



Institut des Sciences  
Vétérinaires- Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**Contrôle microbiologique et physico-chimique du lait  
cru de vache collecté à la laiterie d'ARIB d'Ain Defla**

Présenté par

**-MEKLATI Belahcene**

**-HARHOUR Adam Anis**

Soutenu le Septembre 2020

Devant le jury :

Président(e) :	SELLALI S.	MAA	ISV BLIDA
Examineur :	KABIR W.	MAB	ISV BLIDA
Promoteur :	GHALLAL M.	MAB	ISV BLIDA

**Année : 2019-2020**

## REMERCIEMENTS

En guise de reconnaissance, nous voulons remercier toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration, leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre promoteur, Monsieur **GHALLAL M.**, enseignant à l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida, qui nous a donnés la chance de travailler sous sa direction, dont les conseils ont permis de réaliser ce travail, aussi bien que la personne qui nous offre une aide très précieuse pour élaborer un travail professionnel, docteur **KERROUCHE I.**

Nous remercions également les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer et ce mémoire : Mme **SELLALI S.** et Mme **KABIR W.**

Nous exprimons à monsieur **KOUI S.**, le directeur de laboratoire de la laiterie d'ARIB, une reconnaissance infinie pour avoir bien voulu nous accueillir et contribuer à la réalisation de notre travail.

## DEDICACES

Je dédie ce travail à :

- Mon cher père, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui a toujours sacrifié pour me voir réussir, que Dieu te garde ;
- La lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, maman que j'adore ;
- Mes très chères petites sœurs Aya, Chaima et Sirine, à qui je dois ma joie et mon bonheur, ainsi que ma grande sœur Aïcha avec son mari Redouane et son petit bout de sucre Mehdi, son fils ;
- Mon grand-père Mohamed et ma grand-mère Toma qui m'ont toujours encouragé et soutenu avec leurs Douaas ;
- La très chère personne à mon cœur, mon âme et ma confidente et ma meilleure amie Fettar Nesrine ;
- Tous les membres de ma famille, petits et grands ;
- Tous mes amis ;
- Ainsi qu'à la personne qui m'a ouvert son cabinet et m'a donné un bon bagage pratique dans le domaine vétérinaire, docteur SEBAA F., et docteur KERROUCHE I., qui nous a toujours aidés par ses conseils liés à la médecine vétérinaire ;
- Et pour finir, je dédie ce travail à mon cher binôme HARHOUR A. qui a vraiment honoré son engagement et qui a facilité la tâche de réaliser notre mémoire. J'étais ravi de travailler avec toi ; tu as assuré le professionnalisme, ainsi que l'amitié que je n'aurais pas souhaitée mieux.

MEKLATI B.

## DEDICACES

Je dédie ce mémoire à :

- L'être le plus cher à mon cœur, celle qui m'a guidé pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, celle qui fut toujours à mes côtés et qui a illuminé mes nuits sombres et a ensoleillé mes jours avec son inépuisable affection, ma mère que je ne pourrais jamais assez remercier ; je peux seulement te dire que je t'aime et je te serai toujours reconnaissant ;
- Ma tante qui a été comme une deuxième mère pour moi, sans elle je sais que je ne pourrais pas devenir qui je suis ;
- Ma consœur, docteur KERROUCHE I., pour être toujours à mes côtés et pour ses encouragements et conseils qui m'ont énormément aidé ;
- Et je remercie énormément docteur SEBAA de m'avoir donné la chance de faire mon premier pas dans ce domaine.

Toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment ;

- Enfin, je souhaite personnellement remercier mon binôme et ami Belahcene, avec qui j'ai formé une belle équipe, et j'ai eu beaucoup de plaisir à travailler avec.

HARHOUR A.

## RESUME

Le lait est un aliment complet et nécessaire pour les nourrissons, ainsi que les autres tranches d'âge, grâce à son apport intensif en nutriments de base et sa richesse en éléments minéraux dont le calcium et les vitamines. Cependant, sa production et sa commercialisation doivent être strictement contrôlées en raison des risques qu'elles pourraient présenter pour la santé humaine. Le contrôle de la qualité hygiénique du lait devient important et nous permet de rechercher la microflore naturelle et les micro-organismes « témoins » de toute contamination.

Notre étude vise à contrôler la qualité technologique et hygiénique du lait cru de vache collecté au niveau du laboratoire de la laiterie « ARIB » à Aïn Defla.

Sur les 498 échantillons de lait cru testés sur le plan physico-chimique, on a révélé des pourcentages élevés de non-conformité aux normes exigées à savoir : Température (91.97 %), Densité (44.18 %), acidité titrable (11.65 %), matière grasse (66.26 %) et l'extrait sec dégraissé (98.59 %).

Les analyses microbiologiques effectuées sur 31 échantillons de lait cru ont montré que la majorité de ceux-ci dépassaient le seuil de conformité du J.O.R.A. pour les GAMT (93.55 %), tandis que 19.35 % et 3.23 % des échantillons présentaient des taux supérieurs aux normes du J.O.R.A. pour les coliformes fécaux et les *Clostridium* sulfite-réducteurs, respectivement. Aucun échantillon n'était contaminé par *S. aureus*.

Ainsi, la majorité des échantillons analysés de lait cru pourraient entraver l'industrie alimentaire en raison de leur mauvaise qualité technologique et pourraient présenter des risques pour la santé publique si le lait est consommé cru.

**Mots-clés :** lait cru, analyse physico-chimique, analyse microbiologique, laiterie de « ARIB ».

## المخلص

الحليب غذاء كامل ضروري للرضع وكذلك الفئات العمرية الأخرى وذلك بفضل إمداده المكثف بالعناصر الغذائية الأساسية (البروتينات والدهون والكربوهيدرات) وثرائه بالعناصر المعدنية بما في ذلك الكالسيوم والفيتامينات. إلا أنه يجب مراقبة إنتاجه وتسويقه بدقة بسبب مخاطرهما المحتملة على صحة الإنسان.

إن التحكم في الجودة الصحية للحليب أصبح أمرًا مهمًا ويسمح لنا بالبحث عن البكتيريا الطبيعية والكائنات الحية الدقيقة "الشاهدة" على أي تلوث.

تهدف دراساتنا إلى مراقبة الجودة التكنولوجية والصحية للحليب الخام المستلم على مستوى معمل الألبان "عريب" الواقع بعين الدفلى.

من بين 498 عينة من الحليب الخام تم اختبارها على المستوى الفيزيائي والكيميائي، تم الكشف عن نسب عالية من عدم المطابقة وهي: درجة الحرارة (91,97%)، الكثافة (44,18%)، الحموضة القابلة للمعايرة (11,65%)، دهون (66,26%)، و خلاصة جافة منزوعة الدهن (98,59%).

كشفت التحليلات الميكروبيولوجية التي أجريت على 31 عينة من الحليب الخام أن معظم هذه العينات 93.55% تجاوزت عتبة الامتثال للمعايير التي وردت في الجريدة الرسمية بالنسبة لمجموع الجراثيم الهوائية متوسطة الحرارة، في حين أن 19,35% و 3.23% من العينات كان لديها نسب أعلى من المعايير المحددة في الجريدة الرسمية بالنسبة للقولونيات البرازية والمطثيات المرجعة للكبريت، على التوالي. لم تكن أي عينة ملوثة بالعنقودية الذهبية.

استنتجنا أن غالبية عينات الحليب الخام التي تم تحليلها قد تعكر صفو الصناعة الغذائية بسبب جودتها التكنولوجية الرديئة وقد تشكل خطرا على الصحة العامة إذا تم استهلاك الحليب الخام.

**الكلمات المفتاحية:** الحليب الخام، التحليل الفيزيائي والكيميائي، التحليل الميكروبيولوجي، معمل الألبان "عريب".

## ABSTRACT

Milk is a complete and necessary food for infants as well as others age groups ,thanks to its intensive supply of basic nutrients and its richness in elements minerals including calcium and vitamins. However, its production and marketing must be strictly controlled because of the risks they could present for human health. The control of the hygienic quality of the milk becomes important and allows us to search for the natural micro flora and microorganisms "witnesses" of any contamination.

Our study aims to control the technological and hygienic quality of raw cow's milk collected at the "ARIB" dairy laboratory in Ain Defla.

Out of the 498 samples of raw milk tested on the physico-chemical level, high percentages of non-conformity with the required standards were revealed, namely: Temperature (91.97%), Density (44.18%), titratable acidity (11.65%), fat (66.26%) and defatted dry extract (98.59%).

Microbiological analysis performed on 31 raw milk samples showed that the majority of these exceeded the compliance threshold of the J.O.R.A. for GAMT (93.55%), while 19.35% and 3.23% of the samples had higher rates to the standards of J.O.R.A. for fecal coliforms and sulfite-reducing Clostridiums, respectively. No sample was contaminated with *S. aureus*.

Thus, the majority of analyzed samples of raw milk could hamper the industry food due to their poor technological quality and could present risks to public health if milk is consumed raw.

**Keywords:** raw milk, physico-chemical analysis, microbiological analysis, "ARIB" dairy.

## Sommaire

REMERCIEMENTS.

DEDICACES.

RESUME.

Liste des tableaux

Listes des figures

Liste des abréviations

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre 1 : Généralités sur le lait</b> .....	<b>3</b>
1-1- Définition .....	4
1-2- Composition chimique .....	4
1-2-1- Eau .....	5
1-2-5- Glucides .....	6
1-2-2- Lipides (matière grasse) .....	6
1-2-3- Matière azotée .....	6
1-2-3-1- Azote non protéique (ANP) .....	6
1-2-3-2- Protéines vraies .....	7
1-2-4- Enzymes .....	7
1-2-5- Minéraux .....	8
1-2-6- Vitamines .....	8
1-3- Composition biologique .....	9
1-3-1- Cellules .....	9
1-3-2- Micro-organismes .....	9
1-4- Facteurs influençant la sécrétion lactée .....	9
1-4-1- Facteurs intrinsèques .....	9
1-4-1-1- Facteurs génétiques .....	9
1-4-1-2- Facteurs physiques .....	10
1-4-2- Facteurs extrinsèques .....	10
1-4-2-1- Facteurs climatiques .....	10
1-4-2-2- Facteurs liés aux conditions d'élevage .....	10
1-4-2-3- Alimentation .....	11
1-5- Paramètres physiques du lait .....	11

1-5-1- Couleur .....	11
1-5-2- Odeur .....	12
1-5-3- Saveur .....	12
1-5-4- Viscosité : .....	12
1-6- Paramètres chimiques du lait : .....	12
1-6-1- Masse volumique et densité : .....	12
1-6-2- Point d'ébullition : .....	13
1-6-3- Point de congélation : .....	13
1-6-4- Acidité du lait : .....	13
1-7- Contrôle de la qualité du lait : .....	13
1-7-1- Nombre de germes : .....	14
1-7-2- Nombre de cellules somatiques : .....	14
1-7-3- Résidus d'antibiotiques : .....	14
1-7-4- Résidus de désinfectants : .....	14
1-7-5- Point de congélation : .....	14
1-7-6- Propreté visible : .....	15
1-8- Différents stades de contamination du lait cru : .....	15
1-8-1- Contamination au stade de production : .....	15
1-8-2- Contamination par l'animal : .....	16
1-8-3- Contamination au cours de la traite : .....	17
1-8-4- Contamination au cours du transport : .....	17
<b>Chapitre 2 : Microbiologie du lait</b> .....	<b>18</b>
2-1- Généralités .....	19
2-2- Groupes de micro-organismes : .....	19
2-2-1- Virus .....	19
2-2-2- Bactéries .....	20
2-2-3- Levures .....	20
2-2-4- Moisissures .....	20
2-3- Principales activités microbiennes dans le lait .....	21
2-3-1- Fermentation homolactique et hétérolactique avec acidification du lait .....	21
2-3-2- Protéolyse .....	22
2-3-3- Lipolyse .....	22
2-4- Classification microbiologique du lait .....	22

2-4-1- Flore originelle du lait .....	23
2-4-2- Flore de contamination .....	23
2-4-3- Flore d'altération .....	24
2-5- Marqueurs ou bactéries témoins de contamination fécale : .....	24
2-5-1- Coliformes .....	24
2-5-2- Streptocoques fécaux : .....	25
2-5-3- Flore pathogène .....	25
2-6- Germes responsables de défauts de fabrication : .....	26
<b>Chapitre 3 : Partie expérimentale</b> .....	<b>27</b>
3-1- Objectifs .....	28
3-2- Lieu et période de stage .....	28
3-3- Matériel et méthodes .....	28
3-3-1- Matériel .....	28
3-3-2- Méthodes .....	28
3-3-2-1- Collecte des prélèvements de lait .....	28
3-3-2-2- Analyses physico-chimiques .....	29
3-3-2-2-1- Température (T°) .....	29
3-3-2-2-2- Potentiel d'hydrogène (pH) .....	29
3-3-2-2-3- Acidité titrable (AC) .....	29
3-3-2-2-4- Teneur en matière grasse (MG) .....	30
3-3-2-2-5- Densité (D°) .....	30
3-3-2-2-6- Extrait sec dégraissé (ESD) .....	31
3-3-2-3- Analyses microbiologiques .....	31
3-3-2-3-1- Préparation des dilutions .....	31
3-3-2-3-2- Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) .....	31
3-3-2-3-3- Recherche et dénombrement des coliformes fécaux : .....	32
3-3-2-3-4- Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs : .....	32
3-3-2-3-5- Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> : .....	33
3-4- Résultats : .....	34
3-4-1- Analyses physico-chimiques : .....	34
3-4-1-1- Normes des paramètres physico-chimiques du lait cru .....	34
3-4-1-2- Interprétation des résultats des analyses physico-chimiques .....	34
3-4-2- Analyses bactériologiques : .....	35

3-4-2-1- Normes bactériologiques du lait cru .....	36
3-4-2-2- Interprétation des résultats des analyses bactériologiques : .....	37
3-4-2-3- Interprétation des résultats des analyses bactériologiques selon les normes de laiterie « ARIB » : .....	38
3-5- Discussion .....	39
3-5-1- Caractéristiques physico-chimiques :.....	39
3-5-2- Recherche et dénombrement des germes .....	40
<b>Conclusion</b> .....	<b>42</b>

**Références bibliographiques**

**ANNEXE**

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b> Composition chimique et propriétés physiques du lait de vache (Alais, 1984). ....	<b>5</b>
<b>Tableau 2:</b> Composition lipidique du lait (Amiot <i>et al.</i> , 2002 ; Gaidiget <i>al.</i> , 2001 ; Nobel, 1998).....	<b>6</b>
<b>Tableau 3:</b> Constituants majeurs salins du lait de vache (g/l) (Alais, 1984).....	<b>8</b>
<b>Tableau 4:</b> Germes contaminant le lait cru (Jakob <i>et al.</i> , 2009).....	<b>16</b>
<b>Tableau 5:</b> Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002). ....	<b>23</b>
<b>Tableau 6:</b> Normes physico-chimiques pour le lait cru selon le J.O.R.A (J.O.R.A., 1998). ....	<b>34</b>
<b>Tableau 7:</b> Interprétation des résultats des analyses physico-chimiques selon les normes du J.O.R.A. (J.O.R.A., 1998). ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>Tableau 8:</b> Taux des échantillons contaminés. ....	<b>35</b>
<b>Tableau 9:</b> Germes recherchés et normes bactériologiques pour le lait cru selon le J.O.R.A. (J.O.R.A., 1998). ....	<b>37</b>
<b>Tableau 10:</b> Interprétation des résultats des analyses bactériologiques selon les normes du J.O.R.A. (J.O.R.A., 1998). ....	<b>37</b>
<b>Tableau 11:</b> Normes bactériologiques pour le lait cru selon la laiterie « ARIB ». ....	<b>38</b>
<b>Tableau 12:</b> Classement des échantillons du lait selon leur qualité hygiénique. ....	<b>39</b>

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1:</b> Critères de la qualité du lait et leurs impacts (Cauty et Perreau, 2009). .....	<b>15</b>
<b>Figure 2:</b> Laiterie de « Arib », Wilaya de Aïn Defla, Algérie (plan de la laiterie). .....	<b>28</b>
<b>Figure 3:</b> Représentation graphique des résultats des analyses physico-chimiques. ....	<b>35</b>
<b>Figure 4:</b> Représentation graphique des taux des échantillons contaminés. ....	<b>36</b>
<b>Figure 5:</b> Représentation graphique des résultats des analyses bactériologiques. ....	<b>38</b>
<b>Figure 6:</b> Représentation graphique du classement des échantillons du lait selon leur qualité hygiénique.....	<b>39</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

- **AC** : Acidité titrable.
- **AFNOR** : Association Française de Normalisation.
- ANP** : Azote non-protéique.
- Ca** : Calcium.
- **CFU** : Colony Forming Unit (Unité Faisant Colonie).
- CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone.
- **D°** : Densité.
- **ESD** : Extrait Sec Dégraissé.
- EST** : Extrait Sec Total.
- FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture).
- GAMT** : Germes Aérobie Mésophiles Totaux.
- **H<sub>2</sub>S**: Sulfure d'hydrogène.
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Acide sulfurique.
- **HTST**: High Temperature Short Time.
- **J.O.R.A.** : Journal Officiel de la République Algérienne.
- K**: Potassium.
- **m** : Norme bactériologique pour le lait cru, décrite par le J.O.R.A.
- **M** : Norme bactériologique pour le lait cru, décrite par la laiterie « ARIB ».
- Mg** : Magnésium.
- MG** : Matière Grasse.

-**Na**: Sodium.

-**NaCl** : Chlorure de sodium.

-**NaOH** : Hydroxyde de sodium (Soude).

- **P**: Phosphore.

- **PCA**: Plate Count Agar.

- **pH** : Potentiel d'hydrogène.

- **PMN** : polymorpho-nucléaire.

- **T°**: Température.

-**VF** : Viande-Foie.

-**VRBL** : milieu lactosé bilié au cristal violet et au rouge neutre.

- **β** : Bêta.

-**°C** : Degré Celsius.

-**°D** : Degré Dornic.

# Introduction

Le lait est un substrat très riche fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet. Riche en vitamines, en protéines de haute valeur biologique, en oligo-éléments et en eau, le lait est un aliment complexe aux nombreuses vertus ; c'est le compagnon indispensable une alimentation équilibrée (**Debrey, 2001**). Pour cela, il reste l'aliment le plus consommé dans le monde. L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec un marché annuel estimé, en 2004, à 1.7 milliards de litres (**Benelkadi, 2005**).

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 lait en poudre (**SILAIT, 2008**).

Cependant, la production du lait de vache se heurte souvent au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs. Les conditions d'hygiène au niveau des fermes et le maintien de la chaîne du froid tout au long du circuit de la production jusqu'à l'arrivée du lait à la laiterie, comportent autant de sources de contaminations à maîtriser afin de préserver la qualité hygiénique du lait (**Faye et Loiseau, 2002**).

Les micro-organismes présents dans notre environnement vont trouver dans le lait un substrat idéal pour leur développement (**Chyeet al., 2004**). La présence de nombreux facteurs de croissance favorise la multiplication des germes provenant des mauvaises conditions d'hygiène, ainsi que l'état sanitaire de l'homme (**Coorevista et al., 2008**).

Les principales mesures de plan laitier ont surtout concerné les aspects quantitatifs de la production et se sont très peu intéressées à la qualité du produit et à son évolution. L'amélioration de la qualité du lait est devenue un objectif affiché dans les pays dits développés, où ce produit est soumis à une réglementation, à un contrôle sévère à tous les niveaux, de la production à la vente, et à des contrôles portant sur la teneur en matière grasse, en micro-organismes, en cellules somatiques et en antibiotiques. Pour certaines catégories de lait, les contrôles portent également sur l'hygiène des étables, l'état sanitaire des vaches, les conditions de la traite ainsi que les opérations de traitement du lait (**Anonyme 1**).

Sur la lumière de ces données, on a réalisé ce travail ayant pour dessein d'apprécier la qualité physico-chimique et microbiologique du lait cru de vache.

# **Chapitre 1**

## **Généralités sur le lait**

## **1-1- Définition :**

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière » (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

Selon Alais, le lait est le produit de la sécrétion des glandes mammaires des mammifères, destiné à l'alimentation des jeunes animaux naissants. C'est un liquide opaque, blanc, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en  $\beta$ -carotène (**Alais, 1984**). Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent milieu de croissance pour les bactéries (**Bourgeois et al., 1996**). Il doit être proprement recueilli et ne doit pas contenir de colostrum (**Debrey, 2001 ; Larpent, 1997**). Le colostrum est le liquide sécrété par la glande mammaire dans les jours qui suivent la mise-bas. Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme, la date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation et doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24 heures (**Fredot, 2006**). La dénomination « lait » sans indication de l'espèce animale est réservée au lait de vache (**Dehove, 1984**).

## **1-2- Composition chimique :**

Franworth et Mainville évoquent que le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes. Le lait est un édifice physico-chimique extrêmement complexe. Il contient de l'eau (**Luquet, 1990**), des lipides, des protéines et des minéraux, mais aussi des vitamines (**Cayot et Lorient, 1998**) et des enzymes (**Luquet, 1990**). Selon Favier, le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A, ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E (**Favier, 1985**).

Le tableau suivant (tableau n° 1) fait apparaître les teneurs moyennes des composants du lait de vache.

**Tableau 1** : Composition chimique et propriétés physiques du lait de vache (Alais, 1984).

Composants		Composition (g/l)	Etat physiologique des composants
Eau		905	Eau libre (solvant) + eau liée (3,7 %)
Glucides (Lactose)		49	Solution
Lipides	Matière grasse	34	Emulsion des globules gras (3 à 5 microns)
	Lécithine (phospholipides)	0,5	
	Partie insaponifiable (Stérols, Carotènes, Tocophérols)	0,5	
Protides	Protéines solubles	Globulines	Suspension micellaire de phosphocaséine de Calcium (0,8 à 0,12 microns)
		Albumines	Solution (colloïdale)
		Caséines	Solution (vraie)
	Substances azotées non protéiques	/	
Sels :		9	Solution en état colloïdal (P, Ca) Sels de K, Ca, Na, Mg, ... etc.
-Sels de l'acide citrique (en acide)		2	
-Sels de l'acide phosphorique		2,6	
-Sels de l'acide chlorhydrique (NaCl).		1,7	
Extrait sec non gras		92	
Extrait sec total		127	
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)		Traces	

### 1-2-1- Eau :

En termes de proportion, l'eau représente le constituant le plus important du lait. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides et les minéraux (**Amiot *et al.*, 2002**).

Selon Mahaut et ses collaborateurs, le lait contient en moyenne 875 g/l d'eau, cette eau se trouve sous deux états :

- L'eau extra-micellaire : représente environ 90 % de l'eau totale et contient la quasi-totalité du lactose, des sels minéraux solubles et de l'azote soluble ;

- L'eau intra-micellaire : représente environ 10 % de l'eau totale, une fraction de cette eau est liée aux caséines et l'autre conserve des propriétés de solvant (**Mahaut et al., 2003**).

#### 1-2-5- Glucides :

Le glucide principal du lait est le lactose, c'est un diholoside composé de deux molécules : un glucose et un galactose (**Chetel et Cheftel, 1997**).

La teneur en glucides variables au cours de la lactation est différente selon l'espèce prise en compte (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

#### 1-2-2- Lipides (matière grasse) :

Le lait cru contient naturellement entre 3,6 % et 4,5 % de matière grasse (MG). C'est le second constituant de la matière sèche du lait après le lactose (**Gaidiget al., 2001**). Cette MG est sous forme de globules gras en émulsion dans la phase aqueuse du lait (**Amiot et al., 2002**).

La composition de la MG du lait est indiquée dans le tableau ci-dessous (tableau 2).

**Tableau 2:** Composition lipidique du lait (Amiot et al., 2002 ; Gaidiget al., 2001 ; Nobel, 1998).

Constituants	Proportion de lipides du lait (%)
Triglycérides	98
Phospholipides	01
Fraction insaponifiable	01

#### 1-2-3- Matière azotée :

Le lait de vache contient en moyenne 35 g/l de matières azotées (**Fournier et Terrien, 1998**). Les matières azotées contenues dans un litre de lait se répartissent en :

##### 1-2-3-1- Azote non protéique (ANP) :

Représente chez la vache 5 % de l'azote total du lait. Il est essentiellement constitué par l'urée (33 à 79 % de l'azote non protéique du lait). On y trouve également et par ordre d'importance les acides aminés libres, l'acide urique, l'ammoniac et la créatinine. Il y a une corrélation étroite entre la teneur en urée du lait et celle du sang (**Hanzen, 1999**).

### **1-2-3-2- Protéines vraies :**

Selon Cayot et Lorient, ces protéines existent sous un grand nombre de structures différentes. Les protéines peuvent être subdivisées en deux grandes catégories, les protéines solubles dites protéines du lactosérum et les caséines (**Cayot et Lorient, 1998**).

#### **Protéines du lactosérum :**

Elles sont beaucoup moins abondantes que les précédentes, mais elles ont une meilleure valeur nutritionnelle, surtout en raison de leur teneur en acides aminés soufrés et en lysine. Les protéines du lactosérum sont représentées en général par : la  $\beta$ -lactoglobuline, la lactalbumine, les immunoglobulines et l'albumine sérique. Les protéines du lactosérum se divisent en protéines mineures et protéines majeures (**Fournier et Terrien, 1998 ; Pernoudet al., 2005**) :

- Les protéines mineures du lactosérum sont les immunoglobulines, albumine sérique bovine, la lactoferrine, la lactoperoxydase, la phosphatase alcaline, la sulfhydryle oxydase, le lysozyme et la plasmine (**Morr et Ha, 1993**).
- Les protéines majeures du lactosérum sont : la  $\beta$ -lactoglobuline et l' $\alpha$ -lactalbumine (**Cayot et Lorient, 1998**).

#### **Caséines :**

Elles forment plus de 75 % de l'azote total et ont la caractéristique essentielle de précipiter à : un pH de 4,65 et une température ambiante, et de ne pas être insolubilisées par chauffage à 100 °C. Ce sont de petites protéines de faibles poids moléculaires, formant un complexe protéique phosphoré à caractère acide. La micelle de caséines, particule sphérique d'environ 180 nm, est constituée de 92 % de protéines et de caséines, dont la caséine  $\alpha$ s ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ), la caséine  $\beta$ , la caséine  $\gamma$  et la caséine  $\kappa$  ; et une partie minérale comportant 90 % de phosphate de calcium et 10 % d'ions de citrate et de magnésium (**Cayot et Lorient, 1998**).

### **1-2-4- Enzymes :**

Les enzymes sont un groupe de protéines produites par les organismes vivants, elles ont la propriété de déclencher des réactions chimiques et d'affecter le cours et la vitesse de ces réactions (**Anonyme 2**). Les enzymes du lait proviennent soit du pis de la vache soit des bactéries. Les premières sont les constituants normaux du lait, on les appelle les enzymes

originales. Les dernières (les enzymes bactériennes), varient en type et en abondance suivant la nature et la taille de la population bactérienne. En fonction de leurs propriétés, ces enzymes peuvent jouer un rôle très important (**Got, 1971**).

#### 1-2-5- Minéraux :

Le lait contient un certain nombre de minéraux, leur concentration totale est inférieure à 1 %. Les sels les plus importants sont les sels du calcium, sodium et magnésium (**Alais et Linden, 1987**).

Le calcium et le phosphore sont les deux éléments fondamentaux de la structure de la micelle, ils sont, avec le magnésium, responsables de la stabilisation de la micelle. Les ions de potassium, sodium et chlore réalisent, avec le lactose, l'équilibre de la pression osmotique du lait dans la mamelle vis-à-vis de la pression sanguine, ils subissent des variations importantes en cas de mammite (**Gueguen, 2001**). Les constituants majeurs de la matière saline du lait de vache sont repris dans le tableau n° 3.

**Tableau 3:** Constituants majeurs salins du lait de vache (g/l) (Alais, 1984).

Constituants	Teneurs moyennes
Potassium	1,50
Sodium	0,50
Calcium	1,25
Magnésium	0,12
Phosphore	0,95
Chlore	1,00
Soufre	0,35
Acide citrique	1,80

#### 1-2-6- Vitamines :

Le lait contient de nombreuses vitamines, parmi les plus connues, citons les vitamines A, B1, B2, C et D. Les vitamines A et D sont solubles dans les graisses (liposolubles), alors que les autres sont solubles dans l'eau (hydrosolubles) (**Anonyme 2**). Elles sont en quantités variables dépendant de facteurs exogènes (race, alimentation, radiation solaire) (**Mahaut et al., 2000**).

### **1-3- Composition biologique :**

Un lait, lui-même recueilli aseptiquement et provenant d'un animal parfaitement sain, contient toujours des cellules, parmi lesquelles on distingue :

#### **1-3-1- Cellules :**

Comme tout liquide biologique, le lait, même normal, contient des cellules somatiques, qu'elles sont de nature hétérogène, parmi lesquelles il y a les cellules d'origine sanguine : PMN (leucocytes polymorphonucléaires), macrophages et lymphocytes ; impliquées essentiellement dans les défenses immunitaires de la mamelle. Le lait contient également les cellules épithéliales qui proviennent de la desquamation de l'épithélium glandulaire ou des canaux lactifères, ces dernières ne jouent aucun rôle physiologique particulier (**Rupp, 2000**). La présence des cellules somatiques ne présente, elle-même, aucun pouvoir pathogène ou toxique, mais elle est le signe révélateur d'existence de germes ou produits indésirables (**Badinand, 1994**).

#### **1-3-2- Micro-organismes :**

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml) (**Hermier et al., 1992**). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores microscopiques, streptocoques lactiques et lactobacilles. D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux de point de vue sanitaire (**Larpent, 1996**).

### **1-4- Facteurs influençant la sécrétion lactée :**

#### **1-4-1- Facteurs intrinsèques :**

##### **1-4-1-1- Facteurs génétiques :**

La production laitière est influencée par trois facteurs :

- **Race** : Selon Veisseyre, les vaches « pie-noire » ont une aptitude laitière très développée mais produisent un lait à faible teneur en matière grasse (35 - 36 g/l), comparées aux vaches « Bretonne » et « Normande » qui sont considérées comme des races «

beurrières » et produisent un lait titrant plus de 40 g/l de matière grasse (**Veisseyre, 1975**).

- **Individu** : La variation individuelle compte pour environ 17,2 % de variation totale (**Jarrige, 1980**).
- **Croisement** : Les croisements semblent influencer la production laitière (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

#### **1-4-1-2- Facteurs physiques :**

- **Age ou numéro de lactation** : On peut considérer que l'effet de l'âge est très faible sur les quatre premières lactations. On observe une diminution de taux butyreux de 1 % et du taux protéique de 0,6 % (**Pougheon et Goursaud, 2001**).
- **Stade de lactation** : Une vache normale connaît une lactation par an. Au cours de la lactation, la richesse en matières utiles varie en sens inverse de la quantité du lait produite (**Luquet, 1985**).

#### **1-4-2- Facteurs extrinsèques :**

##### **1-4-2-1- Facteurs climatiques :**

La saison a une influence importante qui se rajoute aux autres facteurs (alimentation, stade de lactation, âge). De façon immuable, le taux butyreux passe par un minimum en juin et juillet, et par un maximum à la fin de l'automne. La teneur en protéines passe par deux minimums, un à la fin de l'hiver et l'autre au milieu de l'été ; et par deux maximums : à la mise de l'herbe et à la fin de la période de pâturage (**Pougheon et Goursaud, 2001**). La teneur en calcium est minimale en été et maximale en printemps (**Luquet, 1985**).

##### **1-4-2-2- Facteurs liés aux conditions d'élevage :**

La multiplication des traites accroît à la fois la production du lait et sa teneur en matière grasse par suite de l'excitation de la mamelle. Au cours d'une même traite, la teneur en matière grasse augmente jusqu'à la fin, le taux butyreux passe de 10g/kg pour les premiers jets à 80g/kg pour les derniers, alors que la teneur en caséine a plutôt tendance à diminuer (**Veisseyre, 1975**).

### **1-4-2-3- Alimentation :**

L'alimentation n'est pas un des principaux facteurs de variation du lait mais elle est importante car elle peut être modifiée par l'éleveur. Une réduction courte et brutale du niveau d'alimentation se traduit par une réduction importante de la qualité du lait produite et une baisse variable du taux protéique (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

L'eau, premier aliment à considérer, doit être de quantité et de qualité suffisante (**Perreau et Cauty, 2003**).

D'après Pougheon et Goursaud, la mobilisation des graisses corporelles entraîne une augmentation très importante du taux butyreux associée à une modification de la composition en matière grasse (augmentation de la part des acides gras à chaîne longue). Avec un apport de fourrage à volonté, un niveau d'apports azotés conduit au meilleur taux azoté avec accroissement de l'azote non protéique des caséines. L'addition de matière grasse dans la ration induit le plus souvent à une baisse du taux butyreux, mais elle influence la composition en acides gras de matière grasse du lait (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

### **1-5- Paramètres physiques du lait :**

Vierling rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur et la texture du lait ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais (**Vierling, 2003**).

#### **1-5-1- Couleur :**

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le  $\beta$ -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait) (**Fredot, 2005**).

Reumont explique que dans le lait, deux composants, les lipides et les protéines, diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche (**Reumont, 2009**).

### **1-5-2- Odeur :**

Selon Vierling, l'odeur du lait est caractéristique du fait de la matière grasse qu'il contient. En effet, cette matière grasse fixe des odeurs animales. Ces odeurs sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur) et à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (**Vierling, 1999**).

### **1-5-3- Saveur :**

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est parfois de même pour le colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**Thieulin et Vuillaume, 1967**).

### **1-5-4- Viscosité :**

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdales émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques. C'est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur (**Anonyme 3**).

## **1-6- Paramètres chimiques du lait :**

### **1-6-1- Masse volumique et densité :**

La masse volumique de l'eau est de 1,00 g/ml à 4 °C et de 0.99823g/ml à 20 °C. Le lait est deux fois plus visqueux que l'eau, sa densité à 15 °C varie de 1.028 à 1.035 pour une moyenne de 1.032. Plus le lait contient un pourcentage élevé en matière grasse, plus sa densité sera basse. On peut donc affirmer qu'un écrémage du lait augmentera sa densité et qu'un mouillage ou une addition d'eau la diminuera (**Amiot et al., 2002**).

### **1-6-2- Point d'ébullition :**

Il subit l'influence de la présence de solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100,5 °C. Cette propriété physique diminue avec la pression (**Amiot et al., 2002**).

### **1-6-3- Point de congélation :**

Il est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Il peut varier de - 0,550 °C à - 0,530 °C. Un point de congélation supérieur à - 0,530 °C permet de soupçonner une addition d'eau au lait. On vérifie le point de congélation du lait à l'aide d'une cryoscopie (**Amiot et al., 2002**).

### **1-6-4- Acidité du lait :**

Dès sa sortie du pis de la vache, le lait démontre une certaine acidité appelée « acidité apparente » ou « acidité naturelle » du lait. Elle varie entre 0,13 et 1,17 % d'équivalent d'acide lactique (**Amiot et al., 2002**).

Le lait cru ne contient qu'environ 0,002 % d'acide lactique, et un lait frais a une acidité de 18 °D (**Universalise, 1997**).

Selon Jean et Dijon, l'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques ; et de l'acidité développée, due à l'acide lactique formé dans la fermentation lactique. L'acidité titrable du lait est déterminée par dosage par une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine. Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (°D), dont 1°D est égal à 0,1g d'acide lactique par litre de lait. Un lait cru au ramassage doit avoir une acidité  $\leq 21$  °D. Un lait dont l'acidité est  $\geq 27$  °D coagule au chauffage ; par contre un lait dont l'acidité est  $\geq 70$  °D coagule à froid (**Jean et Dijon, 1993**).

### **1-7- Contrôle de la qualité du lait :**

La qualité du lait est déterminée sur la base de six critères différents : le nombre de germes, le nombre de cellules somatiques, la présence de résidus d'antibiotiques et de désinfectants, le point de congélation et la propreté visible (figure 1) (**Cauty et Perreau, 2009**).

### **1-7-1- Nombre de germes :**

Il est utilisé pour mesurer la contamination par les bactéries. Le matériel de traite peut constituer une importante source de contamination. De même, le refroidissement insuffisant du lait entraîne une augmentation du nombre de germes. Les exigences pour ce critère varient selon le devenir du lait. Ainsi, elles seront plus sévères dans le cas de fabrication de fromage au lait cru que lorsqu'il y a pasteurisation (**Cauty et Perreau, 2009**).

### **1-7-2- Nombre de cellules somatiques :**

C'est un indicateur important de la sante du pis. Un lait chargé en cellules présente un taux de protéines solubles élevé, une faible teneur en caséine, une protéolyse et une lipolyse accrue. En conséquence, le rendement fromager est diminué et des difficultés de coagulation apparaissent (**Cauty et Perreau, 2009**).

### **1-7-3- Résidus d'antibiotiques :**

Pour le traitement des animaux malades, l'emploi de médicaments vétérinaires, notamment des antibiotiques, peut s'avérer nécessaire. Il est, toutefois, strictement interdit de fournir du lait contenant des substances inhibitrices dépassant les normes légales. A cette fin, chaque livraison de lait est analysée quant à la présence de résidus d'antibiotiques (**Cauty et Perreau, 2009**).

### **1-7-4- Résidus de désinfectants :**

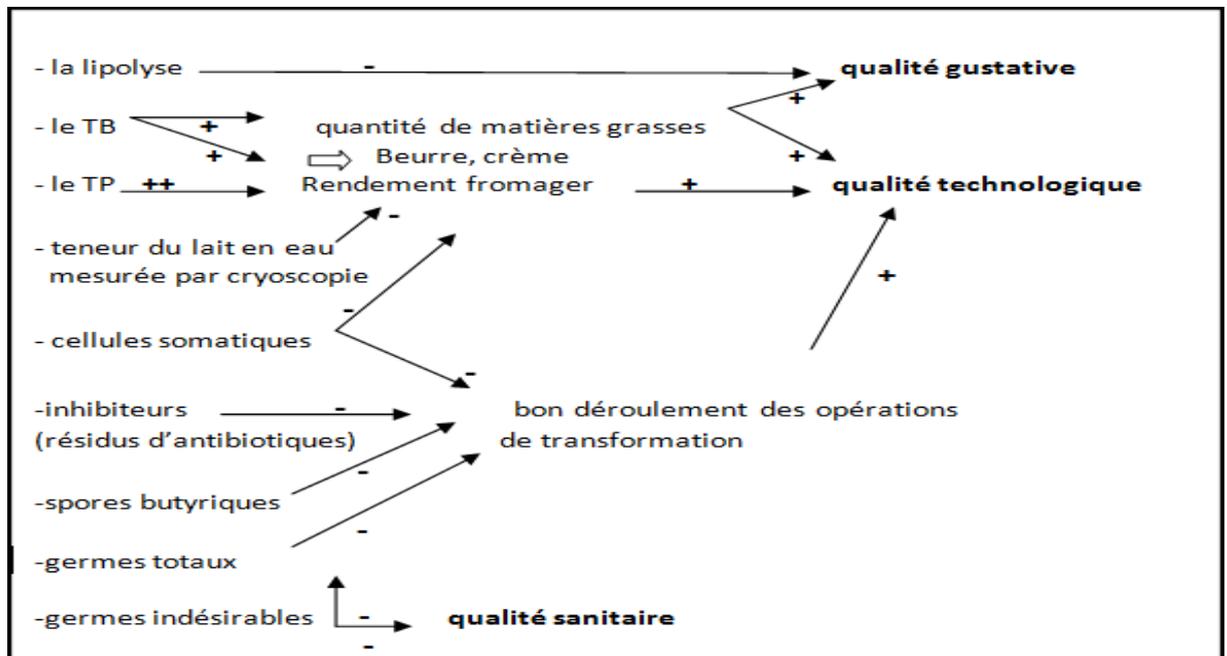
Les désinfectants sont nécessaires pour garder l'installation exempte de bactéries. Grâce à un rinçage à l'eau claire, les restes de ces produits sont éliminés. Si ce rinçage n'est pas effectué ou est insuffisant, des restes de ces produits peuvent aboutir dans le lait (**Cauty et Perreau, 2009**).

### **1-7-5- Point de congélation :**

Il indique la présence d'eau ajoutée dans le lait. Le plus souvent, c'est dû à la négligence dans le nettoyage de l'installation de traite, de sorte que de l'eau de rinçage se mélange au lait ; mais il peut être le résultat d'une fraude (**Cauty et Perreau, 2009**).

### 1-7-6- Propreté visible :

Elle est déterminée par le filtrage du lait à l'aide d'un matériel filtrant adéquat. Un filtre sale indique que le pis et son environnement sont insuffisamment propres (Cauty et Perreau, 2009).



(+) effet positif ; (-) effet négatif

Figure 1: Critères de la qualité du lait et leurs impacts (Cauty et Perreau, 2009).

### 1-8- Différents stades de contamination du lait cru :

#### 1-8-1- Contamination au stade de 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 son 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 psychrotropes et psychrophiles (quelques jours) (Guiraud et Galzy, 1980).

**Tableau 4:** Germes contaminant le lait cru (Jakob *et al.*, 2009).

Germes	Sources de contamination	Psychotropes
- Germes à Gram positif -Germes sporulés aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
-Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
-Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
-Staphylocoques	Peau, muqueuses	Non
-Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
-Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
-Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
-Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
- Germes à Gram négatif -Colibactéries ( <i>E. coli</i> )	Fèces, eaux usées	Non
-Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
- <i>Pseudomonas</i>	Eau, sol (très répandu)	Oui
- <i>Alcaligenes</i> , <i>Flavobacterium</i> , etc.	Eau, sol (très répandu)	Oui
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandus)	Oui

### 1-8-2- Contamination 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 yaourts, les 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 ou 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 les lieux dans l'étable où le niveau de propreté est inadéquat et ainsi apporter les correctifs nécessaires (**Levesque, 2004**).

#### **1-8-3- Contamination 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). Dans le lactoduc et l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents (**Lemire, 2007**).

#### **1-8-4- Contamination 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 micro-organismes. 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 2**

## **Microbiologie du lait**

## **2-1- Généralités :**

Le lait, de par sa composition, est un aliment de choix. Il est donc un substrat très favorable au développement des micro-organismes (**Guiraud, 2003**).

Le lait contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène qui sont, pour la plupart, des micro-organismes « contaminants » (**Gripou et al., 1975**).

Les micro-organismes principalement présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (**Institut de l'élevage, 2009**).

L'importance et la nature des bactéries contaminant le lait dépendent de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (**Agabriel et al., 1995**), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (**Robinson, 2002**).

L'étude de la microbiologie permet de caractériser et ainsi de mieux contrôler les quatre principaux groupes de micro-organismes ou microbes présents dans l'environnement alimentaire et laitier (**Lamontage et al., 2002**).

## **2-2- Groupes de micro-organismes :**

On retrouve quatre groupes de micro-organismes qui ont une importance dans le domaine laitier (**Lamontage et al., 2002**) :

### **2-2-1- Virus :**

Le virus est le plus petit des micro-organismes connus. Il a besoin d'un organisme vivant pour se développer. La présence de virus dans un produit laitier signifie qu'un manipulateur, un animal, l'eau ou une composante utilisée dans la formulation du produit alimentaire a servi de

vecteur d'incorporation. Les principaux virus associés au secteur laitier sont ceux de l'hépatite A et les bactériophages. Cependant, ce phage spécifique aux bactéries n'est pas dangereux pour l'humain (**Lamontage et al., 2002**).

### **2-2-2- Bactéries :**

Les bactéries peuvent être jusqu'à 1000 fois plus grosses qu'un virus. Toutes les bactéries peuvent se retrouver sous la forme végétative, forme sous laquelle elles peuvent se nourrir, se multiplier et libérer des sous-produits de leur métabolisme. Selon leur action, on peut classer les bactéries comme utiles, nuisibles ou pathogènes. On retrouve des genres de bactéries pathogènes infectieuses et toxigènes. Les bactéries infectieuses doivent être vivantes dans l'aliment lors de consommation pour agir. Une fois ingérées, elles dérèglent le système digestif. Les principales bactéries infectieuses associées aux produits laitiers sont *Salmonella sp.*, *Escherichia coli O157: H7*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter sp.* Et *Clostridium perfringens*. A propos des bactéries toxigènes, elles produisent une toxine dans l'aliment et c'est cette toxine qui rend le consommateur malade. Il n'est donc pas suffisant de détruire la bactérie pour éviter l'incidence de la maladie. De plus, certaines toxines sont résistantes aux traitements thermiques tels que la pasteurisation et même la stérilisation dans certains cas. Les principales bactéries toxigènes sont *Staphylococcus sp.* et *Clostridium botulinum* (**Lamontage et al., 2002**).

### **2-2-3- Levures :**

Les levures sont de 10 à 40 fois plus grosses que les bactéries. Elles se développent en produisant des bourgeons. Il ya des levures qui participent à l'affinage de certains fromages. On retrouve aussi des levures nuisibles responsables de certaines dégradations détectées par les odeurs d'alcool, un gonflement des emballages, la production de gaz et par le limonage. La dégradation d'aliments causée par les levures peut être un indice de la présence d'autres micro-organismes pathogènes. Elle est certainement un indice de mauvaise pratique et de fabrication mal contrôlées (**Lamontage et al., 2002**).

### **2-2-4- Moisissures :**

Les moisissures, plus grosses que les levures, ont une forme appelée « thalle ». Il ya des moisissures utiles qui sont employées dans la fabrication de fromages. Il ya également des

moisissures nuisibles et des moisissures pathogènes qui sont pour la plupart toxigènes (Lamontage *et al.*, 2002).

### **2-3- Principales activités microbiennes dans le lait :**

Les altérations du lait sont associées à la multiplication de levures, moisissures et bactéries. Cependant et compte tenu de leurs caractères écologiques, les contaminations bactériennes sont les plus fréquentes et les plus importantes et leurs potentialités de développement sont les plus à craindre. Ces processus de dégradation sont possibles, lorsque les conditions du milieu environnant sont favorables à la prolifération microbienne et à l'activité enzymatique. De graves défauts de goût et d'odeur peuvent apparaître par accumulation des produits issus, soit du métabolisme cellulaire, soit de l'action de systèmes enzymatiques complexes sur les constituants du lait. Le plus fréquemment, il s'agit de lait acide, amer, fruité, rance, malté et à goût étranger (Kim *et al.*, 1982).

#### **2-3-1- Fermentation homolactique et hétérolactique avec acidification du lait :**

Un tel processus conduit à la coagulation de la caséine et à la prise en masse du lait. Selon la température du lait et les bactéries impliquées, le phénomène de coagulation sera plus ou moins rapide. Entre 10 °C et 37 °C, le germe le plus fréquemment impliqué est *Streptococcus lactis* avec plus rarement association avec des coliformes, entérocoques, microcoques et lactobacilles. Au-dessus de 37 °C, les germes en cause sont *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis* et *Lactobacillus bulgaricus*. À des températures inférieures à 10 °C, le processus est plus lent, la prise en masse nécessite un délai relativement important. Le caillé peut être dégradé dans une seconde étape par les espèces psychotropes protéolytiques : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, microcoques, et autres (Guiraud et Galzy, 1980 ; Leyral et Vierling, 2007).

Après pasteurisation, l'acidification est produite par des germes thermotolérants ou des sporulés ayant résisté comme les *Clostridium* et les *Bacillus*. Lorsque des bactéries lactiques hétérofermentaires interviennent, il y a en plus des acides organiques et de nombreux composés volatils variés (aldéhydes, cétones, alcools) (Guiraud, 2003). Ces composés, lorsqu'ils sont élaborés en quantité limitée, sont parfois recherchés, car ils contribuent à former le bouquet caractéristique de beaucoup de produits laitiers ; mais lorsqu'ils sont présents à forte concentration, ils engendrent des mauvais goûts et odeurs. Un exemple classique est donné par

le diacétyle qui, à l'état très dilué, est responsable d'un goût de noisette et à l'état plus concentré se traduit par une amertume marquée (**Kim et al., 1982**).

### **2-3-2- Protéolyse :**

Au cours de leurs activités métaboliques, certains micro-organismes, grâce à l'action de leurs protéases, dégradent des fractions protéiques du lait. Ce phénomène produit la libération de sous-produits très variés, dont des peptides à longue ou courte chaîne à l'origine des goûts amers, des saveurs non désirées et atypiques ou de textures inadéquates des fromages contaminés. Les germes incriminés sont *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, ainsi que d'autres germes de la flore banale à Gram négatif (**Vignola, 2002 ; Guiraud, 2003**).

Le genre *Pseudomonas*, avec comme espèce principale *P. fluorescens*, est dominant dans les laits conservés à basse température, les comportements des enzymes sécrétées sont loin d'être homogènes mais elles sont très thermorésistantes (**Chilliard et Lamberet, 1984**).

Dans d'autres cas, la protéolyse est recherchée, elle est contrôlée et joue un rôle primordial dans l'obtention d'une texture caractéristique et de saveurs désirées de divers types de fromage lors de l'affinage (**Vignola, 2002**).

L'activité protéolytique des bactéries lactiques en est le meilleur exemple, ces bactéries dotées d'un système protéolytique complexe comprennent des protéases situées à la surface cellulaire et une large gamme de peptidases intracellulaires, qui, lorsqu'elles sont libérées dans le caillé fromager, participent efficacement à l'affinage du fromage (**Roudj et al., 2009**).

### **2-3-3- Lipolyse :**

La lipolyse est une réaction enzymatique de dégradation de la matière grasse qui se traduit dans le lait par une augmentation de la teneur en acides gras libres. Au-delà de certains seuils, cette augmentation peut provoquer l'apparition de défauts de goûts (rancissement, goût de savon,...) dans les produits laitiers (**Heuchel et al., 2003**).

## **2-4- Classification microbiologique du lait :**

On répartit les micro-organismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore contaminatrice (**Lamontagne et al., 2002**).

### 2-4-1- Flore originelle du lait :

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10<sup>3</sup> 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 micro-organismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (Vignola, 2002). Le tableau n° 4 regroupe les principaux micro-organismes originaux du lait avec leurs proportions relatives.

**Tableau 5:** Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).

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

### 2-4-2- Flore de contamination :

Cette flore est l'ensemble des micro-organismes 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 micro-organismes 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* et *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (Leyral et Vierling, 2007).

D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites: *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium pyogenes*, staphylocoques, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infections générales 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 (FAO, 1995).

### 2-4-3- Flore d'altération :

Incluse dans la flore contaminatrice, la flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture et réduira la vie du produit laitier. Certaines bactéries nuisibles peuvent aussi être pathogènes. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Pseudomonas sp.*, *Proteus sp.*, les coliformes, les bactéries sporulées telles que *Bacillus sp.*, *Clostridium sp.* et certaines levures et moisissures (Lamontage *et al.*, 2002).

Cependant, la corrélation entre la flore totale et certaines flores spécifiques, comme les coliformes et les bactéries thermorésistantes, est assez faible. Aussi, la seule mesure des germes totaux ne suffit pas à bien évaluer les risques liés à ces groupes microbiens, il convient alors de dénombrer certaines espèces bactériennes pour améliorer le diagnostic (Institut de l'élevage, 2009).

### 2-5- Marqueurs ou bactéries témoins de contamination fécale :

Certaines bactéries ou groupes bactériens mis en évidence peuvent être considérés comme témoins de contamination d'origine fécale et indiquent la présence possible de germes pathogènes (Sutra *et al.*, 1998). Parmi eux, nous avons :

#### 2-5-1- Coliformes :

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

- Les coliformes non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 30 °C ;
- Les coliformes 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. En fabrication fromagère, on rencontre cette bactérie surtout en tant qu'agent causal du défaut «mille trous» (Jakob *et al.*, 2009).

### 2-5-2- 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 (**Clausenet *al.*, 1977 ; Gleeson et 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 par gramme (**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* (**Clausenet *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* (**Ruoffet *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**).

### 2-5-3- Flore pathogène :

Comme la flore d'altération, la flore pathogène est incluse dans la flore contaminatrice du lait (**Lamontage *et al.*, 2002**). 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 (**Brisabois *et al.*, 1997**). La présence de micro-organismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme (**Lamontage *et al.*, 2002**). Les principaux micro-organismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*,

*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei* et certaines moisissures (**Lamontage et al., 2002**).

## **2-6- Germes responsables de défauts de fabrication :**

Il s'agit principalement de psychotropes et de thermorésistants. Ces deux types de germes entraînent des défauts organoleptiques, des problèmes de protéolyse responsables de la baisse du rendement fromager et de la lipolyse (**Institut de l'élevage, 2009**).

# **Chapitre 3**

## **Partie expérimentale**

### **3-1- Objectifs :**

L'objectif de ce travail est l'évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait cru de vache, tout en comparant les résultats obtenus aux normes requises.

### **3-2- Lieu et période de stage :**

L'étude a été menée durant la période s'étalant de décembre 2019 à mars 2020, au niveau de la laiterie « Arib » située dans la Wilaya de Ain Defla.



**Figure 2:** Laiterie de « Arib », Wilaya de Aïn Defla, Algérie (plan de la laiterie).

### **3-3- Matériel et méthodes :**

#### **3-3-1- Matériel :**

L'ensemble du matériel utilisé dans cette partie à savoir : équipement, verrerie, réactifs, milieux de cultures et consommables sont mentionnés dans l'annexe.

#### **3-3-2- Méthodes :**

##### **3-3-2-1- Collecte des prélèvements de lait :**

Le lait cru de citerne constitue notre prélèvement : 498 échantillons destinés aux analyses physico-chimiques, dont 31 échantillons parmi ceux-ci font l'objet également d'analyses bactériologiques.

Les échantillons destinés aux analyses physico-chimiques sont prélevés à l'aide d'une louche en acier, alors que les échantillons destinés aux analyses bactériologiques sont prélevés aseptiquement en respectant les règles d'asepsie : désinfection avec l'alcool à 70 ° et flambage

à l'aide d'une flamme à alcool du robinet de citerne, puis couler une certaine quantité de lait dans les flacons stériles identifiés (60 ml).

Les prélèvements sont acheminés au laboratoire sous froid, dans glacière munie de pochettes de glace.

Les analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisées le jour même.

### **3-3-2-2- Analyses physico-chimiques :**

#### **3-3-2-2-1- Température (T°) :**

Introduire dans un bécher une quantité de lait, puis plonger le thermomètre dans le bécher et prendre la température de lait.

#### **3-3-2-2-2- Potentiel d'hydrogène (pH) : (AFNOR, 1986)**

##### **Principe :**

Cette méthode décrit la mesure ionique du lait cru.

##### **Mode opératoire :**

Introduire du pH-mètre dans le lait après l'avoir étalonné, la valeur de pH est lue directement.

#### **3-3-2-2-3- Acidité titrable (AC) (AFNOR, 1986) :**

##### **Principe :**

L'AT du lait est définie comme étant la qualité lactique obtenue après fermentation du lactose par les micro-organismes. Cette acidité est exprimée en °D (degré Doronic) qui correspond à 0.1 g d'acide lactique par litre de lait. Le principe du dosage consiste à titrer l'acide lactique par le NaOH (N/9) en présence de Phénolphtaléine à 1 % comme indicateur de virage.

Acidité titrable = V (sachant que V est le volume de NaOH versé)
--

##### **Mode opératoire :**

Prélever 10 ml du lait dans un bécher puis ajouter quelques gouttes de Phénolphtaléine à 1 %.

Le mélange est titré par l'ajout de NaOH jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle persistant pendant 10 secondes.

### **3-3-2-2-4- Teneur en matière grasse (MG) :**

#### **Principe :**

Il repose sur la dissolution de lait cru par l'acide sulfurique sous l'influence de la force centrifugeuse, et grâce à l'ajout d'une petite quantité d'alcool iso-amylique.

Le butyromètre est gradué de manière donnée par la lecture directe du pourcentage de matière grasse.

#### **Mode opératoire :**

Introduire 10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré dans le butyromètre de Gerber, auxquels ajouter 11 ml de lait cru et 1 à 2 ml d'alcool iso-amylique.

Le butyromètre est maintenu dans une position verticale puis secouer horizontalement afin d'éviter une attaque trop brutale de l'acide. Lorsque le lait est complètement dissout, le butyromètre est maintenu bouche vers le haut jusqu'à ce que le mélange remplisse l'ampoule terminale.

Le liquide est homogénéisé par retournement successif puis le butyromètre est centrifugé à 1100 tours par minute pendant 10 minutes.

La lecture de deux valeurs N1 et N2 se fait aussitôt après et la teneur (N) de MG du lait cru est exprimée en pourcentage et est donnée par la formule suivante :

$$MG = N2 - N1.$$

- N1 : valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse ;

- N2 : valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse.

### **3-3-2-2-5- Densité (D°) :**

#### **Principe :**

La D° est mesuré à l'aide d'un lacto-thermo-densimètre. Cette mesure permet de déceler le lait falsifié par mouillage.

La masse volumique du lait est comprise entre 1.028 et 1.033, selon la teneur en MG et protides, un lait mouillé a donc une densité plus faible :

- Si la T° du lait au moment de la mesure est supérieure à 20 °C, la D° est augmentée de  $2.10^{-4}$  par degré au-dessus de 20 °C ;

- Si la T° est inférieure à 20 °C, la D° est diminuée de 0.0002 par degré en-dessous de 20 °C.

#### **Mode opératoire :**

Remplir une burette de 250 ml par le lait cru, plonger le lacto-thermo-densimètre dans la burette de façon qu'il ne touche pas les parois et le fond, noter la D° et la T° qui correspondent à la division au bord inférieur de l'actio-thermo-densimètre **(Veisseyre, 1975)**.

#### **3-3-2-2-6- Extrait sec dégraissé (ESD) : (Alais, 1984)**

L'ESD est déterminé par la formule suivante :

$$\text{ESD} = 2665 (\text{densité} - 1) + (1.2 \times \text{MG}) - \text{MG} \times \text{densité}$$

#### **Exemple :**

$$D = 1.029 ; \text{MG} = 33 \text{ g/l}$$

$$\text{ESD} = 2665 (1.029 - 1) + (1.2 \times 33) - 33 \times 1,029 = 84.075 \text{ g/l}$$

#### **3-3-2-3- Analyses microbiologiques :**

##### **3-3-2-3-1- Préparation des dilutions :**

Préparer une série de dilutions allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  pour chaque échantillon : répartir aseptiquement, à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 25 ml de la suspension mère (lait cru), dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml de diluant (eau physiologique stérile) ; cette dilution constitue alors la dilution 1/10 ( $10^{-1}$ ). Prélever ensuite 1 ml de celle-ci à l'aide d'une autre pipette stérile et la porter dans un autre tube d'eau physiologique stérile de 9 ml pour avoir la dilution au 1/100 ou ( $10^{-2}$ ), et ainsi de suite jusqu'à la dilution  $10^{-5}$ .

##### **3-3-2-3-2-Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) :**

Les GAMT sont les micro-organismes aptes à donner naissance à des colonies visibles après trois jours d'incubation à 30 °C sur une gélose pour dénombrement.

**- Mode opératoire :**

A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$ , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de Pétri préparée à cet usage. Verser ensuite environ 15 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à  $45 \pm 1$  °C. Faire des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée et laisser se solidifier sur la paillasse.

**- Incubation :** les boîtes seront ensuite incubées, couvercle en bas, à 30 °C pendant 72 heures en effectuant une lecture toutes les 24 heures.

**- Lecture :** les colonies des GAMT se présentent sous forme lenticulaire. Le nombre de colonies trouvé est multiplié par l'inverse de la dilution.

**3-3-2-3-3- Recherche et dénombrement des coliformes fécaux :**

**- Mode opératoire :**

A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$ , porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri stérile. Couler ensuite 15 ml de la gélose au désoxycholate, homogénéiser et laisser se solidifier puis ajouter une deuxième couche d'environ 4 ml de la même gélose. Imprimer ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 ».

**- Incubation :** les boîtes seront incubées à 44° C pendant 24 à 48 heures.

**- Lecture :** les coliformes apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé, fluorescentes et de 0,5 mm de diamètre. Le nombre de colonies trouvé sera multiplié par l'inverse de la dilution.

**3-3-2-3-4- Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs :**

**- Mode opératoire :**

A partir de dilutions décimales de  $10^{-2}$  et de  $10^{-1}$ , porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans un tube à vis stérile. Ces tubes seront soumis d'abord à un chauffage à 80 °C pendant 8 à

10 minutes, puis à un refroidissement immédiat sous l'eau du robinet, provoquant ainsi un choc thermique à l'origine du fait que les spores germent et seront décelables. Ensuite, ajouter environ 15 ml de gélose VF prête à l'emploi dans chaque tube, et laisser se solidifier sur la paillasse.

- **Incubation** : ces tubes seront ainsi incubés à 46 °C pendant 24-48 heures.

- **Lecture** : la première lecture doit se faire impérativement à 16 heures car, d'une part, les colonies de *Clostridium* sont envahissantes, auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voir impossible et l'analyse serait à refaire ; d'autre part, il faut absolument repérer toutes les colonies noires ayant poussé en masse et d'un diamètre supérieur à 0.5 mm.

Dans le cas d'absence de colonies caractéristique, réincuber les tubes et effectuer une deuxième lecture à 24 heures voire à 48 heures.

### **3-3-2-3-5- Recherche de *Staphylococcus aureus* :**

- **Mode opératoire** :

- **Enrichissement** : à partir des dilutions décimales allant de  $10^{-3}$  à  $10^{-1}$ , porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans un tube à vis stérile. Ajouter par la suite 15 ml du milieu d'enrichissement Giolitti Cantoni, bien mélangé le milieu et l'inoculum.

**Incubation** : elle se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

**Lecture** : sont considérés comme positifs les tubes ayant virés au noir.

- **Isolement** : à partir des tubes positifs, prélever 1 ml et l'ensemencer par stries à la surface contenant la gélose de Chapman préalablement fondue, et laisser bien sécher.

**Incubation** : se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

**Lecture** : les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent de taille moyenne, elles sont lisses, brillantes et pigmentées en jaune.

### 3-4- Résultats :

#### 3-4-1- Analyses physico-chimiques :

##### 3-4-1-1- Normes des paramètres physico-chimiques du lait cru selon le J.O.R.A. :

Les normes des paramètres physico-chimiques du lait cru selon le J.O.R.A. (Journal Officiel de la République Algérienne) (**J.O.R.A., 1998**) sont présentées dans le tableau ci-dessous (tableau n° 6) :

**Tableau 6:** Normes physico-chimiques pour le lait cru selon le J.O.R.A (J.O.R.A., 1998).

Paramètre	T° (°C)	AC (°D)	D° (g/m <sup>3</sup> )	MG (g/l)	EST (g/l)	ESD (g/l)
Norme	1-6	14-18	1030-1034	34-40	125-130	90-95

T° : Température

AC : Acidité

D° : Densité

MG : Matière grasse

EST : Extrait sec total

ESD : Extrait sec dégraissé

##### 3-4-1-2- Interprétation des résultats des analyses physico-chimiques selon les normes du J.O.R.A. :

Les résultats des analyses physico-chimiques de nos échantillons selon les normes du J.O.R.A. (**J.O.R.A., 1998**) sont rapportés dans le tableau 7.

**Tableau n° 7 :** Interprétation des résultats des analyses physico-chimiques selon les normes du J.O.R.A. (**J.O.R.A., 1998**).

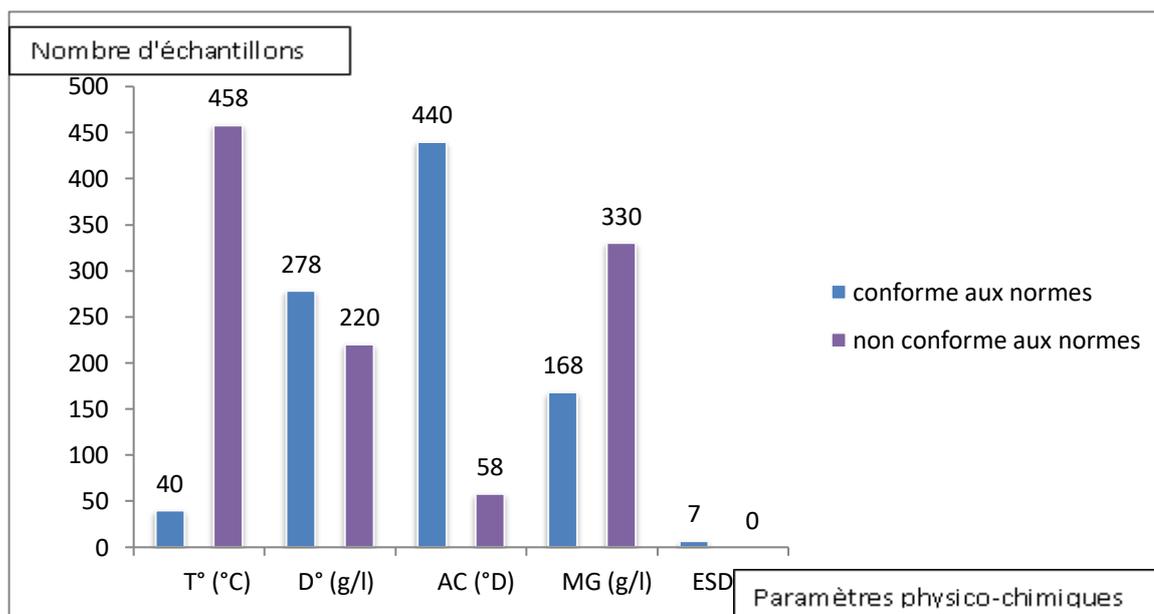
		Nombre d'échantillons (498)	
		Non conforme aux normes	Conforme aux normes
Paramètres	T° (°C)	458 (91.97 %)	40 (8.03 %)
	D° (g/l)	220 (44.18 %)	278 (55.82 %)
	AC (°D)	58 (11.65 %)	440 (88.35 %)
	MG (g)	330 (66.26 %)	168 (33.73 %)
	ESD (g)	491 (98.59 %)	7 (1.41 %)

L'interprétation des résultats des analyses physico-chimiques ont montré que 100 % des échantillons ne répondent pas aux normes physico-chimiques du J.O.R.A. (**J.O.R.A., 1998**):

-91.97 % des échantillons ont une T° non conforme aux normes ;

- 44.18 % des échantillons ont une D° non conforme aux normes ;
- 11.65 % des échantillons ont une AC non conforme aux normes ;
- 66.26 % des échantillons ont une MG non conforme aux normes ;
- 98.59 % des échantillons ont un ESD non conforme aux normes.

Ces résultats sont représentés dans la figure 3 :



**Figure 3:** Représentation graphique des résultats des analyses physico-chimiques.

### 3-4-2- Analyses bactériologiques :

Les résultats globaux des analyses bactériologiques portant sur les 31 échantillons de lait cru de citerne.

Les taux des échantillons positifs à la culture bactériologique sont rapportés dans le tableau n° 8.

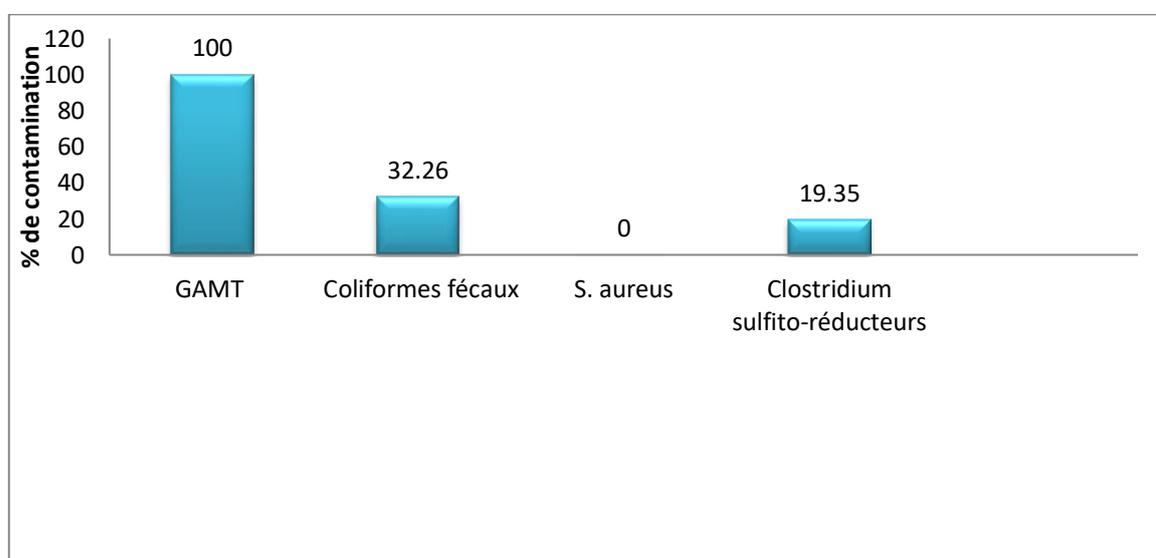
**Tableau 7:** Taux des échantillons contaminés.

		Echantillons (31)	
		Echantillons (+)	Echantillons (-)
<b>Germs recherchés</b>	GAMT	31 (100 %)	0 (0 %)
	Coliformes fécaux	10 (32.26 %)	21 (67.74 %)
	<i>S. aureus</i>	0 (0 %)	31 (100 %)
	<i>Clostridium</i> sulfito- réducteurs	6 (19.35 %)	25 (80.65 %)

Les analyses bactériologiques ont révélé que 100 % des échantillons sont contaminés par au moins un type de germe :

- 100 % des échantillons renferment des GAMT ;
- 32.26 % des échantillons renferment de coliformes fécaux ;
- 19.35 % contiennent des *Clostridium* sulfito-réducteurs ;
- Par contre, aucun prélèvement n'est contaminé de *Staphylococcus aureus*.

Nos résultats sont représentés dans la figure n° 4.



**Figure 4:** Représentation graphique des taux des échantillons contaminés.

### 3-4-2-1- Normes bactériologiques du lait cru selon le J.O.R.A. :

La législation algérienne recommande la recherche de certains germes pour évaluer la qualité hygiénique et sanitaire du lait cru (tableau n° 9).

L'interprétation des résultats des analyses bactériologiques se fait conformément à l'arrêté interministériel du 27 mai 1998 paru sur le J.O.R.A. n° 35/98 (**J.O.R.A., 1998**), fixant les critères microbiologiques des principales denrées alimentaires.

**Tableau 8:** Germes recherchés et normes bactériologiques pour le lait cru selon le J.O.R.A. (J.O.R.A., 1998).

Germes recherchés	Norme
GAMT (à 30 °C)	10 <sup>5</sup>
Coliformes fécaux	10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	absence
Streptocoques fécaux	Absence/0.1 ml
<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs (à 46 °C)	50

### 3-4-2-2- Interprétation des résultats des analyses bactériologiques :

Les résultats des analyses bactériologiques de nos échantillons selon les normes du J.O.R.A. (J.O.R.A., 1998) sont rapportés dans le tableau n° 10.

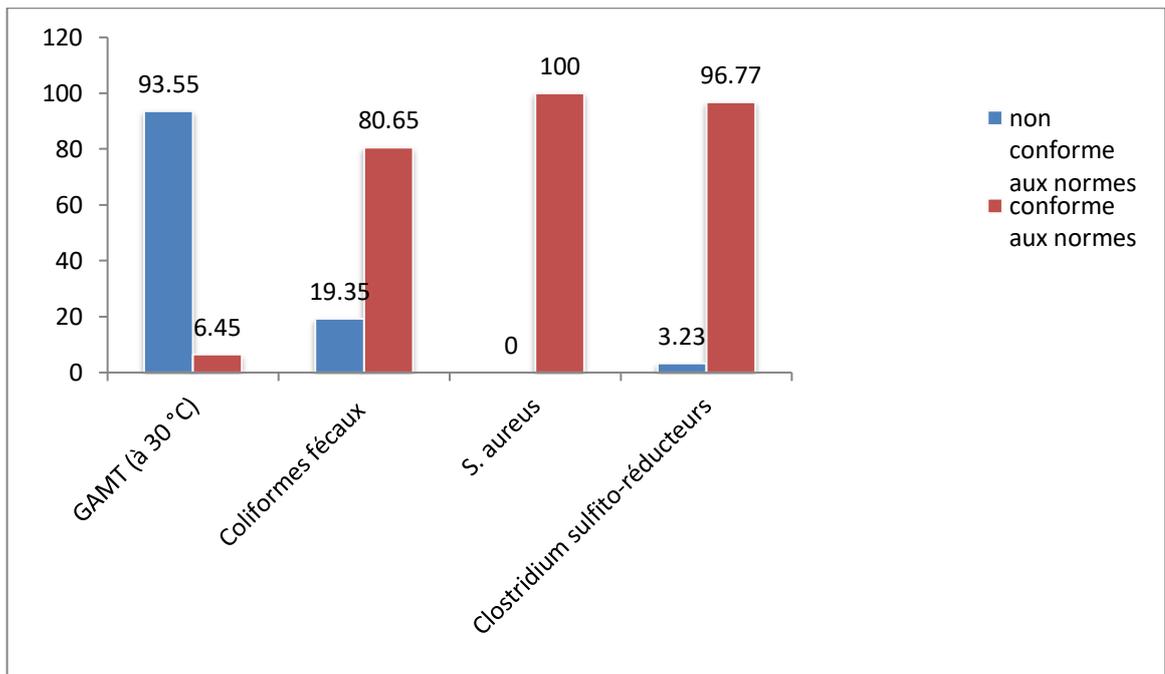
**Tableau 9:** Interprétation des résultats des analyses bactériologiques selon les normes du J.O.R.A. (J.O.R.A., 1998).

		Nombre d'échantillons (31)	
		Non conforme aux normes	Conforme aux normes
Germes recherchés	GAMT (à 30°C)	29 (93.55 %)	2 (6.45 %)
	Coliformes fécaux	6 (19.35 %)	25 (80.65 %)
	<i>S. aureus</i>	0 (0 %)	31 (100 %)
	<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	1 (3.23 %)	30 (96.77 %)

L'interprétation des résultats des analyses bactériologiques ont montré qu'un nombre important des échantillons examinés dépassaient les normes bactériologiques du J.O.R.A. (J.O.R.A., 1998) :

- 93.55 % des échantillons contiennent un taux de GAMT non conforme aux normes,
- 19.35 % des échantillons renferment au taux de coliformes fécaux qui dépasse les normes,
- Et 3.23 % des échantillons renfermant un taux de *Clostridium* sulfito-réducteurs non conforme aux normes.

Nos résultats sont représentés dans la figure 5 :



**Figure 5:** Représentation graphique des résultats des analyses bactériologiques.

### 3-4-2-3- Interprétation des résultats des analyses bactériologiques selon les normes de laiterie « ARIB » :

Néanmoins, pour des raisons quelconques, la laiterie « ARIB » décrivent également d'autres normes bactériologique pour le lait cru.

**Tableau 10:** Normes bactériologiques pour le lait cru selon la laiterie « ARIB ».

Germes recherchés	Norme
GAMT	$10^6$
Coliformes fécaux	$10^4$
<i>S. aureus</i>	00
<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	$5.10^2$

Ainsi, la qualité hygiénique du lait est catégorisée en :

- Satisfaisante : quand le nombre de germes est inférieur à **m** ;
- Insatisfaisante : quand le nombre de germes est supérieur à **M** ;
- Acceptable : quand le nombre de germes est compris entre **m** et **M**.

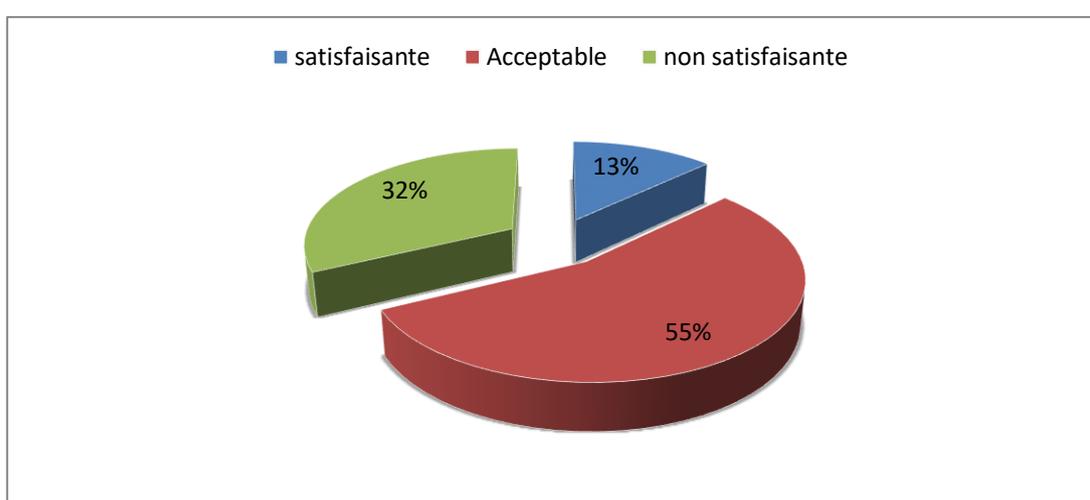
**m** : norme bactériologique pour le lait cru, décrites par le J.O.R.A. (**J.O.R.A., 1998**).

**M** : norme bactériologique pour le lait cru, décrites par la laiterie « ARIB ». Il s'agit donc de seuils d'acceptabilité selon lesquels les échantillons seront acceptés ou refusés par la laiterie « ARIB » pour qu'ils soient transformés.

**Tableau 11:** Classement des échantillons du lait selon leur qualité hygiénique.

Qualité hygiénique du lait	Nombre d'échantillons
satisfaisante	4 (12.90 %)
Acceptable	17 (54.84 %)
Non satisfaisante	10 (32.26 %)

Ces résultats sont représentés dans la figure suivante (figure 6) :



**Figure 6:** Représentation graphique du classement des échantillons du lait selon leur qualité hygiénique.

Le classement des échantillons du lait selon leur qualité hygiénique a montré qu'uniquement 13 % des échantillons du lait sont de qualité satisfaisante, et la majorité des échantillons ont une qualité acceptable donc transformables. Cependant une bonne partie des échantillons (32 %) reste de qualité insatisfaisante.

### 3-5- Discussion :

#### 3-5-1- Caractéristiques physico-chimiques :

33.73 % des échantillons de laits collectés ont présenté un taux butyreux conforme à la norme et 66.26 % des échantillons ont eu un taux butyreux inférieur à la norme. Cette baisse serait due probablement à une mauvaise alimentation et à des raisons zootechniques liées à de nombreux facteurs (race, traite, période de lactation, ...) (**Amiot *et al.*, 2002**).

L'influence de l'alimentation n'est sensible que si le niveau énergétique de la ration est insuffisant (**Amiot et al., 2002**).

Les animaux sous-alimentés donnent un lait moins riche que les vaches ayant des repas normaux (**Amiot et al., 2002**).

La cellulose et les sucres, à partir desquels se forment les acides acétiques et butyriques, ont un effet favorable sur le taux butyreux. Donc il convient de bien répartir la distribution de concentré et de rééquilibrer la ration en énergie (**Amiot et al., 2002**).

91.97 % des laits analysés avaient une température supérieure à la norme, ce qui reflète le non-respect de la chaîne de froid, et cela peut avoir une influence sur le développement des germes.

Par contre 44.18 % des laits avaient une densité inférieure à la norme, ce qui indiquerait l'ajout frauduleux de l'eau dans le lait (mouillage).

La majorité des laits analysés présente une acidité conforme à la norme, qui peut avoir une influence sur la multiplication de certains germes.

### **3-5-2- Recherche et dénombrement des germes :**

La majorité des laits crus analysés était contaminée avec des fluctuations d'un germe à l'autre quoiqu'ils soient souvent de qualité hygiénique satisfaisante à acceptable, ce qui témoigne de la mauvaise pratique de conditions d'hygiène depuis le moment de la traite jusqu'à la réception des échantillons au niveau du laboratoire de laiterie.

L'analyse des laits crus montre une contamination importante par les GAMT. En effet, 93.55 % des échantillons analysés présentent un taux de GAMT supérieur à  $10^5$  CFU/ml. Cette situation est proche de celle rapportée par Baazize (**Baazize, 2006**), elle était de l'ordre de 91,78 %. Cette flore est un indicateur de la qualité globale du lait, de la température de conservation, ainsi que du niveau d'hygiène. La rupture de la chaîne du froid ainsi qu'une mauvaise hygiène de la traite de l'étable pourraient être à l'origine de la contamination du lait.

Les résultats du dénombrement des coliformes fécaux montrent la présence de ceux-ci dans 100 % de nos échantillons, dont leur taux est supérieur à la norme pour 19.35 % de ceux-

ci. Notre résultat est en désaccord avec le résultat rapporté par Baazize (**Baazize, 2006**), qui est de l'ordre de 80.13 %.

Ceci est purement la résultante d'une situation de négligence des plus simples règles d'hygiène dans certaines exploitations comme le lavage du pis avant et après la traite. La présence de coliformes fécaux signe le plus souvent une contamination exogène d'origine fécale. La traite manuelle augmente les possibilités de contamination du lait par ce germe, en accroissant la surface de contact entre le lait et les micro-organismes du milieu ambiant, surtout lorsque ce dernier est souillé.

*Staphylococcus aureus* est absent. Ce résultat est carrément différent à celui rapporté par Baazize (**Baazize, 2006**), qui rapporte un taux de contamination de 80.21 %. Ce germe pathogène constitue un risque réel pour la santé publique dans les produits transformés, comme il peut produire, dans certaines conditions, des entérotoxines thermostables qui peuvent résister aux traitements thermiques (**Ashnafi, 1996**). La contamination des laits par *Staphylococcus aureus* est le plus souvent liée aux mains du personnel et le non-respect des conditions d'hygiènes, elle pourrait être aussi la conséquence des infections mammaires au niveau des élevages.

Après la recherche et le dénombrement des différents germes, une variabilité moyenne de contamination des échantillons du lait dévoile une situation acceptable de la qualité de ce produit reçu au niveau de la laiterie "ARIB", comme la majorité des échantillons sont qualifiés comme conformes aux normes recommandées par le J.O.R.A. n° 35/98 (**J.O.R.A., 1998**) concernant les critères microbiologiques des laits et des produits laitiers.

Globalement la présence de cette diversité de germes, qu'ils soient fécaux ou pathogènes, n'est que le résultat logique d'un mauvais encadrement de nos éleveurs par les vétérinaires, ainsi que le non-respect et la méconnaissance des conditions d'élevage, en particulier celles liées à l'alimentation, l'hygiène et la propreté des animaux et leur environnement et bien sûr les conditions de sécurité pour le stockage et la livraison de lait ; qui visent à mettre entre les mains du consommateur un produit de bonne qualité hygiénique et de meilleure valeur nutritionnelle.

# Conclusion

La filière « lait » reste l'une des filières les plus compliquées dans le volet agricole et comme source de matière première de grande nécessité, elle touche en effet l'agriculture, l'industrie, le commerce, la santé ...

Au terme de notre étude, réalisée au niveau de la laitière « ARIB » à Aïn Defla, nous avons pu évaluer la qualité physico-chimique et microbiologique du lait cru de vache, tout en comparant les résultats obtenus aux normes requises.

Les résultats de notre étude ont permis de mettre en évidence que la majorité des laits analysés présentait une T° élevée à la normale (91.97 %), des teneurs de la MG (66.26 %) et d'ESD (98.59 %) inférieures aux normes et un taux de coliformes fécaux (67.74 %) supérieur à  $10^3$ . Tandis que tous les prélèvements testés contenaient un taux de GAMT supérieur à  $10^5$ . Ces résultats sont dus à une négligence des plus simples règles d'hygiène dans certaines exploitations.

Afin d'améliorer la qualité du lait cru, il est nécessaire de généraliser les contrôles à tous les laits produits et livrés, de pénaliser les fraudeurs et de faire bénéficier ceux qui s'en appliquent de primes conséquentes, ce qui encouragerait les producteurs à prêter plus d'attention aux aspects hygiénique et technologique du lait cru.

Nous souhaitons que ce travail ouvre la porte à d'autres études visant à contribuer à bien à la lutte contre les conséquences néfastes d'un mauvais contrôle du lait cru.

## **Références bibliographiques**

- AFNOR (Association Française de Normalisation), 1981. Méthode d'analyse du lait et des produits laitiers : Recueil de normalisation française, Paris, p286.
- Agabriel C., Coulon J. B., Brunschwig G., Sibra C. et Nafidi C., 1995. Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations, INRA Prod. Anim., 8 (4), p251-258.
- Alais C., 1984. Science du lait : Principe des techniques laitières, 4<sup>ème</sup> édition, Ed. Sepic, Paris, p844.
- Alais C. et Linden G., 1987. Abrégé de biochimie alimentaire, 4<sup>ème</sup> édition, Ed. Maison, p248.
- Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P. et Simpson R., 2002. Composition, propriétés physico-chimiques, valeurs nutritives et qualité technologique du lait, *In* : Lapointe-Vignola C., Science et technologie du lait : Transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, p1-73.
- Anonyme 1 : Les analyses bactériologiques et physico-chimiques du lait cru, 2015, Disponible sur <https://prezi.com/oo3ccs6tuoe1/les-analyses-bactériologie-et-physico-chimique-du-lait-c/>, Consulté le 05/03/2016.
- Anonyme 2 : Collection-Microsoft-Encarta, 2003.
- Anonyme 3 : <http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>, Consulté le 02/07/2012.
- Ashnafi M., 1996. Effect of container smoking and incubation temperature on the microbiological and some biochemical qualities of fermenting Ergo (a traditional Ethiopian sour milk), International Dairy Journal, 6 (1), p95-104.
- Auclair J., 1979. Influence des méthodes de réfrigération et de collecte du lait sur sa qualité bactériologique, Rev. Franç. Lait, n° 378, p37.
- 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, p11-15.
- Baazize D., 2006. Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru de la vache : La région de Mitidja, Mémoire de magistère, Université Saad Dahleb de Blida, p160.
- Badinand F., 1994. Maîtrise du taux cellulaire du lait, Rec. Méd. Vét., 170 (6/7), p419-427.
- Benelkadi K., 2005. Industrie du lait en Algérie, El Watan, p566.

- Ben-Mahdi M. H. 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*, 36 (3), p357-362.
- Bitton G., 1999. *Wastewater microbiology*, John Wiley & Sons, p578.
- Bornert G., 2000. Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires, *Revue Méd. Vét.*, 151 (11), p1003-1010.
- Boudier J. F. et Luquet F. M., 1978. Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, n° 21, Edition APRIA, Paris, p96.
- Bourgeois C. M., Mescle J. F. et Zucca J., 1996. *Microbiologie alimentaire (tome 1) : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments*, 2<sup>ème</sup> édition, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p674.
- Brisabois A., Lafarge V., Brouillard A., De Buyser M. L., Collette C., Garin-Bastuji B. et Thorel M. F., 1997. Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : Situation en France et en Europe, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 16 (1), p452-471.
- Cauty I. et Perreau J-M., 2009. *Conduite du troupeau bovin laitier, production, qualité et rentabilité*, 2<sup>ème</sup> édition, Ed. France Agricole, p331.
- Cayot P. et Lorient D., 1998. *Structure et techno-fonction des protéines du lait*, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p323-363.
- Chetel C. et Cheftel H., 1997. *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments (tome 1)*, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p35-62.
- Chilliard Y. et Lamberet G., 1984. La lipolyse dans le lait : Les différents types et mécanismes et facteurs de variations et signification pratique, *Rev. Franç. Lait*, n° 64, p544-578.
- Chye F. Y., Aminah A. et Mohd Khan A., 2004. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia, *Food Microbiology*, n° 21, p535-541.
- Clausen E. M., Green B. L. et Litsky W., 1977. Fecal streptococci: indicators of pollution, *In* : Hoadley A. W. et Dutka B. J., Edit. *Bacterial indicators/Health hazards associated with water*, American society for testing and materials, ASTM STP, n° 635, p247-264.
- Coorevista A., Jonhee V., Vandroemmed J., Reekmans R., Heyrman J., Messens W., Vos P. et Heydrichxc M., 2008. Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy

farms, *Systematic and Applied Microbiology*, n° 31, p126-140.

- Cuq J. L., 2007. *Microbiologie alimentaire*, Université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, p20-25.
- Debrey G., 2001. *Lait : Nutrition et santé*, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p566.
- Dehove R. A., 1984. *Réglementation des produits et services, qualité, consommation et répression des fraudes*, Commerce éditions, Paris, p1307.
- Devriese L. A., Vandamme P., Pot B., Vanrobaeys M., Kersters K. et Haesebrouck F., 1998. Differentiation between *Streptococcus gallolyticus* strains of human clinical and veterinary origins and *Streptococcus bovis* from the intestinal tracts of ruminants, *Journal of Clinical Microbiology*, n° 36, p3520-3523.
- Edberg S. C., Rice E. W., Karlin R. J. et Allen M. J., 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection, *Journal of Applied Microbiology*, n° 88, p106-116.
- El Atyqy M., 2010. *Réactions d'altération chimique des aliments*, Ed. Sciences et Techniques des Aliments.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 1995. *Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine*, Collection FAO : Alimentation et nutrition, n° 28.
- Farrow J. A. E., Kruze J., Phillips B. A., Bramley A. J. et Collins M. D., 1984. Taxonomic studies on *S. bovis* and *S. equinus*: Description of *S. alactolyticus* sp. nov. and *S. saccharolyticus* sp. nov., *Systematic and Applied Microbiology*, n° 5, p467-482.
- Fatet P., 2004. *Les staphylocoques dans l'industrie laitière*, GDS Info (2004/2005) : L'action sanitaire ensemble, p34-35.
- Favier J. C., 1985. *Composition du lait de vache : Laits de consommation*, <http://www.horizon.documentation.fr>, Consulté le : 03/02/2012.
- Faye B. et Loiseau G., 2002. *Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité : Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement*, Actes de l'atelier international, Montpellier, p11-13.
- Fournier J. et Terrien M., 1998. *Chimie du petit déjeuner*, Ed. Culture et Techniques, p201-304.

- Fredot E., 2005. Connaissance des aliments : Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, 10(14), p397.
- Fredot E., 2006. Connaissance des aliments : Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, n° 25, p397.
- Gaidig S., Chrding J. M. et Sèbèdio J. L., 2001. Lipides, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, P340-651.
- Gleeson C. et Gray N., 1997. The coliform index and waterborne disease, E & FN Spoon, p194.
- Got R., 1971. Les enzymes du lait, Ann. Nutr. Alim., n° 25, p291-311.
- Gripon J. C., Desmazeaud M. J., Le Bars D. et Bergère J. L., 1975. Étude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages- Influence de la présure commerciale, Rev. Franç. Lait, n° 55, p502-516.
- Gueguen L., 2001. Le lait et ses constituants : Caractéristique physique-Minéraux et oligominéraux, *In* : Derby G., Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p125-141.
- Guiraud J. P., 2003. Microbiologie alimentaire, Ed. DUNOD, Paris, p136-139.
- Guiraud J. P. et Galzy P., 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires, Edition l'Usine, p119.
- Guiraud J. P. et Rosec J. P., 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire, Edition AFNOR, p95.
- Guy F. I., 2006. Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contamination par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du Massif Central, Thèse de doctorat d'état, Université Paul-Sabatier, Toulouse, p17.
- Hancock L. E. et Gilmore M. S., 2000. Pathogenicity of enterococci, *In* : Fischetti V. A., Gram-positive pathogens, American Society for Microbiology, Washington, p251-258.
- Hanzen C. H., 1999. Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière : Aspects individuels et d'élevage, p163.
- Hermier J., Lenoir J. et Weber F., 1992. Les groupes microbiens d'intérêts laitiers, Ed. CEPIL, Paris.

- Hersan C., 1999. Vade-mecum Assurance Qualité, 3<sup>ème</sup> édition, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p254.
- Heuchel V., Chatelin Y. M., Breau S., Sobolewski F., Blancard N., Baraton Y. et Ayerbe A., 2003. Lipolyse du lait de vache et qualité organoleptique des produits laitiers, Renc. Tech. Ruminant, n° 10, p223-226.
- Institut de l'élevage, 2009. Traite des vaches laitières : Matériel, installation et entretien, 1<sup>ère</sup> édition, Ed. France Agricole, p55-506.
- Jakob E., Winkler H. et Haldemann J., 2009. Critères microbiologiques pour la fabrication du fromage, Ed. Agroscope Liebfeld-Posieux, forum n° 77 f, p5-31.
- Jakob E., Winkler H., Schaeren W., Amrein R. et Geinoz M., 2011. La qualité du lait cru : Un défi permanent, Ed. Agroscope Liebfeld-Posieux, forum n° 78 f, p5-17.
- Jarrige R., 1980. Alimentation des ruminants : Principes de la nutrition et l'alimentation des ruminants, INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), Paris.
- Jay J. M., 2000. Taxonomy and role and significance of microorganisms in food, *In* : Modern food microbiology, 6<sup>th</sup> edition, Aspen Publishers, Gaithersburg, Maryland, p13.
- Jean C. et Dijon C., 1993. Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.
- J.O.R.A. (Journal Officiel de la République Algérienne), 1998.
- Kim H., Hardy J., Novak G., Ramet J. P. et Weber W., 1982. Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué, Collection FAO : Alimentation et nutrition, n° 35.
- Lamontagne Michel Claud P., Charmpagne J., Raitz A., Salvain M., Naney G., Maryse L., Julie J. et Ismail F., 2002. Microbiologie de lait : Science et technologie de lait, Ecole polytechnique de Montréal, p75-146.
- Larpent J. P., 1996. Lait et produits laitiers non fermentés, *In* : Bourgeois C. M., Mesclé J. F. et Zucca J., Microbiologie alimentaire (tome I) : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p671.
- Larpent J. R., 1997. Microbiologie alimentaire, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p10-73.

- Le Minor L. et Richard C., 1993. Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries, Institut Pasteur, France.
- Lemire G., 2007. Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitier en régie biologique, Ed. L'envol-Lait Biologique, Québec, p9.
- Lenoir J., Veisseyre R. et Choisy C., 1974. Le lait réfrigéré : Matière première de la fromagerie moderne, Rev. Franç. Lait, p322- 453.
- Levesque P., 2004. La traite des vaches laitières-Etape par étape vers la qualité (Guide pratique), Ed. Educagri, Québec.
- Leyral G. et Vierling É., 2007. Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires, 4<sup>ème</sup> édition, Ed. Biosciences et Techniques, p87.
- Luquet F. M., 1985. Laits et produits laitiers-Vache, brebis et chèvre (tome 1) : Les laits de la mamelle à la laiterie, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris.
- Luquet F. M., 1990. Lait et produits laitiers : Vaches, brebis et chèvre (tome 2), 2<sup>ème</sup> édition, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p632.
- Mahaut M., Jeantet R., Bruleg G. et Schuch P., 2000. Les produits industriels laitiers, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p178.
- Mahaut M., Jeantet R. et Brulé G., 2003. Initiation à la technologie fromagère, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p24-102.
- Mathieu J., 1998. Initiation à la physico-chimie du lait, Ed. Technique et Documentaire-Lavoisier, Paris, p220.
- Mathieu S., Del Cerro C., Notis M. H., 1996. Gérer et assurer la qualité, AFNOR, 6<sup>ème</sup> édition, p703.
- Mocquot G. et Auclair J., 1967. Les bactéries psychrotrophes dans le lait conservé à basse température, Rev. Franç. Lait, n° 239, p21-25.
- Morr C. V. et Ha E.Y.W., 1993. Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, n° 33, p431-479.
- Mourgues R. et Auclair J., 1973. Durée de conservation à 4° C et à 8° C du lait pasteurisé conditionné aseptiquement, Rev. Franç. Lait, n° 53, p481-490.
- Mourgues R., Deschamps N. et Auclair J., 1983. Influence de la flore thermorésistante du lait cru sur la qualité de conservation du lait pasteurisé

exempt de recontaminations "post-pasteurisation", International Dairy Journal, n° 63, p391-404.

- Nobel F., 1998. Diagnostic-Elaboration de plan de formation-Formation continue, Ministère de l'agriculture et de la pêche, Ecole nationale d'industrie agroalimentaire, Initia, Surgères.
- Olivieri V. P., 1982. Bacterial indicators of pollution, *In* : Pipes WO: Bacterial indicators of pollution, Ed. CRC Press, p21-41.
- Pernoud S., Schneid-Citrain N., Agnetti V., Breton S. J., Faurie M., Marchal L., Obis D., Oudot E., Paquet D. et Robinson T., 2005. Application des bactéries lactiques dans les produits frais et effets probiotiques, *In* : Luquet F. M., Corrieu G., Bactéries lactiques et probiotiques, Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, France, p25-37.
- Perreau J. M. et Cauty L., 2003. La conduite du troupeau laitier, Ed. France Agricole, Paris, p49-288.
- Pougheon S. et Goursaud J., 2001. Le lait et ses constituants : Caractère physico-chimique, *In* : Lait : Nutrition et santé, Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p441.
- Reumont P., 2009. <http://www.medisport.be>, Consulté le 11/06/2011.
- Richard J., 1983. Nature de la flore microbienne dominante et sous-dominante des laits crus très pollués, Rev. Franç. Lait, n° 63, p148-170.
- Robinson R. K., 2002. Dairy microbiology handbook: The microbiology of milk and milk products, 3<sup>rd</sup> edition, Ed. John Wiley and Sons, INC., New York, p780.
- Roudj S., Belkheir K., Zadi Karam H. et Karam N. E., 2009. Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud Ouest Algérien, European Journal of Scientific Research, Vol. 34, n° 2, p218-227.
- Ruoff K.L., Miller S.I., Garner C.V., Ferraro M.J. et Calderwood S.B., 1989. Bacteremia with *Streptococcus bovis* and *Streptococcus salivarius*: Clinical correlates of more accurate identification of isolates, Journal of Clinical Microbiology, 27(2), p305-308.
- Rupp H., 2000. Control of gene expression by catecholamines and the renin-angiotensin system, Softcover reprint of the original 1<sup>st</sup> ed., Developments in molecular and cellular biochemistry series, Vol. 33, p239.

- SILAIT (Salon International du LAIT), 2008. Acte du 1<sup>er</sup> salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai, Alger,  
<http://www.agroligne.com/contenu/silait-2008-1er-salon-international-lait>,  
Consulté le 12/06/2011.
- Sutra L., Federighi M. et Jouve J. L., 1998. Manuel de bactériologie alimentaire, Ed. Polytechnica, p9.
- Thieulin G. et Vuillaume R., 1967. Eléments pratiques d'analyse et d'inscription du lait et de produits laitiers et des œufs, Rev. Franç. Lait, hors série, p160-173.
- Thomas S. B., 1973. Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk collected in raw milk, Dairy Industry, part 1, 38, p10-15.
- Universalise, 1997. Encyclopédie, France.
- Varnam A. H. et Sutherland P., 2001. Milk and Milk Products: Technology and chemistry and microbiology (volume 1)-Food products series, An Aspen Publication, New York, p35-37.
- Veisseyre R., 1975. Technologie du lait (constitution, récolte, traitement et transformation du lait), 3<sup>ème</sup> édition, Ed. La Maison Rustique, Paris, p4-363.
- Vierling E.,1999. Aliment et boisson : Science des aliments, Doin Editions, Centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine, p270.
- Vierling E.,2003. Aliment et boisson : Filières et produits, 2<sup>ème</sup> édition, Doin Editions, Centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine, p270.
- Vignola C., 2002. Science et technologie du lait : Transformation du lait, Ed. Presses Internationales Polytechniques, Canada, p3-75.
- Waes G., 1973. Les streptocoques D dans le lait cru réfrigérer, INRA Editions, 23(528), p520-529.
- Weber F., 1985. Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports, Collection FAO : Alimentation et nutrition, n° 47.

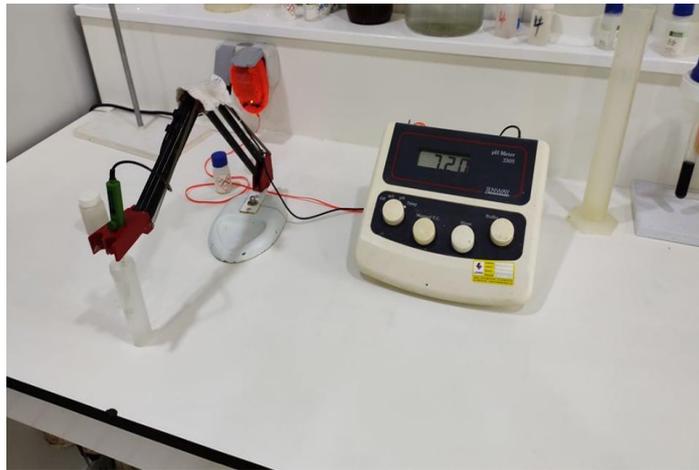
# **ANNEXE**

## **Matériel :**

L'ensemble du matériel utilisé dans la partie expérimentale à savoir : équipement, verrerie, réactifs, milieux de cultures et consommables sont :

### **- Appareillage :**

- Thermomètre, instrument pour prendre la température ;
- pH-mètre ;
- Acidimètre, appareil qui mesure la valeur de l'acidité ;
- Doseuse (1 - 10 ml) ;
- Centrifugeuse (FUNKE GERBER) ;
- Dessiccateur, appareil pour dessécher le lait ;
- Balance analytique, pour peser l'extrait sec ;
- Bec Bunsen, pour manipuler dans les conditions d'asepsie ;
- Autoclave, pour stérilisation ;
- Etuves, pour incubation : 30 °C, 37 °C et 44 °C ;
- bain-marie, pour fondre la gélose et pour mettre le tube de lait.



Acidimètre.



Centrifugeuse.



Dessiccateur et balance analytique.



Bain-marie.

**- Verrerie :**

- Louche en acier pour le prélèvement du lait destiné aux analyses physico-chimiques ;
- Flacon stérile de 60 ml, pour mettre dedans le lait destiné aux analyses microbiologiques, - avec des étiquettes adhésives, pour l'identification ;
- Bécher, pour mettre le lait dedans ;
- Pipette, pour aspirer un volume précis de lait ;
- Pipette Pasteur ;
- Butyromètre de Gerber avec bouchon en caoutchouc et poussoir ;
- Fiole jaugée de 100 ml, pour mettre l'acide iso-amylrique ;
- Pipette à lait de 11 ml, pour prélever et aspirer une quantité de lait ;
- Pipette calibrée délivrant 25 ml ;
- Eprouvette, pour mettre le lait dedans ;
- Lactodensimètre, pour lire la valeur de densité ;
- Boîtes de Pétri ;
- Porte-tubes ;
- Tubes à essais stériles.



**Figure n° 5 : Butyromètre.**



**Lactodensimètre et éprouvette**

**- Milieux de culture :**

- Bouillon Giolitti Cantoni, pour la recherche de *Staphylococcus aureus* ;
- Gélose Chapman, pour la recherche de *Staphylococcus aureus* ;
- Gélose PCA (Plate Count Agar), pour la recherche et le dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) ;
- Gélose VRBL, pour la recherche et le dénombrement des coliformes ;
- Gélose viande-foie (VF), pour la recherche et le dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs.
- la gélose PCA (pour les germes aérobies mésophiles totaux) ;
- la gélose au désoxycholate à 1 % ou la gélose VRBL (pour les coliformes fécaux) ;
- la gélose VF, additionné de l'alun de fer et de sulfite de sodium (pour les *Clostridium* sulfito-réducteurs) ;
- un milieu d'enrichissement, le bouillon Giolitti Cantoni additionné d'une ampoule de tellurite de potassium, et un milieu d'isolement qui est le milieu de Chapman (*Pour Staphylococcus aureus*).

**- Réactifs :**

- Soude (NaOH) ;
- Phénophtaléine 1 % ;
- Acide iso-amylque ;
- Solution d'alun de fer ;
- Solution de sulfite de sodium ;
- Solution de tellurate de potassium ;
- Solution alcoolique de Phénophtaléine à 1 % ;
- Acide sulfurique (d = 1.522 g/ml ; c = 825) ;

- Alcool iso-amylique 0.813 g/ml ;

- Hydroxyde de sodium (NaOH).