n'apparaissent qu'après 48h d'incubation. Leur nombre varie de  $50 \times 10^2 \pm 46,58 \times 10^2$  UFC/ml à  $26,28 \pm 46,58$  UF/ml la valeur maximale est enregistrée pour la marque Rmila.

L'analyse de la variance obtenue par le test (ANOVA) a montré que les résultats de dénombrement des levures et moisissures varient d'une manière non significative selon les marques du lait ( $p > 0.05$ ).

Le classement selon le test de comparaison multiple (HSD) n'a montré aucune différence significative entre les deux marques concernant la charge en levures et moisissures avec  $p < 0.05$  (Tableau).

**Tableau n° XV** : résultat de l'analyse statistique de la flore fongique

Modalités	moyenne	regroupement	p-value
<b>Rmila</b>	50,00	<b>A</b>	0.462
<b>Athmani</b>	26,00	<b>A</b>	

L'analyse de la variance obtenue par le test (HSD) a montré que les résultats de dénombrement de la flore fongique varient d'une manière non significative selon les marques du lait ( $p > 0.05$ ).

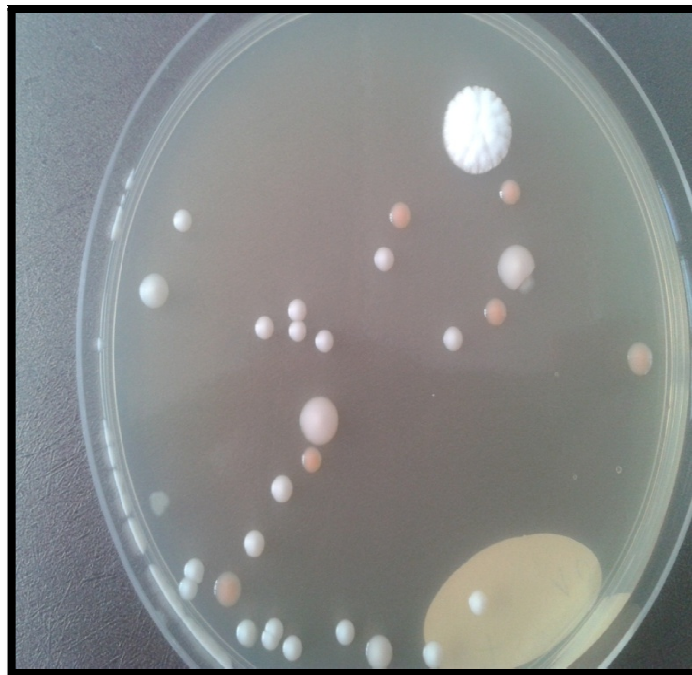
Selon le journal officiel de la république algérienne en comparant ces résultats, on remarque une charge fongique très élevée.

La plupart des denrées alimentaires, au cours de leur préparation mais surtout de leur entreposage, sont susceptibles d'être détériorées fongiquement par la flore fongique. Elles peuvent produire par leur développement dans les produits, des altérations de leur qualité marchande, parmi les levures, seules quelques rares espèces (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*) sont pathogènes mais elles ne causent pas des maladies ou d'intoxications alimentaires, les levures ne causent donc aucun problème d'aspect sanitaire. (Guiraud, 2003).

Les pertes qui leur incombent sont considérables. Il s'agit souvent d'un simple défaut d'aspect, d'odeurs ou de goûts annexes anormaux (Ethanol, variation du PH) ou par gonflement des produits ou de leur emballage (CO<sub>2</sub>) (Bouix et Leveau, 1991 et Moreau, 1991).

En comparant les résultats de dénombrement des levures et moisissures avec la norme de la République Algérienne, on trouve que les résultats obtenus sont supérieurs à la norme officielle. Donc les deux marques sont non conformes aux normes en ce qui concerne la charge en levures et moisissures.

Les moisissures sont largement présentes dans les aliments, la contamination par ces microorganismes est actuellement considérée avec beaucoup d'attention en raison des mycotoxines qu'ils sont capables de synthétiser (Cuq, 2008).



**Photo 11 : Dénombrement des levures et moisissures**

# Conclusion générale

The image features the text 'Conclusion générale' in a bold, stylized, golden-yellow font. The letters are thick and have a slight shadow effect, giving them a three-dimensional appearance. The text is centered horizontally and is the primary focus of the image. Below the main text, there is a faint, mirrored shadow of the same text, creating a sense of depth and reflection.

### Conclusion générale :

D'une manière générale, cette étude a contribué à enrichir les connaissances sur les caractéristiques microbiologiques du lait pasteurisé.

Au cours de ce travail, nous avons évalué la qualité microbiologique de deux marques de lait pasteurisé, les plus commercialisées dans la wilaya du KHENCHELA (Athmani et Rmila)

Le contrôle microbiologique montre d'une part, une charge microbienne abondante suite à un nombre élevé de la flore totale mésophile dans tous les échantillons analysés (Rmila et Athmani), mais sans détection des pathogènes sauf que pour le lait pasteurisé Athmani qui est contaminé par *Staphylococcus*.

D'autre part, ces deux types de lait pasteurisé (Rmila, Athmani) apparaît plus contaminé par la présence des levures et moisissures.

L'analyse statistique des résultats a montré le lait pasteurisé de marque Rmila est plus contaminé que le lait de la marque Athmani.

Malgré cette charge en microorganismes, les résultats restent dans les normes. Ces laits pasteurisés ont donc une bonne qualité hygiénique.

Sous la lumière de ces résultats, nous conseillons le consommateur de métré en compte les conditions de vente avant la décision de consommation d'un lait pasteurisé.

Notre étude était limitée par le temps et le matériel, il sera intéressant de la compléter par :

- Une étude complémentaire sur la qualité physicochimique du lait.
- Prendre un nombre plus grand d'échantillon de différents points de vente, pour évaluer le respect des conditions de vente et d'entreposage.
- Réaliser un isolement et purification des souches contaminants en vue de l'évaluation de leur résistance aux antibiotiques (notamment les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération).

### Les références bibliographiques

**Abdussalam M. et Grossklaus D. (1991).** Les maladies d'origine Alimentaires. Santé du Monde OMS : -18-20p.

**Afnor, (1980).** Recueil de normes françaises. Méthodes générales d'analyse des produits agro-alimentaires. Chimie. Microbiologie Analyse sensorielle. - Paris : Afnor.-200p.

**Alais C., (1984).** science du lait. Principe des techniques laitières. 4<sup>ème</sup> éd. 2<sup>d</sup> édition Publicité France p162-163.

**Apria., (1980).** Les laits reconstitués-Leurs utilisations, Association pour la Promotion Industrie Agriculture, Paris: 48-49-50 (345 pages).

**Auclair J., (1979).** Influence des méthodes de réfrigération et de collecte du lait sur sa qualité bactériologique. Revue française lait n°378. 37p.

**Auclair J. et Lenoir J., (1980).** Influence de la réfrigération à la ferme sur la transformation ultérieure du lait et la qualité des produits fabriqués. Génie Rurale N°5. pp:11-15.

**Avezard C.L. et Lablee J., (1990)** Laits et produits laitiers recombines, In Luquee F.M., Laits et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 536-538-539 (637 pages)

**Avril, (1992).** Bactériologie clinique, 2<sup>ème</sup> édition. Marketing (Ed). Paris P9, 149.

**Bariller J., (1997) :** Sécurité alimentaire et HACCP, Dans « Microbiologie alimentaire :

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

**Bioterre, Rev (2001).** Inter. Sci. De la Vie et de la Terre, N° spécial, 2002 Actes du colloque international, Centre Suisse du 27-29 Août 2001 © Editions Universitaires de Côte d'Ivoire.

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

**Boudier J.F. et Luquet F.M. (1978).** Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, N°21, édition APRIA, Paris

**Bouix M et Leveau J.Y (1980) :** Levure dans le contrôle microbiologie.

**Bourgeois C.M., Mesle J.F. et Zucca J., (1996).** Microbiologie Alimentaire Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments Tome 1. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris. 32p.

**Bourgeois et Leveau, (1991) :** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Paris, 2<sup>e</sup> édition, 454p.

**Brisabois A., Lafarge V., Brouillard A., de Buysier 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). pp: 452-471.

**Bylund G., (1995)** Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems AB S-221 86 , Lund ,Sweden : 18-23-381(436 pages).

**Bylund Gosta, (2000).** Hand book of dairy-processing. Editor: Teknotext AB illustrations: Origrit AB .pp 20-45, 60-75, 87-120.

**Cardinal P., (2006).**Lignes directrices pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire.Comité provincial sur l'uniformisation et l'interprétation des critères microbiologiques des aliments .Québec (Canada) Version électrique : 33, 40.

**Catsaras M.V, (1991)** les indices de contamination fécale **IN** : bourgeois C.M Leveau technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. ed Lavoisier p 252

**Cauty I. et Perreau J-M. (2009).** Conduite du troupeau bovin laitier. Production, Qualité Rentabilité. 2eme édition France Agricole.

**Christelle,larcher :** Atlas de poche de microbiologie. FM 0125-99-X

**Clausen EM., Green BL 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, pp: 247-264.

**Collection FAO, (1998): Alimentation et nutrition** no 83. Rome, Fao. Mekong Team Working Paper No. 12. HPAI Pro-Poor Risk Reduction, Steinfeld, H. . Livestock production in Asia.

**Collection FAO:** Alimentation et nutrition n° 28/ 1998. Food, Agriculture and the Environment Discussion Paper No. 28. Washington, Institut international de l'alimentation et la nutrition.

**Cuq J.L ., (2008).**Controle microbiologiques des aliments. Manuel, polytech département STIA Académie de montrillier sci , et Tec du languedoc : 40,96.

**Cuq J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25

**Debuyser M.I, (1988).** Les staphylocoques coagulase positifs. IN : bourgeois C.M , Mesle J.F , Zucca Microbiologie alimentaire, Tome1: les microorganismes des aliments, technique documentation. Lavoisier. Paris, 65.

**Dehkal G. (1982).** Incidence du temps de réfrigération sur la microflore du lait cru. Mémoire d'ingénieur d'état en industries agro-alimentaires. Institut des sciences biologiques. Université de Constantine.

**Dennaï N.,Kharrati B.,EL Yachioui M, (2001).** Appréciation de la qualité microbiologique des carcasses de bovins fraîchement abattus. Ann. Méd. Vét., 2001, 145, 270-274.

**Fanny Demay-BTS BioAnalyses & controles) :** Technique de dénombrement sur milieu solide.

**FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.

**FAO/OMS,(1979).** Codex Alimentaires. Code de principes concernant Le lait, 56:558. Renterghem, R., Moermans, R. & Brack, J. pp 19-25 in Portugal .B.F.I.L . , N°202 : p 84 \_89

**Fatet P. (2004).** Les staphylocoques dans l'industrie laitière. GDS Info 2004/2005 l'action sanitaire ensemble. pp :34-35.

**Federighi M., (2005).** Bactériologie Alimentaire. Compendium d'hygiène des aliments. 2ème ed, Economica: 243.

**Flaconnet F., Bonbled P., (1994).** La certification des systèmes.d'assurance qualité dans l'agro-alimentaire français, dans « La qualité des produits alimentaires : politique, incitations, gestion et contrôle » multon J.L., tec et doc, ed. lavoisier (2 e édition), Paris, Pp : 529-552

**Ghafir Y., Daube G., (2007).** Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale, Laboratoire national de Référence en Microbiologie des Denrées alimentaires pour l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, Université de Liège, Faculté de Médecine vétérinaire.

**Ghazi K et Niar A, (2010).** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie). Institut des Sciences Vétérinaires, Université Ibn –khalidoun.

- Guiraud J., Rosec(2003)** . Pratique des normes en microbiologie Alimentaire, 50.
- Guiraud et Galzy, (1980)** .l'analyse microbiologique dans les industries alimentaires .Usine nouvelle,paris.
- Guiraud J-P, (2003) : Guiraud j.p ( 1998)**. microbiologie alimentaire edition dunod 325.
- Hamama A, (2002)** . « hygiène et prophylaxie dans les étables laitières .cours de Formation des techniciens de l'office régionale de Mis en valeur agricole L'haouz.Marrkech. »Pp 10-25, 62-71,80-110
- Harding F., (1995)**. Milk quality, Blackie academic et professional : 113(166 pages).
- I .S.N., (1998)**. Les normes microbiologiques : lait et produits laitiers.
- Jeantet R., Croguennec T., schuck P., brule G., (2006)** . Science des aliments : biochimie - microbiologie - procédé – produits, stabilisation biologique et physico-chimique, Ed. tec et doc, Paris, 383 pages.
- Joffin C, Joffin j.N. ( 1999)**. Microbiologie alimentaire. 5<sup>eme</sup> édition. CRDPA.37, 122-132, 233
- Journal Officiel de la république algérienne, (1989)** n°35 du 24 /01/1989 N°10.97.70.
- Kaan-Tekinsen, Elmali, Ulukanliz, (2007)**: microbiological quality of UHT milk consumed in Turkey. Journal of food safety. Vol 7 p45-48. )
- Kirat, (2007)**. Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines - Cas de la Wilaya de Jijel en Algérie. Montpellier (France): Ciheam-iamm
- L'ISO 4833.** (Organisation internationale de Normalisation, 2003)
- Larpent J. P., Ed. Tec et Doc, Paris,** Pp 37-58.Tomme 2 .Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro- alimentaires .ed.tec/doc(Lavoisier), P.P.130-145.
- Lemire G., (2007)**. Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régie biologique.
- Les groupes microbiens d'intérêt laitier. (1992)**. Coordonné par J. Hermier, J. Lenoir & F. Weber. Edition CEPIL, Paris.

**Levesque P. (2004).** La traite des vaches laitières Etape par étape vers la qualité Guide pratique. Edition Educagri. Québec. Edition l'envol lait biologique. Québec. 9p.

**Leyral G. et Vierling É. (2007).** microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et

**Louis J,( 1998).** Control microbiologique des aliment, department science et technologie des industries agroalimentaire. Université mentepplier, 36.39.13p.

**Marcel Mazzyoyer ,(2007).** Larousse agricole Edition Larousse paris France p115-116-374-375-405

**Michel A. et Wattiaux,( 2000).** « Lactation et récolte du lait. » « Institut Babcock pour la recherche et le développement international du secteur laitier, UW. » Madison, wisconsin pp3-30, 60-72 Microbiologie alimentaire .Edition Dunod, Paris, P651-662

**Notermans S et Otterdijk R.L, (1985).** Production of enterotoxin A by *S. aureus* in food. International Journal of Food microbiology. PP139-196 Les Salmonelles et les ASR. RRE, 2003)

**Pirisi A ,(1994)** .composition et coagulation du lait de brebis. Lait, page 425/442

**Rasic J.L.J kurman J.A.( 1978)** lait et yaourt : scientific grounds, technology, manufacture and preparation. Torne 1. Fermented frech milk products. Danemark: technical dairy publishing house, 1978, 466p

**Silait Salon international du lait (2008).** Acte du 1er salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger.

**Singh E,( 1972),** a study on the nitrogen distribution in goat' s milk. Milch wess enschaft, p167-167. Techniques de laboratoire »,

**Tony Hart, Paul Shears.** Atlas de poche de microbiologie. FM 0125-99-X

**Tremolieres J ., Serville E ., Jacquot R Dupin H ,( 1984).** Les bases de l'alimentation : Manuel d'alimentation humaine .10<sup>ème</sup> ed, MSF 75017, Paris.tome1 :73,74.

**Varnam A.H. et Sutherland P. (2001).** Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. pp: 35-37.

**Vignola C. (2002).** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. Pp

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

**Annexe**

---

## Composition des milieux de culture

### Gélose Chapman

- Peptone.....10,0 g
- Extrait de viande de bœuf .....1,0 g
- Chlorure de sodium.....75,0 g
- Mannitol.....10,0 g
- Rouge de phénol.....0,025 g
- Agar.....15,0 g
- pH=7,4

### Gélose Hektoen

- Protéose-peptone.....12,0 g
- Extrait de levure.....3,0 g
- Lactose.....12,0 g
- Saccharose.....12,0 g
- Salicine.....2,0 g
- Citrate de fer III et d'ammonium.....1,5 g
- Sels biliaires.....09g
- Fuchsine acide.....0,1 g
- Bleu de bromothymol.....0,065 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Thiosulfate de sodium.....5,0 g
- Agar.....13,0 g
- pH= 7,5

### Gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose)

- Peptone.....7,0g
- Extrait de viande .....3,0 g
- Glucose.....10,0g
- Désoxycholate de sodium.....1,5g
- Cristal violet.....2,0 mg
- Rouge neutre.....30,0 mg

- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Agar.....15,0 g
- pH = 6,8

### Gélose viande foie

- base viande foie.....20g
- dextrose.....0,75g
- amidon.....0,75g
- sulfite de sodum.....12g
- citrate ammoniacal.....0,5g
- agar.....11g
- PH=7,6

### Gélose OGA

- Extrait de levure.....5g
- Glucose.....20g
- Gélose.....16g
- Eau distillée.....1000ml
- PH=6,8autoclaver 10min a 121°C

### Milieu Roth

#### S/C

#### D/C

- |                             |         |         |
|-----------------------------|---------|---------|
| • Peptone                   | 20g     | 40g     |
| • Glucose                   | 0,5g    | 10g     |
| • Chlorure de sodium        | 0,5g    | 10g     |
| • Phosphate bi potassique   | 2,7g    | 5,4g    |
| • Phosphate mono potassique | 2,7g    | 5,4g    |
| • Azide de sodium           | 0,2g    | 0,4g    |
| • Eau distillée             | 1000 ml | 1000 ml |
| • PH=6,7                    |         |         |

### Reactif

#### Eau physiologique :

- NACL.....9g

- Eau distillée.....1000ml

### Milieu VR

- Peptone.....10,0 g
- Lactose..... 10,0 g
- Bile..... 20,0 ml
- Vert brillant.....13,0 mg
- pH = 7,4

### Milieu Eva litsky

- peptone : .....20,0 g
- glucose : .....5,0 g
- azide : .....0,2 g
- éthyl-violet : .....0,5 g
- NaCl : ..... 5,0 g
- hydrogénophosphate de potassium :..... 2,7 g
- dihydrogénophosphate de potassium : .....2,7 g
- pH= 6,8

### Gélose Baird Parker

- Peptone :.....10,0 g
- Extrait de viande de bœuf :.....4,0 g
- Extrait de levure :.....2,0 g
- Pyruvate de sodium : .....10,0 g
- Glycocolle.....12,0 g
- Chlorure de lithium :.....5,0 g
- Agar-agar :.....20,0 g

**Eau péptoné tamponé**

- Peptone .....10g
- Chlorure de sodium .....5g
- Phosphate di sodique anhydre .....3g
- Di hydrogénophosphate de potassium .....1,5g
- PH=7 ,2

### Résumé

Le lait est considéré comme le produit alimentaire le plus consommé en Algérie. La qualité du lait concerne sa faculté de conservation et son aptitude à être transformé avec un bon rendement en dérivés sains, savoureux et de haute valeur nutritionnelle.

L'objectif de l'étude consiste à évaluer la qualité microbiologique des deux marques de lait pasteurisé partiellement écrémé ( Rmila et Athmani) produit localement, dans la région de Khenchela. Au total 06 échantillons de laits ont été prélevés pour l'analyse microbiologique. La contamination moyenne de la flore totale est de  $233.3 \times 10^5 \pm 76.4 \times 10^5$  UFC/ml et  $4,6 \times 10^4 \pm 1,5 \times 10^4$  UFC/ml pour le lait de marque Rmila et Athmani successivement.

D'autre part, les échantillons des deux marques de lait ont une charge considérable en levures moisissures avec une moyenne de  $50 \times 10^2$  UFC/ml pour le lait Rmila, et  $26,28 \times 10^2$  UFC/ml pour le lait de la marque Athmani. Il n'y a pas de différence significative détectée entre les deux marques de lait. En outre, Les résultats ont montré l'absence totale de tous microorganismes pathogènes, sauf que le lait Athmani est légèrement contaminé avec le genre staphylococcus. L'absence de tous microorganismes pathogènes dans tous les échantillons de lait pasteurisé fabriqué à Khenchela reflète bien le respect des conditions d'hygiène lors de la production.

**Mots-clés** : lait pasteurisé, qualité microbiologique, Khenchela .

### **Abstract:**

Milk is considered the most consumed food in Algeria. The quality of milk concern its conservation faculty and ability to be transformed with a good yield to healthy, tasty and high nutritional value derivatives. The objective of the study is to assess the microbiological quality of the two brands partly skimmed pasteurized milk (Rmila and Athmani) produced locally in Khenchela. In total, six milk samples were taken for microbiological analysis.

The average contamination of the total flora is  $233,3 \times 10^5$  UFC / ml and  $46,66 \times 10^3$  UFC / ml for both brands (Rmila and Athmani) successively.

The results showed a high number of fungal flora, in all samples with an average  $50 \times 10^2$  UFC / ml for Rmila milk and  $26,28 \times 10^2$  UFC / ml for Athmani milk. No significant difference is detected between the two brands. Both brands are free of pathogenic microorganisms except the brand Athmani that is contaminated with *Staphylococcus* genus. The absence of all pathogens in all samples of both Rmila and Athmani milk reflect the respect of hygiene practices during production and conservation.

**Keywords:** pasteurized milk, microbiological quality, Khenchela,

### ملخص

يعتبر الحليب الغذاء الأكثر استهلاكاً في الجزائر. نوعية الحليب تتمثل في قدرته على الحفظ و أن يتحول الى مشتقات جيدة و صحية ولذيذة و ذات قيمة غذائية عالية. والهدف من هذه الدراسة هو تقييم الجودة الميكروبيولوجية للاثنين من العلامات التجارية للحليب المبستر منزوع الدسم جزئياً ( Rmila وAthmani) التي تم انتاجهما محلياً في منطقة خنشلة.

6 في مجموع العينات من الحليب اتخذت للتحليل الميكروبيولوجي. متوسط التلوث الإجمالي بالفلورة الهوائية المعتدلة تبلغ  $233.3 \times 10^5$  UFC / مل للعلامة التجارية Rmila  $4,6 \times 10^4$  UFC / مل بالنسبة لحليب Athmani, اما بالنسبة للتلوث بالخمائر تبين ان العلامتين Athmani, Rmila ملوثة بالخمائر والعفن مع المتوسط  $10^2$  UFC / مل و  $26.28 \times 10^2$  UFC / مل.

كل من العلامات التجارية خالية من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض إلا ان العلامة التجارية (Athmani) ملوثة بجنس المكورات العنقودية.

رداءة نوعية الحليب تعكس ظروف سيئة في الإنتاج وعدم مراعاة الممارسات الصحية الجيدة أثناء الإنتاج و الحفظ.

**كلمات البحث:** الحليب المبستر ، والجودة الميكروبيولوجية ، والكائنات الدقيقة المسببة للأمراض .

[Tapez un texte]

**Guebboudj wided**

**Date de soutenance 14 /06 /2015**

**Hassad narimene**

**Diplôme : master académique en microbiologie**

**Thème : Evaluation de la qualité microbiologique du lait pasteurisé a khenchela**

### **Résumé**

Le lait est considéré comme le produit alimentaire le plus consommé en Algérie. La qualité du lait concerne sa faculté de conservation et son aptitude à être transformé avec un bon rendement en dérivés sains, savoureux et de haute valeur nutritionnelle.

L'objectif de l'étude consiste à évaluer la qualité microbiologique des deux marques du lait pasteurisé partiellement écrémé ( Rmila et Athmani) produit localement, dans la région de Khenchela. Au total 06 échantillons de laits ont été prélevés pour l'analyse microbiologique. La contamination moyenne de la flore totale est de  $233.3 \times 10^5 \pm 76.4 \times 10^5$  UFC/ml  $4,6 \times 10^4 \pm 1,5 \times 10^4$  UFC/ml pour le lait de marque Rmila et Athmani successivement.

D'autre part, les échantillons des deux marques du lait ont une charge considérable en levures moisissures avec une moyenne de  $50 \times 10^2$  UFC/ml pour le lait Rmila, et  $26,28 \times 10^2$  UFC/ml pour le lait de la marque Athmani. Il n'y a pas de différence significative détectée entre les deux marques du lait. En outre, Les résultats ont montré l'absence totale de tous microorganismes pathogènes, sauf que le lait Athmani est légèrement contaminé avec le genre staphylococcus. L'absence de tous microorganismes pathogènes dans tous les échantillons du lait pasteurisé fabriqué à Khenchela reflète bien le respect des conditions d'hygiène lors de la production.

**Mots-clés** : lait pasteurisé, qualité microbiologique, Khenchela .

**Promoteur**: Mr BOUSSAA Abdalhalim MAB Université Abbes Laghrour –Khenchela

### **Devant le jury**

**Président** : Mr THABET Rachid.

MAA Université Abbes Laghrour –Khenchela

**Examinatrice**: Melle BOUTARFA Soumia.

MAB Université Abbes Laghrour –Khenchela

[Tapez un texte]