

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire Belhadj Bouchaïb d'Aïn-Témouchent

Institut des sciences

Département des sciences de la nature et de la vie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en science biologique

Option : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

M^{lle}. DEMOUCHE Houaria.

M^{lle}. BELKHEIR Zohra.

Thème

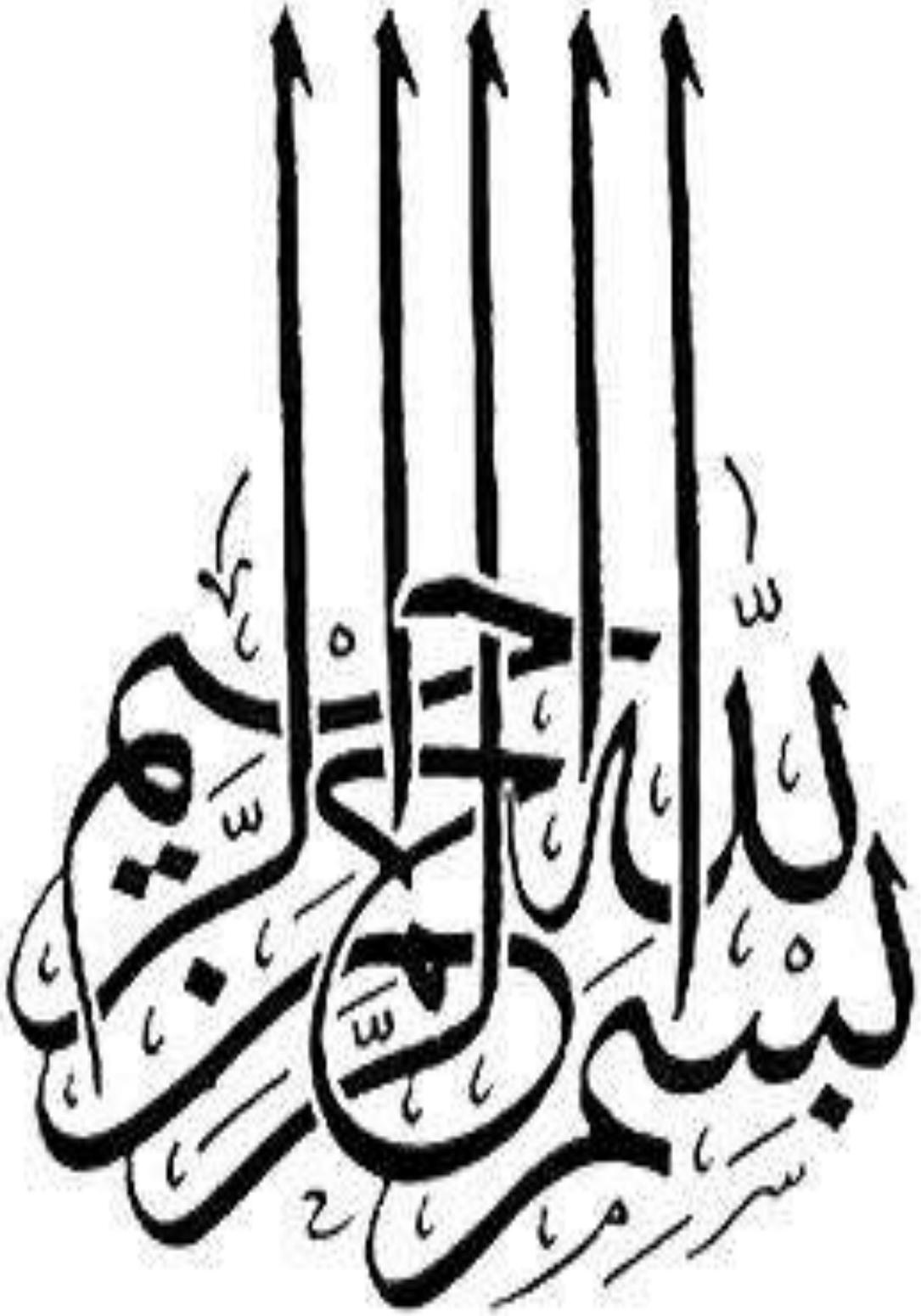
Analyse physico-chimique et microbiologique de lait cru de vache élevée dans la région d'Aïn Témouchent.

Soutenu le : 14 /06/2018

Devant le jury composé de :

Président : M ^r . ZIANE. M.	Maître de Conférences A	C.U. Ain-Témouchent
Examineurs : M ^{me} .BRIXI.N.	Maître de Conférences B	C.U. Ain-Témouchent
Encadrant : M ^{lle} .ZERRIOUH.M.	Maître de Conférences B	C.U. Ain-Témouchent

Année universitaire : 2017/ 2018



Remerciements

Nous remercions Dieu de nous avoir donné la force, la patience, le courage et la volonté pour élaborer ce travail.

*Nous tenons à adresser nos sincères remerciements et le grand respect à **Mlle ZERRIOUH Meriem**, maître de conférences d'avoir proposé ce sujet si intéressant et avoir accepté de nous encadrer et de nous orienter tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nos vifs remerciements sont adressés aux membres de jury (**Monsieur ZIANE Mohamed** et **Madame Brixí Nassima**), de nous avoir honoré de leur présence et d'avoir voulu évaluer ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à **Monsieur Mlalkind** (directeur général de la laiterie SARL), à **Monsieur Madjaoui** (directeur de la laiterie SIDI SAID), qui nous ont permis de réaliser cette étude.*

Nos gratuits et nos chaleureux remerciements s'adressent également à nos parents.

*Un grand et spécial remerciement à tous les membres du Centre Universitaire Belhadj Bouchaïb - Aïn Témouchent.
Pour leurs soutiens et leurs aides.*

En fin, nous remercions à tous ceux qui nous ont aidés de loin ou de près pour l'élaboration de ce travail.

Dédicace

*Je remercie tout d'abord, Allah, le tout puissant et clément de m'avoir
aidé à réaliser ce travail,*

Je dédie ce mémoire :

*A mes chers parents ma mère et mon père Pour leur patience, leur
amour, leur soutien et leurs encouragements.*

A mes frères

Saïd, Mohamed et yahyaoui

A mes sœurs

Khaira et Fatima

Qui ont été toujours présents pour moi

*A mon encadreur M^{re}. ZERRIOUH.M qui mérite tous mon respect et
tribut.*

A mon collègue dans ce travail, mon amie BELKHEIR Zohra.

A tous les étudiants de ma promotion

*Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du
secondaire ou de l'enseignement supérieur.*

DEMOUCHE HOUARIA

Dédicace

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce travail que je
dédie :*

A Ma Très Chère Mère

*Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice.
Ta prière et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long
de ma vie.*

*Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande
affection et ma profonde reconnaissance. J'espère ne jamais te
décevoir,
Ni trahir ta confiance et tes sacrifices.*

*Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie
et Bonheur.*

A mon frère YAHIA et ma sœur IMANE

A mon collègue dans ce travail, mon amie DEMOUCHE Houaria.

A tout la promotion 2018 de Magister - microbiologie appliquée -

A tous ceux qui sont chers et que j'ai oublié.

BELKHEIR Zohra

Résumé

Le présent travail a porté sur l'analyse physicochimique et microbiologique de huit échantillons de lait cru de vaches d'étables provenant de deux laiteries SARL et Sidi Saïd situées dans la région d'Ain Temouchent.

Les analyses physico-chimiques ont montré que les températures et les pH mesurés dans les huit échantillons de lait cru ont été compris entre 4 et 6 °C et 6.6 et 6.8 respectivement, et cela a été dans les normes exigées. D'autre part les acidités dornics mesurées sont été de $18,62 \pm 1,69$ °D pour la laiterie SARL et de 20.5 ± 0.25 °D pour la laiterie Sidi Saïd, ces valeurs sont supérieures aux normes. Les résultats des tests d'alcools et de C.O.B ont été négatifs pour les quatre échantillons provenant de la laiterie SARL. Par contre la laiterie Sidi Saïd, a montré un test d'alcool positif pour trois échantillons, et un test de C.O.B, positif pour deux échantillons.

Les analyses microbiologiques ont montré que le lait de vache de la laiterie de SARL, contient $1,68 \times 10^3$ UFC/ml de la FAMT, $0,71 \times 10^3$ UFC/ml de coliformes totaux et $0,95 \times 10^3$ UFC/ml de coliformes fécaux. En revanche le lait de la laiterie de Sidi Saïd contient $6,124 \times 10^3$ UFC/ml de la FAMT, $4,97 \times 10^3$ UFC/ml de coliformes totaux et $18,95 \times 10^3$ UFC/ml de coliformes fécaux. Les valeurs de ces charges microbiennes respectent bien les normes exigées par le journal officiel Algérien, sauf la valeur des coliformes fécaux de la laiterie Sidi Saïd, qui a été largement supérieure à la norme. Des *Staphylococcus aureus*, Gram positive et à catalase positif, ont été présentes dans le lait cru de la laiterie Sidi Saïd avec une charge moyenne égal à $5,17 \times 10^3$ UFC/ml, mais totalement absentes dans celui de la laiterie SARL. Pour les *Salmonella* on a noté l'absence totale de ce germe dans le lait cru analyser pour les deux laiteries.

Au terme de cette étude on peut conclure que le lait de la laiterie SARL, est de bonne qualité microbiologique, alors que celui de la laiterie de Sidi Saïd nécessite d'autres tests plus élargis pour mieux cerner l'origine des contaminations notées.

Mots-clés : Lait cru, vache, qualité microbiologique, qualité physico-chimique, Ain Témouchent.

Summary

The present work focused on physicochemical and microbiological analysis of eight samples of raw cows' milk from two SARL and Sidi Saïd dairies located in the region of Ain Témouchent.

The physicochemical analyzes showed that the temperatures and pH values measured in the eight samples of raw milk were between 4 and 6 °C and 6.6 and 6.8 respectively, and this was within the required standards. On the other hand, the measured dornic acidities were 18.62 ± 1.69 °D for the SARL dairy and 20.5 ± 0.25 °D for the dairy Sidi Saïd, these values are higher than the norms. The results of alcohol and C.O.B tests were negative for the four samples from the SARL dairy. On the other hand, Dairy Sidi Saïd, showed a positive alcohol test for three samples, and a C.O.B test, positive for two samples.

The microbiological analyzes showed that the dairy milk of the SARL dairy contains 1.68×10^3 CFU / ml of the FAMT, 0.71×10^3 CFU / ml of total coliforms and 0.95×10^3 CFU / ml of faecal coliforms. On the other hand, milk from the Sidi Saïd dairy contains 6.124×10^3 CFU / ml of FAMT, 4.97×10^3 CFU / ml of total coliforms and 18.95×10^3 CFU / ml of faecal coliforms. The values of these microbial comply the standards required by the Algerian official journal, except for the value of faecal coliforms from the dairy Sidi Saïd, which has been well above the norm. *Staphylococcus aureus*, Gram positive and catalase positive, were present in the raw milk of the dairy Sidi Saïd with an average load equal to 5.17×10^3 CFU /ml, but totally absent in that of the dairy SARL. For *Salmonella*, there was a complete absence of this germ in the raw milk analyzed for both dairies.

At the end of this study we can conclude that the milk of the dairy SARL is of good microbiological quality, while that of the dairy of Sidi Saïd requires more extensive tests to better understand the origin of the noted contaminations.

Keywords: raw milk, cow, microbiological quality, physicochemical quality, Ain Témouchent.

المخلص

لقد ركز هذا العمل ,على التحليل الفيزيوكيميائي والميكروبيولوجي لثمانية عينات من حليب الأبقار الخام من شركتي ش.م.م وسيدي سعيد الواقعة في منطقة عين تموشنت.

أظهرت التحليل الفيزيوكيميائية أن درجات الحرارة ودرجة الحموضة المقاسة في عينات الثمانية من الحليب الخام كانت تتراوح بين 4 و 6 درجات مئوية و 6.6 و 6.8 على التوالي ، وهذه النتائج متوافقة مع المعايير المطلوبة. من ناحية أخرى كانت الحموضة القابلة لتعبير قياسها 1.69 ± 18.62 دورنيك لمنتجات ألبان شركة ش.م.م و 0.25 ± 20.5 دورنيك لمنتجات الألبان شركة سيدي سعيد، وهذه القيم تفوق المعايير المطلوبة .كانت نتائج اختبارات الكحول و الغليان سلبية بالنسبة للعينات الأربعة من منتجات ألبان شركة ش.م.م عكس منتجات ألبان شركة سيدي سعيد حيث ان اختبار الكحول كان ايجابيا بالنسبة لثلاث عينات ، واختبار الغليان ايجابي لعينتين فقط.

وأظهرت التحليل الميكروبيولوجية أن حليب البقر من منتجات شركة الألبان ش.م.م يحتوي على 1.68×10^3 خلية/مل من مجموعة البكتيريا الهوائية ، 0.71×10^3 خلية/مل من مجموع القولونيات و 0.95×10^3 خلية/مل من القولونيات البرازية. من ناحية أخرى ، يحتوي حليب الألبان في سيدي سعيد على $6,124 \times 10^3$ خلية/مل من مجموعة البكتيريا الهوائية، 4.97×10^3 خلية/مل من مجموع القولونيات و 18.95×10^3 خلية/مل من القولونيات البرازية. هذه القيم من هذه النسب الميكروبية تمثل للمعايير المطلوبة من قبل المجلة الرسمية الجزائرية ، باستثناء قيمة القولونيات البرازية من منتجات الألبان سيدي سعيد ، والتي كانت أعلى من المعتاد . المكورات العنقودية الذهبية تتميز بتلوين غرام إيجابي و الكاتلاز الإيجابي، في الحليب الخام للألبان سيدي سعيد مع نسبة متوسطة تعادل 5.17×10^3 خلية/مل، ولكنها غائبة تماما في منتجات الألبان شركة ش.م.م. بالنسبة للسالمونيلا ، كان هناك غياب كامل لهذه الجرثومة في الحليب الخام الذي تم تحليله لكل من شركتي الألبان " سيدي سعيد و ش.م.م".

في نهاية هذه الدراسة، يمكننا أن نستنتج أن حليب شركة الألبان ش.م.م، هو من نوعية الميكروبيولوجية الجيدة ، في حين أن من منتجات الألبان سيدي سعيد نطلب اختبارات أكثر شمولا لفهم أصل الملوثات المشار إليها بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية: الحليب الخام ، البقرة ، الجودة الميكروبيولوجية ، الجودة الفيزيوكيميائية ، عين تموشنت .

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau n° 01	Composition générale du lait cru de vache.	03
Tableau n° 02	Les caractères organoleptiques du lait cru de vache.	07
Tableau n° 03	Les principales maladies transmises par le lait cru de vache	14
Tableau n°04	Classement des laits en fonction des tests de réduction	19
Tableau n° 05	Etude physico-chimiques du lait cru des deux laiteries : température, pH et acidité dornic.	26
Tableau n° 06	Etude physico-chimique du lait cru de vache: test de l'alcool 75%.	27
Tableau n°07	Etude physico-chimique du lait cru de vache : test de C.O.B.	28
Tableau n° 08	Etude physico-chimique du lait cru de vache : test de réductase.	29
Tableau n°09	Critères bactériologiques du lait cru.	30
Tableau n°10	Dénombrement de la FAMT dans les différents échantillons de lait cru de vache analysés (UFC/ml).	31
Tableau n°11	Dénombrement des coliformes dans les différents échantillons de lait cru de vache analysés (UFC/ml).	33

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure n °01	Schéma récapitulatif de la procédure expérimentale.	16
Figure n °02	Préparation des dilutions décimales dans l'eau physiologique à 0.9%.	20
Figure n °03	Protocole de la recherche des germes de lait cru de vache.	25
Figure n °04	Test de l'alcool 75%.(a) présence de la coagulation, (b) absence de la coagulation.	27
Figure n °05	Test de C.O.B. (a) absence de la coagulation (b) présence de la coagulation.	28
Figure n °06	Résultats du test de réductase (A : pas décoloration, B : décoloration).	29
Figure n °07	Aspect des colonies des FAMT sur milieu PCA.	31
Figure n °08	Aspect des colonies des coliformes sur milieu Mac conkey.	32
Figure n °09	Aspect des colonies <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Baird Parker.	33
Figure n °10	Dénombrement de <i>staphylococcus aureus</i> (UFC/ml).	34
Figure n °11	Observation microscopique des <i>Staphylocoques aureus</i> à coloration de Gram positive.	35
Figure n °12	Résultat du test de catalase positive.	35
Figure n °13	Absence des colonies des <i>Salmonella</i> sur milieu Hektoen.	35
Figure n °14	Mesure du pH.	Annexe
Figure n °15	Détermination de l'acidité Dornic.	Annexe
Figure n °16	Préparation des dilutions décimales.	Annexe
Figure n °17	Préparation boîte de pétri.	Annexe
Figure n °18	Recherche les germes aérobies mésophiles totaux.	Annexe
Figure n °19	Recherche des coliformes totaux et des coliformes fécaux.	Annexe
Figure n °20	Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Annexe
Figure n °21	Pré-enrichissement <i>Salmonella</i> .	Annexe
Figure n °22	Enrichissement <i>Salmonella</i> .	Annexe
Figure n °23	Isolement et Recherche de <i>Salmonella</i> .	Annexe

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
BSC	Bouillon Sélénite-cystéine
°C	Degré <i>Celsius</i>
CF	Coliforme fécaux
C.O.B	Clot on boiling (Test d'ébullition)
CT	Coliforme totaux
°D	Degré Dornic
DSA	Direction des services agricoles
EPT	Eau Peptonée Tamponnée
FAMT	Flore Aérobie Mésophile totale
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
G	Gramme
JORA	Journal Officiel de la République Démocratique Algérienne
h	Heure
L	Litre
Mg	Milligramme
Min	Minute
ml	Millilitre
nm	Nanomètre
PCA	Plate Count Agar
pH	Potentiel d'Hydrogène
PNDA	Plan Notionnel de Développement Agricole
SARL	Société Anonyme à Responsabilité Limitée
t	Temps
T	Température
UFC	Unité Formant Colonies
µm	Micromètre
%	Pourcentage

Table des matières

Liste des tableaux	page
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Synthèse Bibliographique	
I. Généralités sur le lait cru de vache	03
I.1 Définitions du lait cru de vache	03
I.2 Composition du lait cru de vache	03
I.3 Les facteurs de variations dans la composition du lait cru de vache	06
I.4. Les caractères organoleptiques du lait cru de vache	07
I.5. Propriétés physico-chimiques du lait cru de vache	07
II. Microbiologie du lait cru de vache	08
II.1. Sources de contamination du lait cru de vache	09
II.2. La flore microbienne du lait cru de vache	10
II.2.1. Flore originelle	10
II.2.2. Flore de contamination	11
II.2.2.1. Flore d'altération	11
II.2.2.2. Flore pathogène	12
II.3. Contrôle bactériologique du lait cru de vache	13
II.4. Action de la flore du lait	13
II.4.1 Aspect sanitaire	13
II.4.2 Aspect qualitatif	14
Matériels et Méthodes	
I. Cadre d'étude et présentation des unités	15
II. Echantillonnage	15
III. Méthode d'analyse	16
III.1. Analyses physico-chimiques du lait cru de vache	16

III.1.1. Évaluation organoleptique	16
III.1.2. Détermination de la température	16
III.1.3. Mesure du Ph	17
III.1.4. Détermination de l'acidité titrable	17
III.1.5. Test d'alcool	17
III.1.6. Test d'ébullition	18
III.2. Analyse microbiologique du lait cru de vache	18
III.2.1 Vérification rapide de la qualité microbiologique du lait : Test de la réductase	19
III.2.2 Préparation des dilutions	20
III.2.3. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale	20
III.2.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux	21
III.2.5. Recherche et dénombrement des staphylocoques aureus	22
III.2.6. Recherche et dénombrement des salmonelles	23
Résultats	
I. Résultats des analyses physico-chimiques	26
I.1. Température, pH et acidité dornic	26
I.2. Test de l'alcool	27
I.3. Test le C.O.B (<i>Clot on boiling</i>)	28
II. Les résultats des analyses microbiologiques du lait cru de vache	29
II.1. Test de la réductase	29
II.2. Flore totale mésophile aérobie	30
II.3. Coliformes totaux et fécaux	32
II.4. Staphylocoques	33
II.5. Salmonelles	35
Discussion	36
Conclusion	41
Références bibliographiques	42
Annexes	

Introduction

Le lait est une denrée essentielle dans l'alimentation humaine, c'est un fluide biologique collecté à partir des mammifères, principalement les vaches laitières. C'est un aliment complet et constitué des principaux nutriments indispensables au développement. Ainsi chaque pays doit en assurer une production suffisante, et doit prendre toutes les mesures convenables pour nourrir et entretenir le cheptel bovin.

L'Algérie a lancé en l'an 2000, un plan National de Développement Agricole (PNDA), à fin de booster le secteur laitier. Cette procédure a permis d'augmenter la production laitière nationale à trois milliards de litres en 2011, soit un accroissement de 84% par rapport à l'année 2000, mais cela est resté insuffisant, et l'Algérie importe ce produit alimentaire et se classe comme deuxième importateur au monde après la Chine (**Kacimi El Hassani, 2013**), et le plus grand consommateur de lait au Maghreb, avec 120 litres par an et par habitant (**Kacimi El Hassani, 2013**).

Le maintien du secteur laitier, ne doit pas se focaliser uniquement sur l'agent producteur, qui est la vache, mais aussi sur la qualité du lait collecté. En effet le lait est considéré comme un milieu biologique complexe, composé de toutes les molécules nécessaires au développement de microorganismes et sa qualité peut être affectée par de nombreux facteurs tels que les contaminations au cours et après la traite et la présence d'infections des mamites (**Aggad et al., 2009**). Plusieurs mesures devront être prises, pour réduire le risque de contamination et assurer une consommation humaine sans danger, notamment l'hygiène de la traite et le bon contrôle microbiologique et biochimique de la qualité du lait obtenu.

Selon les services vétérinaires de la direction des services agricoles, de très grands efforts ont été consentis durant ses dernières années, dans le domaine de la production laitière au niveau de tout le territoire de la wilaya d'Ain Témouchent. La wilaya compte cinq laiteries approvisionnées quotidiennement de lait émanant de différentes fermes ; deux laiteries établies respectivement à Aïn El Arbaa et Oued Sebbah, en plus de deux autres situées dans les daïras d'Ain Témouchent et cinquième à Aïn El Kihel.

Actuellement, la wilaya compte plus de 472 éleveurs recensés, où il a atteint la production laitière annuelle 25.050.141 litres (**Décembre 2016-Décembre 2017**) (**DSA. Ain-Témouchent, 2018**). Cependant, à nos jours aucune étude exhaustive concernant la qualité microbiologique et physico-chimique du lait produit dans cette région n'a été entreprise. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail.

L'objectif principal consiste à l'étude et l'évaluation de la qualité microbiologique du lait cru provenant de diverses fermes au niveau de deux laiteries de la région d'Ain Témouchent. Pour cela nous avons ciblé les points suivants :

- Un contrôle physico-chimique du lait cru de vache.
- Un contrôle microbiologique du lait cru de vache par recherche et dénombrement des germes de contamination (flore totale, coliformes totaux, coliformes fécaux...), ainsi que des germes pathogènes (*Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*).

I. Généralité sur le lait cru de vache

I.1. Définition du lait cru de vache

Le lait est un aliment liquide opaque blanc mat, plus ou moins jaunâtre. Il n'a pas une odeur très prononcée mais reconnaissable. Selon le journal officiel de la république démocratique algérienne, la dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (**JORA, 1993**). En revanche, le règlement européen ajoute à cette définition que la température de la collecte du lait ne doit pas dépasser les 40 °C (**Deforges et al. en 1999**). Alors que les Américains ont été beaucoup plus précis et ont exigé que la composition du lait doit contenir au minimum un taux de lipides de 3,25%, et à un taux de produits outre que les lipides de 8,25 % (**Eskin et Goff, 2013**).

I.2. Composition biochimique du lait cru de vache

Ces exigences demandées dans la définition du lait, explique bien que sa composition biochimique peut être variable, et doit être respectée pour assurer une production laitière dans les normes. En fait plusieurs facteurs peuvent influencer la composition du lait, notamment l'espèce, la race, le stade de lactation, l'alimentation des animaux, ainsi que des facteurs génétiques (**Fox et McSweeney, 1998**). En générale les majeurs constituants du lait sont présentés dans le tableau n° 01.

Tableau n°01 : Composition générale du lait cru de vache (**Fox et McSweeney, 1998**).

Constituants majeurs	Variations limites (%)
Eau	86 - 88%
Matière grasse	3 - 6%
Protéines	3 - 4%
Glucides	5%
Minéraux	0.7%

I.2.1. La matière grasse

La matière grasse laitière représente une source de lipides importante dans l'alimentation, elle constitue 3 à 6% des composants du lait. Plus que 98,7% de ces lipides sont des glycérides neutres, répartis en triglycérides (98,3%), diglycérides (0,3%) et en monoglycérides (0,03%). Les autres composants lipidiques sont, des acides gras libres (0,1%), des phospholipides (0,8%), des sphingolipides (0,27%), du cholestérol (0,30%) et des caroténoïdes et de la vitamine A (0,002%) (**Couvreur et Hurtaud, 2007**).

La matière grasse laitière s'organise sous forme de globules gras, qui correspondent à un cœur de triglycérides entouré par une membrane biologique. Le nombre moyen de ces globules gras est d'environ 15×10^9 par ml, et leur diamètre varie de 0,2 à environ 15 μ m. La taille de ces globules joue un rôle dans les propriétés technologiques et sensorielles du lait et des produits laitiers (**Couvreur et Hurtaud, 2007**).

I.2.2. Les protéines

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des vivants et elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers (3à 4%). Les protéines de lait se divisent en deux grandes classes, les protéines solubles notamment la β -lactoglobuline et α -lactalbumine et les protéines à l'état de suspension colloïdale, c'est le cas des caséines (**Léonil, et al., 2013**).

Les caséines forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait des ruminants (soit 25-28 g/L) (**Léonil, et al., 2013**). Ce sont des phosphoprotéines qui se regroupent sous formes sphériques appelée "micelle". Dans un litre de lait, on compte environ $1,14 \times 10^{17}$ micelles de caséines, avec un diamètre d'environ 50 à 500 nm (**Léonil, et al., 2013**). On distingue quatre types de ces protéines, qui sont les caséines α_{S1} , α_{S2} , β et κ , et sont dans un rapport molaire respectif de 4 ; 1 ; 3,5 et 1,5 (**Vignola, 2002**).

Une propriété importante des micelles est de pouvoir être déstabilisée par voie acide ou par voie enzymatique et de permettre la coagulation ; elle constitue le fondement de la transformation du lait en fromages et en laits fermentés (**Ramet, 1985**).

I.2.3. Enzymes

D'autres protéines du lait sont des enzymes, on compte environ 30 enzymes différentes, comme les lactoperoxydases et les phosphatases (**Blanc, 1982**).

I.2.4. Les glucides

Le sucre principal du lait est le lactose, c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale (**Benhila et Melahi, 2015**). Il est responsable par son goût sucré et par sa concentration élevée de la saveur douce et agréable du lait frais (**Romain et al., 2008**).

I.2.5. Les minéraux

La fraction minérale du lait est composée de chlorures, phosphates, citrates, sulfates et bicarbonates de sodium, potassium, calcium et de magnésium (**Robinson, 2005**). Ces minéraux sont répartis soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale) (**Robinson, 2005**).

I.2.6. Les vitamines

Sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique (**Benhila et Melahi, 2015**). On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait.
- les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (**Pougheon, 2001**).

I.3. Les facteurs de Variations dans la composition du lait cru de vache

La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs de variation, qui sont bien connus. Ils sont liés soit à l'animal (Facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire ...) soit au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation...) (**Pougheon, 2001**).

I.3.1. Facteurs intrinsèques

I.3.1.1. Facteurs génétiques

Les différences génétiques entre troupeaux sont en effet faibles, en raison d'une grande similitude dans les choix génétiques des éleveurs vis à vis des caractéristiques de production (**Agabriel et al., 1993**).

La génétique explique une grande part des variations biochimiques, comme le taux butyreux, et l'on observe des écarts importants aussi bien à l'intérieur d'une race qu'entre les races (**Mansour, 2015**).

I.3.1.2. Stade de lactation

Au cours de la lactation, les quantités de la matière grasse évoluent de façon inversement proportionnelle à la quantité de lait produite. Elles sont maximales au cours des premiers jours de la lactation, minimales durant 2 à 3 mois de lactation et s'accroissent à la fin de la lactation. Cette augmentation est due en partie à l'avancement du state de gestation, qui diminue la persistance de la production laitière pour le taux des protéines et le taux butyreux (**Coulon et al., 1991**).

I.3.2. Facteurs extrinsèques

I.3.2.1. Alimentation

L'alimentation joue un rôle important, elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse (taux butyreux) et le taux protéique, elle peut être améliorée par des apports spécifiques en acides aminés (lysine et méthionine) (**Hoden et Coulon, 1991**).

Il existe plusieurs types d'aliments favorables à la synthèse de la matière grasse, voire de l'amélioration du taux butyreux. Par exemples : fourrages et l'ensilage du maïs (**Hoden et Coulon, 1991**).

I.3.2.2. Saison et climat

L'effet propre de la saison sur les performances des vaches laitières est difficile à mettre en évidence compte tenu de l'effet conjoint du stade physiologique et des facteurs alimentaires (**Coulon et al., 1991**). Il est cependant possible, en appliquant les techniques statistiques appropriées à des données mensuelles individuelles nombreuses, de décrire l'évolution de la production et de la composition du lait au cours de l'année. Lorsque les facteurs alimentaires varient peu au cours de l'année ou ne sont pas limitant, on dispose ainsi d'une bonne estimation de l'effet propre de la saison (photopériode, température...) (**Coulon et al., 1991**).

I.4. Les caractères organoleptiques du lait cru de vache

Juger de la qualité du lait par son goût et son odeur exige une habileté considérable qui ne peut être acquise que par la pratique. L'examen de la consistance, de la couleur, de l'odeur et de la saveur du lait cru peut apporter certaines indications sur la qualité du produit (tableau n° 02) (**Guiraud, 2003**).

Tableau n° 02 : Les caractères organoleptiques du lait cru de vache (Guiraud, 2003).

Caractères examinés	Caractères normaux
Couleur	Blanc mat, Blanc jaunâtre (très riche en crème).
Odeur	Odeur faible
Saveur	Saveur agréable
Consistance	Homogène

I.5. Propriétés physico-chimiques du lait cru de vache

Les propriétés physico-chimiques principalement utilisées dans l'industrie laitière sont l'acidité dornic, le pH, le point d'ébullition et le point de congélation.

I.5.1. L'acidité de titration ou l'acidité Dornic

A la sortie du pis de la vache, le lait frais a une acidité naturelle due à la présence de protéines, de substances minérales et d'acides organiques (CIPC lait, 2011). Puis au fur et à mesure de la conservation du lait, des bactéries lactiques se développent et de l'acide lactique se forme par fermentation du lactose. Cette acidité développée conduit à la dénaturation des protéines (CIPC lait, 2011). Un lait cru frais normal a une acidité titrable de 14°D à 17°D (Guiraud, 2003).

I.5.2. pH

Le pH représente l'acidité du lait à un moment donné. Le pH d'un lait normal varie entre 6,6 et 6,8, on considère comme anormales les valeurs de pH inférieurs à 6,5 et supérieurs à 9,6 (Vignola, 2002).

I.5.3. Le point de congélation

Le point de congélation originel du lait de vache se situe normalement entre -0,530 °C à -0,575 °C en moyenne à -0,555 °C. Il est légèrement inférieur à celui de l'eau. 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'un cryoscope (Vignola, 2002).

I.5.4. Point d'ébullition

On définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de la substance ou la solution est égale à la pression appliquée. Le point d'ébullition est légèrement supérieur au point d'ébullition d'eau, soit 100,5°C (Vignola, 2002).

II. La microbiologie du lait cru de vache

De nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue pour elles un excellent substrat nutritif. Au cours de leurs multiplications dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique...), des substances aromatiques, de l'acide lactique, diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (Institut de l'élevage, 2009).

Le lait cru est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par millilitre (**Ramet, 1985**). Dans cette microflore, les bactéries sont dominantes et conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première (**Ramet, 1985**).

II.1. Sources de contamination du lait cru de vache

La flore microbienne du lait provient de l'environnement de la traite et de l'animal infecté, et aussi des conditions du stockage et du transport du lait de la ferme jusqu'à la laiterie.

La croissance de cette flore microbienne est un phénomène complexe qui dépend de plusieurs facteurs du milieu dont en premier lieu la température, mais aussi le pH, la disponibilité en nutriments, la salinité et la concentration en oxygène dissous (**Institut de l'élevage, 2009**).

➤ **Contamination par l'animal**

Le lait d'un animal parfaitement sain trait aseptiquement, est normalement dépourvu de micro-organisme, à la sortie de la mamelle le nombre de germes est très faible généralement inférieur à 5000/ml (**FAO, 1995**). Ils proviennent de l'extérieur et pénètrent dans la mamelle par le canal du trayon. Dans le cas d'infections de la mamelle, le nombre de germes augmente peu, mais ils sont en majorité constitués de bactéries pathogènes, notamment staphylocoques ou streptocoques (**FAO, 1995**).

➤ **Contaminations du lait cru au cours de la traite**

Trois sources possibles de contamination du lait cru au moment de la traite peuvent être distinguées : à l'intérieur du pis et à l'extérieur du pis de la vache ainsi que des microorganismes dérivés de l'environnement de la traite (des trayons souillés de fumier, de boue, d'aliments ou de litière) (**Murphy et Boor, 2010**).

➤ **Contaminations du lait cru au stade de la production**

Le lait recueilli à la ferme par la traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant le transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid, la durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles dans quelques jours (**Guiraud, 2003**).

➤ **Contaminations du lait cru au cours du transport**

Le transport du lait des étables vers les laiteries se fait souvent dans des conditions très favorables à la multiplication des micro-organismes. Principalement, les contenants du lait (bidons) sont souvent à faible ouverture, et donc difficiles à nettoyer, ils peuvent par conséquent être de véritables nids bactériens. D'autre part la durée du transport est parfois longue (temps entre la traite et la pasteurisation supérieur à 4 heures), et à température ambiante élevée (38-39 °C), ce qui favorise la multiplication bactérienne (**Guigma, 2013**).

II.2. La flore microbienne du lait cru de vache

II.2.1. La flore originelle

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml) (**Guiraud, 2003**). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores, principalement des microcoques mais aussi des streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et des lactobacilles (**Guiraud, 2003**).

Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées « lacténines » mais leur action est de très courte durée (1 heure environ) (**Guiraud, 2003**).

II.2.2. La flore de contamination

Le niveau de contamination du lait cru est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (FAO, 1995).

A noter que le niveau de contamination est généralement moins élevé dans le cas de la traite manuelle que dans la traite mécanique, car cette dernière met en œuvre un équipement plus important et plus difficile à nettoyer (FAO, 1995).

Cette flore peut se composer d'une flore d'altération, qui est capable d'entraîner la détérioration du lait et une flore pathogène dangereuse (Guiraud, 2003).

II.2.2.1. La flore d'altération

Elle est responsable de la dégradation des constituants du lait cru comme les lipides et les protéines et aussi de la détérioration de ses caractères organoleptiques (Guiraud, 2003). Parmi ces micro-organismes on trouve la flore aérobique mésophile totale et les coliformes.

✚ La flore aérobique mésophile totale

Le terme «germes totaux» ou «flore totale» ou encore «la flore mésophile aérobique «révivable» désigne l'ensemble des bactéries mésophiles aérobies qui se développent à 30°C pendant 72 heures en laboratoire sur un milieu nutritif gélose standard.

Le dénombrement de cette flore est un indicateur pertinent pour évaluer le degré de contamination globale du lait (Institut de l'élevage, 2009).

La flore mésophile aérobique totale nous renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait cru. C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques. L'énumération de cette flore a montré qu'il y a une contamination importante du lait cru pendant toutes les périodes (Afif et al., 2008).

Les coliformes

Sont des bactéries de Gram négatif non sporulées, aérobies ou anaérobies facultatives capables de se multiplier en présence de sels biliaires et de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz (CO₂ et H₂). Ce sont des entérobactéries moyennement acidifiant (pH=5). Les coliformes se répartissant en 2 groupes distincts (**Institut de l'élevage, 2009**) :

- ✓ Les fécaux dont l'origine est le tube digestive; ils sont détectés à 44°C.
- ✓ Les non fécaux ou les totaux dont l'origine est l'environnement générale des vaches ; ils sont détectés à 30°C.

L'existence des coliformes totaux n'indique pas nécessairement une contamination fécale directe du lait, mais elle est considérée comme un indicateur de mauvaises pratiques d'hygiène et sanitaire durant la traite et la manipulation. De plus la présence de ces germes dans le lait peut être liée à une contamination par les déjections de la vache, le sol et l'eau utilisée (**chye, 2004**).

II.2.2.2 La flore pathogène

Dans le lait cru, les germes pathogènes susceptibles d'être rencontrés sont : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella*. Leur présence devra être examinée dans une perspective d'analyse du risque encouru par le consommateur vis-à-vis de ces micro-organismes (**Brisabois et al., 1997**).

Staphylococcus aureus

Ce sont des bactéries sphériques, appelées coques, à Gram positif. Ils sont souvent regroupés en amas (**Brisabois et al., 1997**).

S. aureus a une importance aussi bien économique qu'hygiénique, sa présence dans les aliments représente un risque pour la santé humaine et elle est aussi considérée comme un agent pathogène majeur impliqué dans les mammites des vaches laitières (**Hamiroune et al., 2017**).

Salmonella

Les Salmonella sont des bactéries Gram négatif de type aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des enterobacteriaceae et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques (**Brisabois et al., 1997**). Elles constituent la cause majeure des infections du tractus digestif humain, liées à la consommation de denrées alimentaires d'origine animales comme le lait cru (**Van immerseel et al., 2005**), sa recherche ainsi est d'un grand intérêt.

II.3. Contrôle bactériologique du lait cru de vache

L'appréciation de la qualité bactériologique du lait cru consiste à la recherche des germes nuisibles (FAMT et Coliformes) qui sont responsables de l'altération de la qualité organoleptique du lait cru et à la détection de la présence des germes pathogènes (Staphylocoques et Salmonella) qui peuvent être gênants pour le consommateur (**Brisabois et al., 1997 ; Guiraud, 2003**). Les contrôles microbiologiques du lait cru doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit. Cette analyse est basée sur la recherche suivante :

- Les germes d'altération : FAMT qui est un indicateur de la qualité sanitaire global de lait.
- Les germes potentiellement pathogènes pour le consommateur : les staphylocoques et salmonella qui sont des indicateurs de vérification des bonnes conditions hygiéniques du personnel dans le local de la traite.
- Les germes de contamination : les coliformes totaux, les coliformes fécaux qui sont des indicateurs de contamination fécale.

II.4. Action de la flore du lait cru de vache

II.4.1. Aspect sanitaire

La plupart des maladies graves sont transmises par des germes pathogènes qui peuvent être présents dans le lait (**Guiraud, 2003**). Le tableau suivant donne les principaux germes ainsi que les maladies qu'ils provoquent.

Tableau n°03 : Les principales maladies transmises par le lait cru (Guiraud, 2003).

Les germes pathogènes du lait cru	Les maladies
<i>Staphylocoques aureus</i>	Toxi-infections Alimentaires
<i>shigelle,</i>	Dysenterie
<i>Brucella,</i>	la fièvre de Malte
<i>Listeria monocytogenes</i>	la listériose
<i>Mycobacteriumbovis et tuberculosis,</i>	la tuberculose
<i>Bacillus anthracis</i>	Charbon
<i>Escherichia Coli</i>	Intoxication

II.4.2. Aspect d'altération

De nombreux micro-organismes peuvent se développer abondamment dans le lait entraînant par leur action des modifications de texture et de goût, ces altérations vont dépendre des conditions de stockage du lait (aération, température) et des traitements qu'il subit (Guiraud, 2003). Parmi les principales activités des micro-organismes dans le lait :

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. Cette augmentation provoque une modification dans le goût du lait (Kuzdzal Savoie, 1982 ; Heuchel et al., 2003).

Surissement et acidification avec coagulation : La plupart des micro-organismes du lait sont capables de fermenter le lactose en produisant une acidification qui entraîne la coagulation de la caséine. Cette coagulation se produit à partir du pH 4,6. Parmi ces micro-organismes on peut citer *Lactococcuslactis*, les microcoques et les lactobacilles (Guiraud, 2003).

Protéolyse : Les laits de vache renferment différents enzymes protéolytiques susceptibles de provoquer des modifications des constituants du lait lors de son stockage à basse température et entraîner l'apparition de défauts dans certains produits laitiers ou bien des pertes rendement. Certains sont présents naturellement dans le lait, d'autres sont sécrétés par des micro-organismes (Miranda, 1984).

Matériels et méthodes

I. Cadre d'étude et présentation des unités

Le but principal du présent travail est l'évaluation des qualités physico-chimiques et microbiologiques du lait cru de vache, collecté dans la wilaya d'Ain Témouchent. L'étude a été menée durant la période s'étalant de février à Mai 2018, des huit échantillons de lait ont été prélevés au niveau de deux laiteries, qui sont des sociétés privées de production du lait de sachets pasteurisé, elles disposent d'une gamme variée en produit à base de 100% lait cru de vache :

- La laiterie «SARL» située dans la zone industrielle d'Ain Témouchent, et c'est une société à caractère unipersonnel de monsieur Midkind fondée en 2017. Cette laiterie est conventionnée avec 3 collecteurs et 48 éleveurs laitiers.
- La laiterie «SIDI SAID» située dans la zone industrielle d'Ain Témouchent, et c'est une société à caractère unipersonnel de monsieur Madjaoui fondée en 2010. Cette laiterie est conventionnée avec 30 éleveurs laitiers.

II. Echantillonnage

Des huit échantillons de lait cru ont été collectés dans des flacons stériles de 500 ml d'une façon aseptique au niveau de chaque laiterie, puis acheminés immédiatement dans une glacière vers le laboratoire de microbiologie du Centre Universitaire Belhadj Bouchaib - Ain Témouchent. Dès leur arrivée au laboratoire les échantillons ont fait l'objet d'une série d'analyses physico-chimiques et microbiologiques.

III. Méthode d'analyse

La méthodologie de travail adoptée dans cette étude est récapitulée dans la figure suivante :

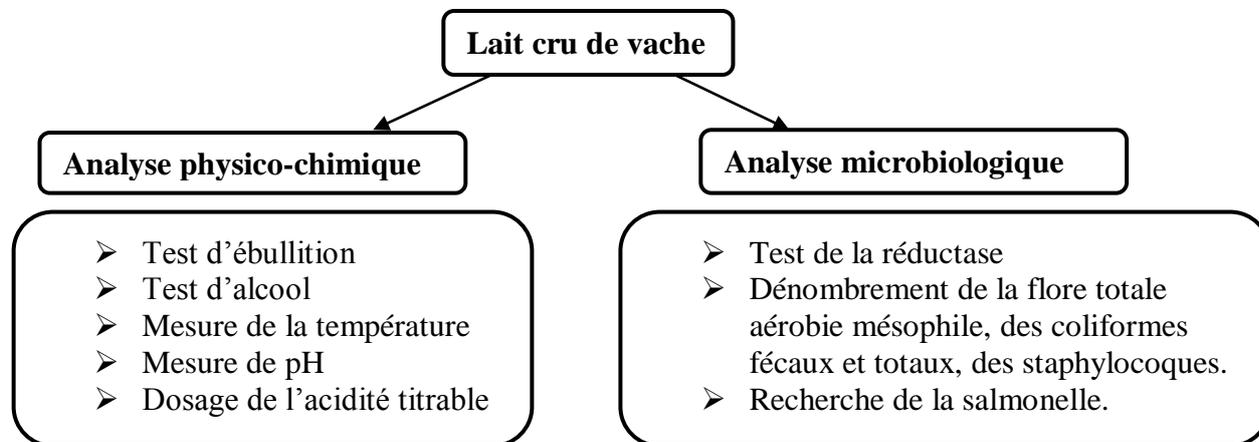


Figure n° 01 : Schéma récapitulatif de la procédure expérimentale.

III.1. Analyses physico-chimiques du lait cru de vache

Avant le prélèvement, le lait de mélange est bien agité pour une bonne homogénéisation ensuite un échantillon de 100 ml est prélevé dans un flacon.

III.1.1. Évaluation organoleptique

Chaque échantillon de lait a été minutieusement examiné, et nous avons noté les observations sur les aspects suivants : l'odeur, la couleur, la saveur et la consistance.

III.1.2. Détermination de la température

La mesure de la température du lait cru est effectuée au moment du prélèvement au moyen d'un thermomètre à usage alimentaire. Ce dernier a été plongé pendant quelques minutes dans le flacon contenant le lait, la lecture de la température s'effectue directement sur la graduation du thermomètre.

III.1.3. Mesure du pH

La détermination du pH est réalisée directement en plongeant l'électrode du pH mètre (**ORP, BPH-231**) dans un bécher contenant une quantité de lait à analyser. Le résultat s'affiche directement sur le cadran du pH mètre.

III.1.4. Détermination de l'acidité titrable ou acidité dornic

L'acidité peut être titrée de façon précise à l'aide de soude dornic (N /9). En présence de Phénolphtaléine comme indicateur coloré (**Guiraud, 2003**) par la procédure suivie :

1. Prenez 10 ml de lait est placé dans un bécher de 100 ml en présence de 0.1 ml de phénolphtaléine à 1% préparé dans l'alcool à 95%.
2. La soude (0,1N) est ajoutée à la burette jusqu'au virage au rose de l'échantillon : la coloration rose doit être persistée au moins 10 secondes.
3. Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D), qui correspond au nombre de 1/10° de ml de soude dornic N/9 nécessaire pour assurer le virage de la phénolphtaléine.

$$\text{Acidité (°D)} = 10 \times V$$

V: le volume en ml de la soude nécessaire au titrage.

III.1.5. Test d'alcool

Le test d'alcool est utilisé pour l'évaluation rapide de la stabilité du lait pour des traitements ultérieurs en particulier la condensation et la stérilisation. Le test d'alcool est utile comme indication de l'équilibre minéral du lait et non comme indice d'acidité développée. Pour réaliser ce test nous avons suivi les étapes suivantes :

1. Prenez 5 ml de lait dans un tube à essai.
2. Ajoutez une quantité égale de 75% d'alcool éthylique.
3. Mélangez le contenu du tube à essai en l'inversant plusieurs fois.
4. Examinez le tube et notez toute coagulation.

5. Si une coagulation s'est produite, de fines particules de caillé seront visibles sur la surface interne, la présence de flocons ou de caillé indique un test d'alcool positif. Ces échantillons sont rejetés.

III.1.6. Test d'ébullition (*Clot on boiling, C.O.B.*)

Le lait acidifié coagule à l'ébullition. Un tube contenant un volume de 5 ml du lait est porté au bain marie à 100 °C pendant 5 min puis examiné. Le lait normal ne coagule pas. Lorsque l'acidité dépasse 21 °D, la coagulation débute à 28 °D, le lait se prend en masse (**Guiraud, 2003**). Les étapes nécessaires pour réaliser ce test sont comme suit :

1. Prenez 5 ml de lait dans le tube à essai.
2. Mettez ceci sur un bain d'eau bouillante pendant 5 minutes.
3. Retirez le tube du bain-marie sans le secouer.
4. Notez toute odeur d'acide ou particules précipitées sur les côtés du tube à essai.
5. L'échantillon présentant des particules précipitées est enregistré comme positif test de C.O.B.

III. 2. Analyse microbiologique du lait cru de vache

Parmi les grands types de flores microbiennes habituellement dénombrés dans les laits crus, sont systématiquement mis en évidence : la flore aérobie mésophile totale, coliformes totaux, coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, et Salmonelles selon Journal Officiel Algérien en 2017 qui citées les normes acceptables des ces germes dans le lait cru. Les méthodes suivantes ont été utilisées.

III.2.1. Vérification rapide de la qualité microbiologique du lait : Test de la réductase

Ce test donne une idée sur la quantité de germes présents dans le lait, de leur activité et de leur vitesse de multiplication.

➤ **Principe**

La plupart des bactéries se multipliant dans le lait sont capables, grâce à l'action de leur réductase, d'abaisser le potentiel d'oxydoréduction jusqu'à décoloration d'un indicateur rédox, on utilise généralement le bleu de méthylène (**Guiraud, 2003**).

➤ **Procédure**

1. Prenez 10 ml de lait dans un tube à essai.
2. Ajoutez un ml d'une solution de bleu de méthylène à 5mg/100ml d'eau distillée.
3. Mélangez le contenu du tube à essai en l'inversant 2 à 3 fois.
4. Incubez à 37 °C dans un bain-marie.
5. Retournez les tubes toutes les heures.
6. Faites une lecture au bout de 2 heures, puis éventuellement au bout de 4 heures.

➤ **Expressions des résultats**

Le temps de décoloration du bleu de méthylène donne une mesure du niveau de contamination du lait (**Tableau n°04**).

Tableau n°04: Classement des laits en fonction des tests de réduction (**Guiraud, 2003**).

Note	Appréciation	Temps de réduction du bleu de méthylène
1	Lait contaminé	$t < 2h$ (<1h 30)
2	Lait peu contaminé	$2h < t < 4h$ $1h\ 30 < t < 3h$
3	Lait de bonne qualité	$t > 4h$ (> 3h)

III.2.2. Préparation des dilutions

La préparation des dilutions pour les analyses microbiologiques se fait par la mise en évolution d'un 1ml de solution mère (lait de mélange) dans 9ml de solution d'eau physiologique (Mansour, 2015).

Nous avons préparé les dilutions décimales suivantes : de solutions sont obtenues en mélangeant un volume déterminé de la dilution primaire, avec 9 fois le même volume de diluant approprié et en répétant cette opération sur chaque dilution ainsi préparée jusqu'à obtention d'une gamme de dilutions décimales appropriée pour l'ensemencement des milieux de culture (fig.2) (JORA N°70, 2004).

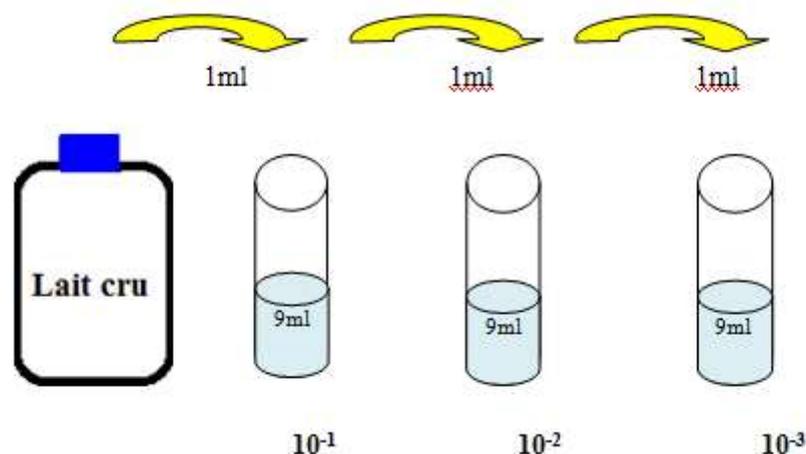


Figure n° 02 : Préparation des dilutions décimales dans l'eau physiologique à 0.9%.

III.2.3. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale

➤ Principe

La flore aérobie mésophile a été dénombrée par comptage des colonies après culture sur PCA ensemencées et incubées pendant 3 jours à 30 °C. Cette méthode est la plus courante et la plus pratique pour établir le niveau de contamination globale du lait (FAO, 1995).

➤ **Mode opératoire**

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale est effectué à partir des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} . Porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri vide, puis ajouter 15 ml de gélose PCA fondue et refroidie à 45 ± 1 °C. Pour homogénéiser l'inoculum à la gélose, faire des mouvements circulaires et de va-et-vient. Laisser solidifier, puis incuber à 30 °C pendant 72h (**Ghazi et Niar, 2011**).

➤ **Lecture**

Ces bactéries se traduisent par l'apparition de colonies blanchâtres en masse à la surface de la gélose PCA. Le comptage des colonies se fait sur les boîtes qui ont un nombre compris entre 30 et 300 colonies et le nombre de micro-organismes par ml est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{V (n_1 + 0,1 n_2) d}$$

$\sum c$: somme totale des colonies comptées.

n_1 : nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n_2 : nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

V : volume de solution déposée (1ml).

d : le facteur de dilution partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

III.2.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

➤ **Principe**

Les coliformes sont des entérobactéries capables de se multiplier en présence de sels biliaires et peuvent fermenter le lactose en acide et avec production du gaz (CO_2 et H_2). Ces bactéries sont révélées en présence de rouge neutre par la formation de colonies roses ou rouges sur Mac conkey (**Institut de l'élevage, 2009**).

➤ **Mode opératoire**

Le dénombrement des coliformes a été réalisé sur milieu Mac conkey. La séparation entre coliformes totaux (CT) et coliformes fécaux (CF) est basée sur la température d'incubation qui est 37 °C pendant 24 heures pour le dénombrement des coliformes totaux et 44 °C pour les coliformes fécaux (Afif et al., 2008). L'ensemencement est effectué en profondeur des dilutions de 10⁻¹ à 10⁻³.

➤ **Lecture**

Les coliformes apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé sur la surface de la gélose Mac conkey.

III.2.5. Recherche et dénombrement des staphylocoques aureus

➤ **Principe**

Staphylococcus aureus sont des bactéries qui apparaissent sous forme de colonies noires résultant de la réduction du tellurite en tellure, qui sont entourées par un halo transparent qui signifie la présence des lipoprotéinases. Un test à la coloration de Gram, un test de la catalase et, le test de coagulase sont utilisés par la suite pour confirmation.

➤ **Mode opératoire**

Le milieu utilisé était le Baird-Parker additionné de jaune d'œuf et de tellurite de potassium. Il a été préalablement coulé dans les boîtes de Pétri, 0,1 ml de la dilution a été ensemencé en surface dans la boîte de Pétri. Une pipette pasteur stérile a été utilisée pour étaler les 0,1 ml sur toute la surface. Après incubation des boîtes à 37 °C pendant 24 à 48 heures (Hamiroune et al., 2017).

➤ **Lecture**

Les colonies des *Staphylococcus aureus* apparaissent des colonies noires avec un halo transparent.

➤ **Test de confirmation**

 **Coloration de Gram**

La coloration de Gram est utilisée pour distinguer entre deux groupes bactériens, les Gram positives et les Gram négatives ; *Staphylococcus aureus* sont des cocci à coloration de Gram positive.

 **Recherche de la catalase**

Le test de la catalase permet de vérifier si une bactérie possède l'enzyme de la catalase ayant comme utilité de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) ainsi qu'en oxygène (O_2). Sa recherche consiste à mettre en contact la colonie avec de l'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame de verre. On remarque une effervescence due à un dégagement gazeux (formation des bulles) qui traduit la présence de cette enzyme (**Tankeshwar, 2013**).

 **Recherche de la coagulase**

Le test de coagulase est utilisé pour différencier *Staphylococcus aureus* (positif) de *Staphylococcus* négatif à la coagulase. Elle se fait par l'addition de 0,5 ml de plasma de lapin à 0,5 ml de la culture bactérienne. Et l'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures. La formation d'un coagulum indique la présence d'une coagulase (**Tankeshwar, 2013**). (Ce test n'a pas été réalisé, dans ce travail !).

III.2.6. Recherche et dénombrement les salmonelles

➤ **Principe**

La gélose Hektoen est un milieu sélectif différentiel des bactéries entéro-pathogènes, particulièrement les salmonelles. La composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres (la salicine, le saccharose et le lactose). Par le virage du bleu au rouge-saumon et/ou produisant de l' H_2S (centre noir).

Les salmonelles n'attaquant aucun de ces glucides. Et capable la production d'H₂S à partir de thiosulfate du milieu Elle se traduit par l'obtention de colonies bleu –vert à centre noir.

➤ **Mode opératoire**

Sont recherchées en trois étapes, un pré-enrichissement a été fait par une mise en suspension de 25 ml de l'échantillon dans 225 ml d'eau peptonée tamponnée (EPT) .Ce bouillon est incubé à 37 °C pendant 16 à 20 heures. Suivi d'un enrichissement sur Bouillon Sélénite-cystéine (BSC) 24 heures à 37 °C (**Bachtarzi et al., 2015**). Puis le dénombrement et l'isolement ont été réalisés sur le milieu Hektoen par ensemencement de 1ml en surface dans la boîte de Pétri. Après incubation 24 heures à 37 °C (**Tir et al., 2015**).

➤ **Lecture**

Les salmonelles apparaissent comme des colonies bleu-vert avec un centre noir sur le milieu Hektoen.

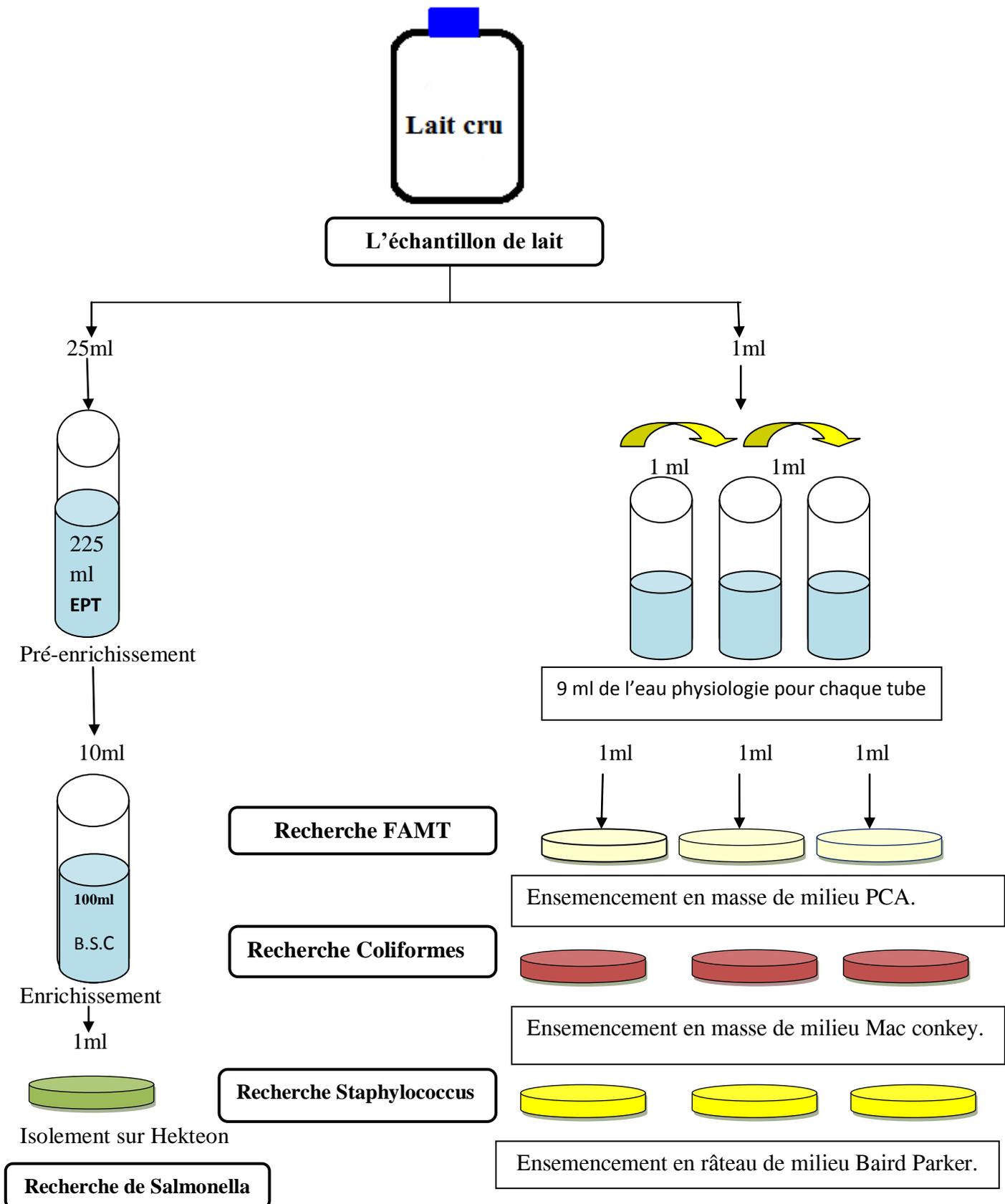


Figure n°03 : Protocole de la recherche des germes de lait cru de vache.

Résultats et interprétation

I. Résultats des analyses physico-chimiques du lait cru de vache

Les tests organoleptiques de nos échantillons provenant des deux laiteries, ont montré un liquide de couleur blanc mat, d'une odeur faible, d'une saveur agréable et d'une consistance homogène.

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur les échantillons du lait sont donnés dans les tableaux n°5, n°6, n°7 et n°8.

I.1. Température, pH et acidité dornic

La comparaison des résultats obtenus avec les valeurs standards données par la littérature montre bien que les températures et les pH mesurés dans les deux échantillons des deux laiteries sont comparables aux valeurs normales. Ces dernières sont comprises entre 4 et 6 °C pour la température (Mottar, 1984), et 6,6 et 6,8 pour le pH (Vignola, 2002). En revanche l'acidité de nos échantillons exprimée en acidité dornic, est trouvée légèrement supérieure à savoir $18,62 \pm 1,69$ °D pour la laiterie SARL et $20,5 \pm 0,25$ °D pour la laiterie Sidi Saïd, alors que les normes sont comprises entre 14 et 17 °D (Guiraud, 2003).

Tableau n°05 : Etude physico-chimiques du lait cru des deux laiteries : température, pH et acidité dornic.

Echantillon	Paramètres physico-chimiques					
	Laiterie SARL			Laiterie Sidi Saïd		
	T (°C)	pH	Acidité (°D)	T (°C)	pH	Acidité (°D)
E1	4	6,79	14	4	6,85	18
E2	5	6,68	18,5	5	6,36	23
E3	5	6,65	20	4	6,57	21
E4	5	6,77	22	4	6,03	20
Moyenne ±écart-type	4,75 ±0,12	6,72 ±0,024	18,62±1,69	4,25±0,12	6,32 ±0,14	20,5 ±0,25

I.2. Test de l'alcool

Le test d'alcool est utilisé pour une évaluation rapide de la stabilité du lait durant les procédés industriels, notamment la condensation et la stérilisation du lait (**Ramakant, 2006**). Un test positif est noté par une coagulation. L'étude des 8 échantillons, montre bien que les quatre échantillons provenant de la laiterie SARL n'ont montré aucune coagulation, ce qui indique que c'est un lait normal, alors que trois échantillons de la laiterie Sidi Saïd ont donné un test d'alcool positif, ce qui permet la question sur son utilisation ultérieure (**Tableau n°06, Figure n°04**).

Tableau n°06: étude physico-chimique de lait cru de vache : test de l'alcool 75%.

Laiterie	Echantillons	Présence (+) ou absence (-) de la coagulation
SARL	E1	-
	E2	-
	E3	-
	E4	-
Sidi Saïd	E1	-
	E2	+
	E3	+
	E4	+

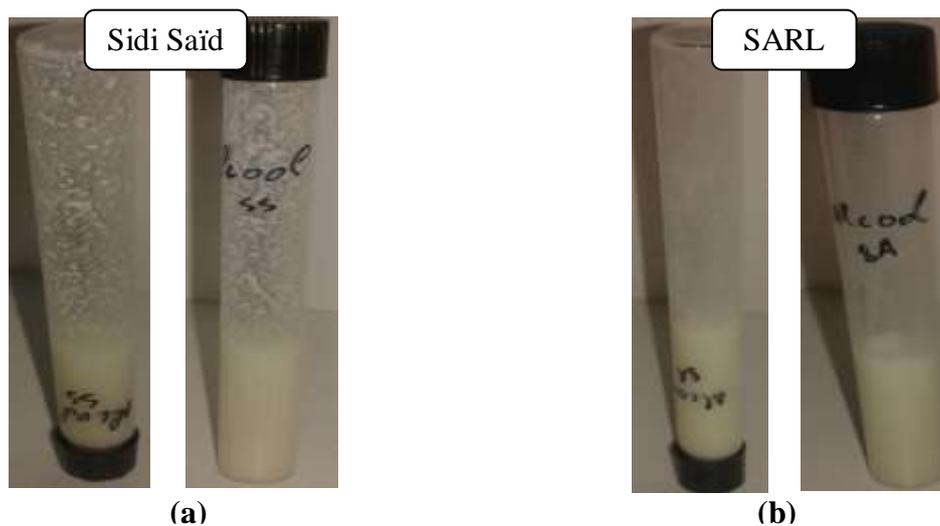


Figure n° 04: Test de l'alcool 75%.(a) présence de la coagulation, (b) absence de la coagulation.

I.3. Test le C.O.B (*Clot on boiling*)

Le C.O.B est un test rapide pour la détermination de la qualité du lait et voir si il est approprié à la pasteurisation et à l'ébullition. L'observation de nos huit échantillons a montré un test de C.O.B négatif pour tous les quatre échantillons provenant de la laiterie de SARL, mais un test positif de deux échantillons prélevé de la laiterie Sidi Saïd, ce qui indique généralement que ce lait a développé une acidité supérieure à 0.17%, et ne doit pas être utilisé (Ramakant, 2006) (Tableau n°07, figure n°05).

Tableau n°07: étude physico-chimique du lait cru de vache: test de C.O.B.

Laiterie	Echantillons	Présence (+) ou absence (-) de la coagulation
SARL	E1	-
	E2	-
	E3	-
	E4	-
Sidi Saïd	E1	-
	E2	+
	E3	-
	E4	+



Figure n°05:Test de C.O.B. (a) absence de la coagulation, (b) présence de la coagulation.

II. Les résultats des analyses microbiologiques du lait cru de vache

II.1. Test de la réductase

Le temps de réduction du bleu de méthylène donne une indication sur le nombre et l'activité des bactéries dans le lait. Un lait de bonne qualité hygiénique, peut rester coloré pendant 3 à 4h, alors qu'un lait de mauvaise qualité se décolore en 30 min (Guiraud, 2003 ; Ramakant, 2006). En utilisant ces normes, on peut dire que le lait provenant de la laiterie SARL, est un lait de bonne qualité hygiénique, tous les échantillons sont restés colorés pendant 3h, par contre la laiterie Sidi Saïd, a présenté des échantillons à caractère contaminé, notamment E3 et E4, dont la coloration du bleu de méthylène n'a pas persisté plus que 30 min (Tableau n°08, figure n°06).

Tableau n°08: Etude physico-chimique du lait cru de vache : test de réductase.

Laiterie	Echantillons	Temps	Observation
SARL	E1	3 h	Pas décoloration
	E2		
	E3		
	E4		
Sidi Saïd	E1	3 h	Pas décoloration
	E2	2 h	Décoloration
	E3	30min	Décoloration
	E4	30 min	Décoloration

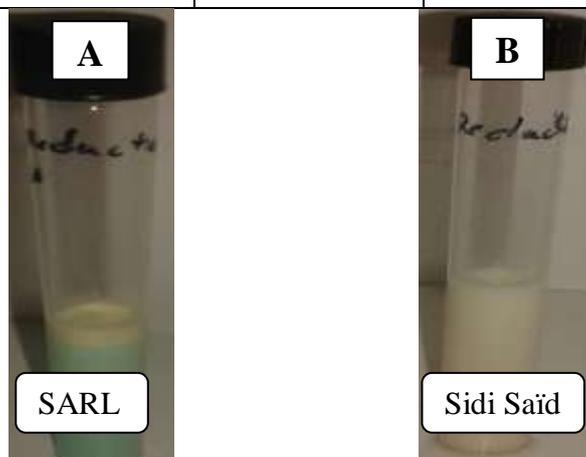


Figure n° 06: Résultats du test de réductase (A : pas décoloration, B : décoloration).

Les analyses microbiologiques du lait cru de vache reposent sur le prélèvement de quatre échantillons de chaque laiterie (SARL et Sidi Saïd). Les résultats de cette analyse sont comparés avec les normes citées dans le Journal Officiel de la République Algérienne n°39 du 02 juillet 2017 (JORA, 2017). Ces résultats donnent le dénombrement des flores qui existent dans le lait cru (Tableau n°09).

Tableau n°09: Critères bactériologiques du lait cru (JORA, 2017).

	Micro-organismes	Normes UFC/ml	
		Normes satisfaisant < m*	Normes acceptable < M*
Lait cru	Germes aérobies à 30°C	3.10^5	3.10^6
	Coliformes thermo tolérants	5.10^2	5.10^3
	<i>Staphylocoques aureus</i>	10^2	10^3
	<i>Salmonella</i>	Absence	

* Le symbole **m** représente la limite permettant de répartir les échantillons en 2 groupes: les satisfaisants (valeur < m) et les insatisfaisants (valeur > m).

* Le symbole **M** le seuil limite d'acceptabilité.

II.2. La flore aérobie mésophile totale

On observe différents types de colonies de la flore aérobie mésophile totale (FAMT) sur milieu PCA. Ces colonies sont de petite et de grande taille avec différentes couleurs : blanche ou jaune de forme circulaire en masse et lisse (Figure n°07).

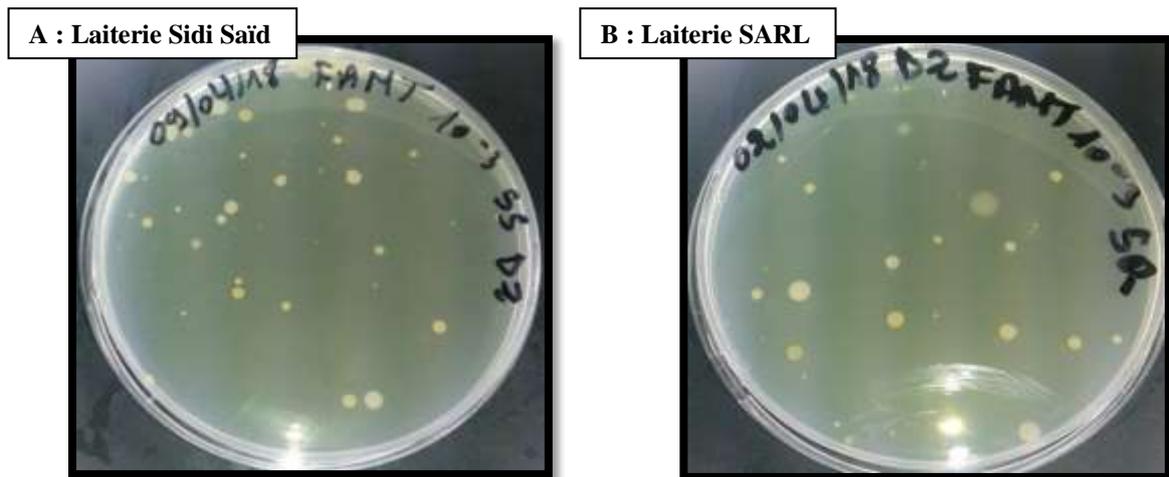


Figure n°07: Aspect des colonies des FAMT sur milieu PCA.

Le tableau n°10, représente les résultats du dénombrement de la flore mésophile totale dans les différents échantillons. Le lait cru de vache examiné collecté à partir de la laiterie SARL contient une charge variable de la FAMT, entre les échantillons prélevés, située entre $0,355 \times 10^3$ et 4×10^3 UFC/ml, avec une moyenne de $1,68 \times 10^3$ UFC/ml. En revanche, les échantillons collectés à partir de la laiterie Sidi Saïd contiennent une charge variable de la FAMT entre $0,465 \times 10^3$ et $11,047 \times 10^3$ UFC/ml, avec une moyenne de $6,124 \times 10^3$ UFC/ml. Ces résultats sont conformes avec les normes du Journal Officiel, qui exige une valeur qui n'excède pas 3×10^5 UFC/ml (**Tableau n°09**). De ce fait, nous pouvons conclure que les huit échantillons des deux laiteries sont de qualité hygiénique satisfaisante.

Tableau n°10: Dénombrement de la FAMT dans les différents échantillons de lait cru analysés (UFC/ml).

Echantillon	Nombre N (UFC/ml)	
	laiterie SARL	Laiterie Sidi Saïd
E1	4×10^3	$1,78 \times 10^3$
E2	$2,06 \times 10^3$	$0,465 \times 10^3$
E3	$0,3 \times 10^3$	$5,545 \times 10^3$
E4	$0,355 \times 10^3$	$11,047 \times 10^3$
Moyenne	$1,68 \times 10^3$	$6,124 \times 10^3$

II.3. Coliformes totaux et fécaux

Sur la figure n°08, on observe les colonies des coliformes qui apparaissent sur la surface de la gélose Mac conkey en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé.

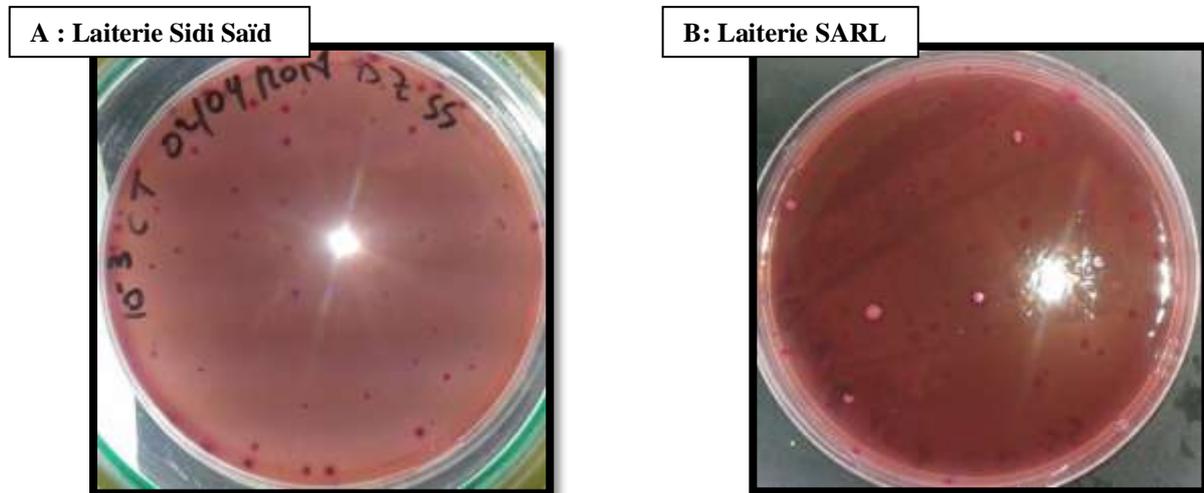


Figure n° 08: Aspect des colonies des coliformes sur milieu Mac conkey.

Selon le tableau n°11, on remarque que la valeur moyenne des coliformes totaux dans le lait cru de vache est égal à $0,71 \times 10^3$ UFC/ml et $4,97 \times 10^3$ UFC/ml pour les deux laiteries SARL et Sidi Saïd respectivement. Ces valeurs ne dépassent pas la norme exigées par le journal officiel Algérien (**tableau n° 09**).

En ce qui concerne les valeurs moyennes des coliformes fécaux trouvés dans le lait cru, on note une valeur normale égale à $0,95 \times 10^3$ UFC/ml pour la laiterie SARL, mais une valeur supérieure aux normes exigées, et qui est de $18,95 \times 10^3$ UFC/ml pour la laiterie Sidi Saïd (**Tableau n°11**).

Tableau n°11 : Dénombrement de la coliformes dans les différents échantillons de lait cru analysés (UFC/ml).

Laiterie	SARL		Sidi Saïd	
	Coliforme totaux ($\times 10^3$)	Coliforme fécaux ($\times 10^3$)	Coliforme totaux ($\times 10^3$)	Coliforme fécaux ($\times 10^3$)
E1	0,04	0,118	4,87	1,89
E2	1,38	1,78	9	Absence
E3	Absence	Absence	1,05	36
E4	Absence	Absence	Absence	Absence
Moyenne	0,71	0,95	4,97	18,95

II.4. *Staphylococcus aureus*

Les colonies de *Staphylococcus aureus* sur le Baird Parker sont des colonies noires entourées d'un halo transparent (**Figure n°09**).

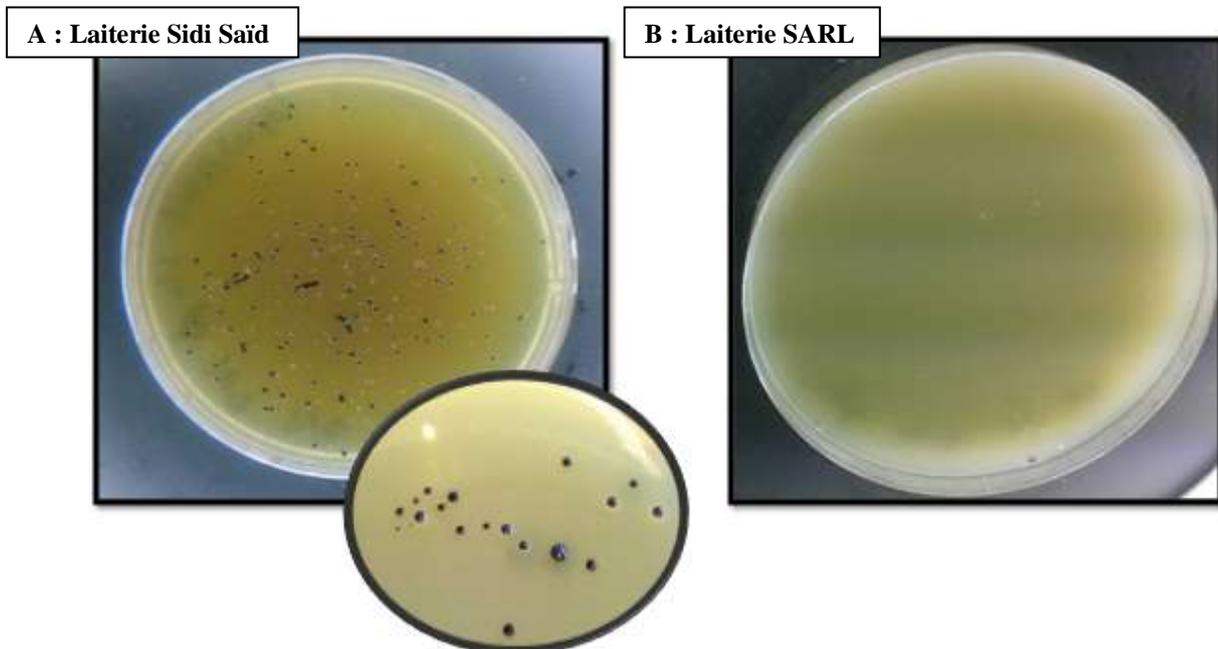


Figure n° 09: Aspect des colonies *Staphylococcus aureus* sur milieu Baird Parker.

L'observation des deux échantillons, nous permet de révéler la présence de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru de vache de la laiterie Sidi Saïd avec une charge moyenne égal à $5,17 \times 10^3$ UFC/ml, ce résultat n'est pas conforme à la norme algérienne.

Par contre les échantillons du lait cru de vache provenant de la laiterie SARL, ont montré une absence totale de *Staphylococcus aureus* (**Figure n°10**).

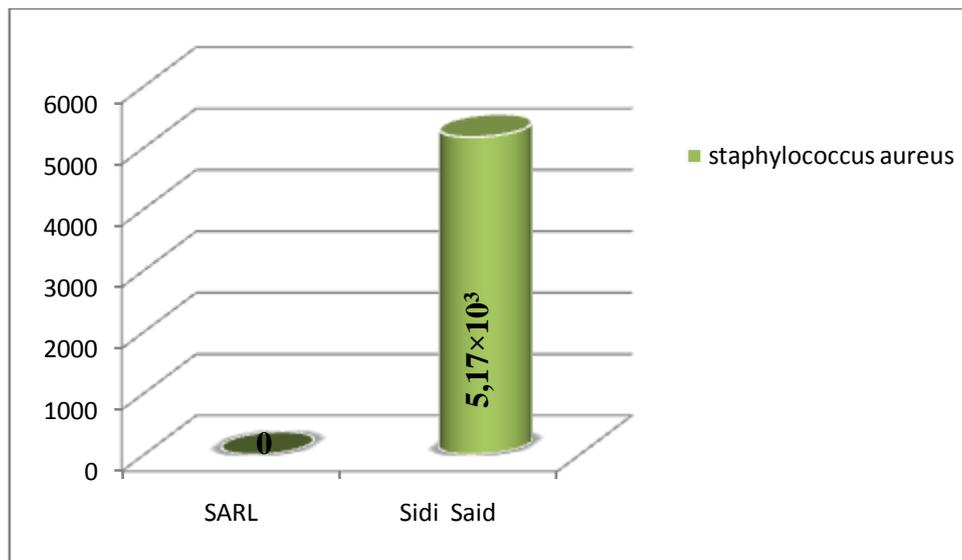


Figure n°10: Dénombrement de *staphylococcus aureus* (UFC/ml).

Les colonies de *Staphylococcus aureus* repérées dans le lait provenant de la laiterie Sidi Saïd examinées par coloration de Gram et le test de catalase, ont montré que ce sont des cocci à coloration de Gram positive et à catalase positive (**Figure n°11 ,12 et 13**).

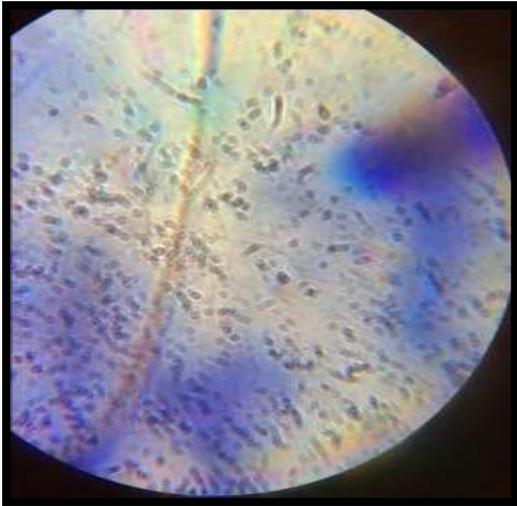


Figure n°11: Observation microscopique des *Staphylocoques aureus* à coloration de Gram positive.



Figure n° 12: Résultat du test de catalase positive.

II.5. Salmonelles

Pour les *Salmonella* on remarque l'absence totale de ce germe dans le lait cru analysé pour les deux laiteries (**Figure n°13**). Ces résultats concordent bien avec les normes du Journal Officiel (**Tableau n°09**).

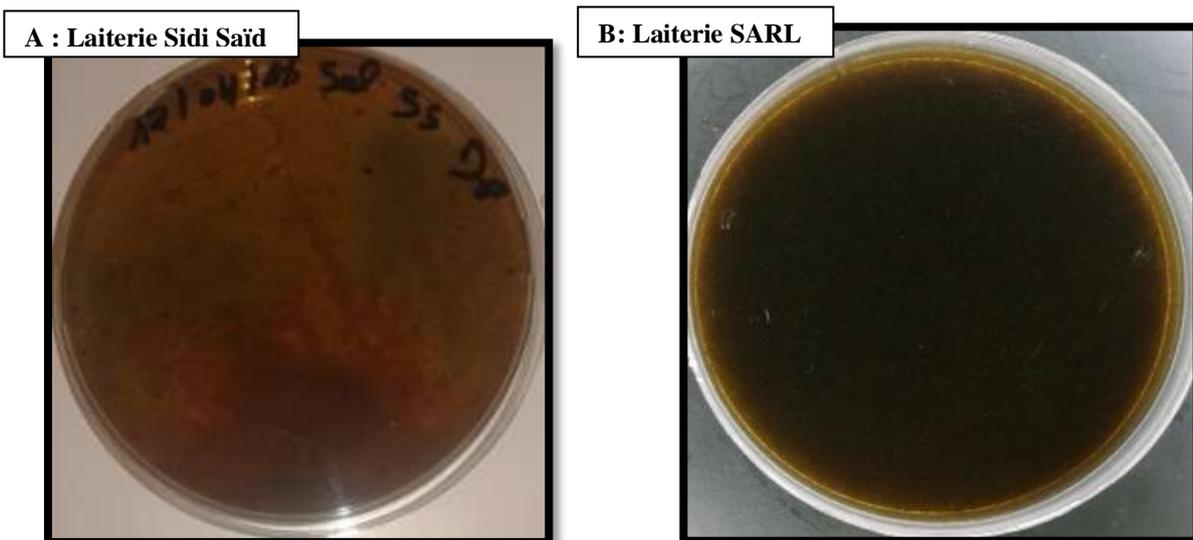


Figure n° 13 : Absence des colonies des *Salmonella* sur milieu Hektoen.

Discussion

Le lait est une source importante de protéines animales, de vitamines, de sels minéraux, et d'acides gras essentiels pour la croissance des enfants et des jeunes adultes (**Eskin et Goff, 2013**). La principale origine du lait est la vache laitière, bien que dans certains pays, il peut être obtenu à partir d'autres espèces de mammifères (**Eskin et Goff, 2013**).

Les qualités physico-chimiques et microbiologiques du lait cru sont très importantes, elles indiquent la potentialité de son utilisation ultérieure, soit pour la consommation directe après pasteurisation soit pour son utilisation comme matière première dans les laiteries pour la fabrication des produits laitiers (**Bachtarzi et al., 2015**).

Cette qualité du lait cru peut varier largement en fonctions de plusieurs facteurs, citons l'espèce, les conditions d'élevage, la nature de la traite qui peut être manuelle ou automatisée, les mauvaises pratiques hygiéniques des trayeurs (eau de traite de mauvaise qualité, ustensiles de traite mal lavés, mains sales des trayeurs, particules de bouses passant dans le lait lors de la traite, mamelles sales non nettoyées, sans oublier le temps et la température du stockage et du transport du lait (**Aggad et al., 2009 ; Kouamé-sina et al., 2010**).

De ce fait un contrôle rigoureux du lait cru s'avère primordial et doit se faire d'une façon périodique et continue. Ceci a été l'objectif de notre travail, qui a porté sur l'analyse physico-chimique et microbiologique des échantillons de lait cru provenant de deux laiteries de la région d'Ain Témouchent.

Concernant les analyses physico-chimiques nous avons effectué une mesure de la température, du pH, de l'acidité dornic, et aussi les tests d'alcool et d'ébullition (C.O.B).

Les valeurs de températures des échantillons analysés dans les deux laiteries (SARL et Sidi Saïd) sont comprises entre 4 et 6°C, ce qui est conforme avec les normes exigées (**Mottar, 1984**). Le lait est souvent stocké pendant 48 heures ou plus entre 4 et 6 °C, mais malgré cela, les micro-organismes se développent, dont certains sont responsables de la formation d'enzymes résistantes à la chaleur (**Mottar, 1984**).

Le pH et l'acidité sont deux paramètres clés pour détecter la fraîcheur des laits (**Guiraud, 2003**). Les valeurs moyennes du pH de nos échantillons sont trouvées dans les normes exigées qui sont entre 6.7 et 6.8 (**Vignola, 2002**). Par contre l'acidité titrable est trouvée supérieure aux valeurs normales qui sont comprises entre 14 et 17°D (**Guiraud, 2003**).

Les variabilités dans les valeurs du pH et de l'acidité sont liées au climat, au stade de lactation, à la disponibilité alimentaire, à l'apport hydrique, à l'état de santé des vaches et aux conditions de la traite (**Labioui et al., 2009**). De plus **Alais et ses collaborateurs** ont montré que le pH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions (**Alais et al., 1984**).

Le test d'ébullition, permet de déterminer la stabilité du lait pour le traitement thermique (pasteurisation et ébullition) (**Ramakant, 2006**). Six échantillons sur les huit analysés dans cette étude, sont stables, le liquide reste homogène et ne présente aucune coagulation apparente. Par contre les deux autres échantillons notamment ceux de la laiterie Sidi Saïd représentent un résultat positive de ce test. Cette anomalie est en rapport avec une forte acidité (> 0.17%) et un début d'altération du lait (**Ramakant, 2006**). Ces échantillons positifs doivent faire l'objet d'un rejet au niveau de l'unité de pasteurisation.

Le test d'alcool est utilisé pour une évaluation rapide de la stabilité du lait durant les procédés industriels, notamment la condensation et la stérilisation (**Ramakant, 2006**). Pour ce test trois échantillons de la laiterie Sidi Saïd ont donné un test positif, alors que tous les autres échantillons de la laiterie SARL sont négatifs.

Le lait, par sa composition, est un aliment très riche : il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau (**Mansour, 2015**). Donc, il constitue un milieu favorable au développement des micro-organismes, ce qui influe directement sur sa qualité physico-chimique et microbiologique qui est en lien direct avec l'innocuité du lait (**Tir et al., 2015**).

Pour évaluer la qualité microbiologique du lait, nous avons utilisé le test de la réductase. C'est un test simple qui donne une idée de la quantité de germes présents dans le lait, de leur activité et de leur vitesse de multiplication (**Guiraud, 2003**).

Il permet d'identifier des différences de niveau de contamination du lait et de mettre en évidence des problèmes éventuels d'hygiène notamment du matériel et de la traite (**Kouamé-sina et al., 2010**). Le test de la réductase indique que le lait provenant de la laiterie SARL, est un lait de bonne qualité hygiénique, alors que celui provenant de la laiterie Sidi Saïd présente des échantillons à caractère contaminé.

Le nombre de bactéries mésophiles aérobies est un bon indicateur d'hygiène générale, permettant d'apprécier la pollution microbienne et la qualité générale du produit (**Abdoul-latif Fatouma et al., 2017**). Les échantillons prélevés présentent une charge moyenne de la flore totale égale à $1,68 \times 10^3$ UFC/ml et à $6,124 \times 10^3$ UFC/ml, pour les deux laiteries SARL et Sidi Saïd respectivement. Ces résultats ne dépassent pas la norme fixée dans le journal officiel algérien en 2017 (**JORA, 2017**). Par contre la charge de la FAMT calculée dans une étude réalisée dans l'ouest algérien est de 83×10^4 UFC/ml (**Aggad et al., 2009**) et calculée dans la wilaya de Tissemsilt est de valeurs entre $1,1 \times 10^5$ à $5,6 \times 10^6$ UFC/ml (**Tir et al. 2015**), ces deux valeurs sont largement supérieures à nos résultats. Ce taux élevé traduit une négligence de l'hygiène des étables et des vaches, mais aussi un mauvais refroidissement dans les tanks, ce qui permet une prolifération des microorganismes (**Tir et al., 2015**). Il est apparent ainsi que le lait des deux laiteries est de bonne qualité hygiénique.

La charge moyenne de coliformes totaux est égale à $0,71 \times 10^3$ UFC/ml et à $4,97 \times 10^3$ UFC/ml pour les deux laiteries SARL et Sidi Saïd respectivement. Ces résultats ne dépassent pas la norme fixée dans le journal officiel algérien en 2017 (**JORA, 2017**). Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Afif et al.** en 2008, qui sont de $3, 2 \times 10^5$ UFC/ml (**Afif et al., 2008**).

Par contre les coliformes fécaux dans la laiterie Sidi Saïd, présentent une charge moyenne égale à $18,95 \times 10^3$ UFC/ml et qui dépasse les normes algériennes. Le même résultat a été aperçu dans l'étude de **Tir et al.** en 2015, qui a été réalisée sur des échantillons de lait cru de vache dans la wilaya de Tissemsilt en Algérie. Pour la laiterie SARL, la charge des coliformes fécaux est de $0,95 \times 10^3$ UFC/ml, qui est une valeur normale comparable à celle trouvée dans l'étude d'**Aggad et al.** en 2009.

La forte charge des coliformes observée serait due aux mauvaises conditions de transport ainsi qu'à une forte contamination du lait à cause de la mauvaise application de l'hygiène pendant la traite (**Afif et al., 2008**).

L'abondance des coliformes fécaux dans le lait cru reflète une non-observance des dispositions sanitaires requises au cours de la traite et de la récolte du lait, une contamination au cours du transport ou d'un stockage défectueux (**Aggad et al., 2009**). Elle indique forcément une contamination par les fèces des vaches ou par les mains du trayeur (**Farougou et al., 2011**).

La norme recommandée concernant les *Staphylococcus aureus* est un taux de germes inférieur à 10^2 UFC/ml dans le lait cru (**JORA, 2017**). Les résultats obtenus montrent une absence totale de *S.aureus* dans le lait cru de vaches provenant de la laiterie SARL, par contre dans les échantillons de la laiterie Sidi Saïd on a trouvé une charge moyenne en *S.aureus* égale à $5,17 \times 10^3$ UFC/ml, ce qui supérieur à la norme (**JORA, 2017**). Un taux de *S.aureus* de 35.10^2 UFC/ml a été aussi trouvé dans l'étude réalisée dans l'ouest algérien d'**Aggad et al. (2009)**.

S. aureus est largement reconnu comme un agent causal majeur de la mammite clinique et subclinique chez les bovins laitiers. Par conséquent, l'apparition de bactéries dans le lait cru n'est pas rare si des mesures préventives appropriées ne sont pas appliquées. (**Chye, 2004**).

En 2010, une étude (**Kouamé-sina et ses collaborateurs**) a démontré que *S. aureus* est une source de contamination liée aux mamelles, elle était apportée secondairement dans le lait par l'eau de traite et les mains des trayeurs (**Kouamé-sina et al., 2010**). D'autre part l'absence de ce germe peut être justifiée par la bonne santé des vaches, et notamment l'absence des infections des mamelles (**Tir et al., 2015**).

Les résultats de l'analyse microbiologique de la recherche de *Salmonella* ont montré une absence totale de ce germe dans le lait cru pour les deux laiteries, ce ci est conforme à la norme algérienne (**JORA, 2017**).

L'absence de *Salmonella* est justifiée par la bonne santé des vaches, et notamment l'absence des infections des mamelles (**Tir et al., 2015**). En général l'isolement des salmonelles est difficile dans le lait cru (**Afif et al., 2008**).

Conclusion

Ce modeste travail a porté sur l'évaluation de la qualité physicochimique et microbiologique des échantillons de deux laiteries de la région d'Ain Témouchent.

Le principe de contrôle de la qualité du lait des espèces animales est très simple, il suffit de comparer les résultats obtenus avec les normes et les règles citées dans la réglementation. Cette comparaison a pour but de juger de l'acceptation ou le refus d'un lait.

Les résultats obtenus lors des analyses physico-chimiques effectuées sur nos échantillons montrent des valeurs normales dans tous les tests effectués dans la laiterie SARL, par contre la laiterie Sidi Saïd a montré des tests d'alcool et d'ébullition positifs dans plus que la moitié des échantillons testés.

Concernant les analyses microbiologiques, nous avons réalisé la recherche et le dénombrement de cinq germes ; la flore aérobie mésophile totale, les coliformes totaux et fécaux, *staphylococcus aureus*, et *salmonella*.

La qualité microbiologique lors de l'analyse de lait cru de vache est généralement acceptable pour la laiterie SARL, par contre la laiterie Sidi Saïd, a montré une charge des coliformes fécaux supérieure aux normes avec la présence remarquable de *staphylococcus aureus*.

En fin, nous pouvons dire que les résultats obtenus des analyses physico-chimiques et microbiologiques sont encourageants pour la laiterie SARL, mais douteux pour la laiterie Sidi Saïd, pour laquelle nous lui recommandons de revoir l'origine du lait, et les conditions dans lesquelles il est collecté et ramené jusqu'au laiterie.

En conclusion il est devenu indispensable, à tous les acteurs de l'industrie laitière d'effectuer des analyses physico-chimiques et microbiologiques d'une façon périodique et appliquer le système de prévention, de surveillance et d'identification des risques, à fin d'assurer une production sans danger pour le consommateur.

Références bibliographique

Abdoul-latif Fatouma, M., Somda, M.K., Fourreh,A. E., Okieh,A.A., Said,C.N., Mérito A. et Yagi, S.(2017). Evaluation of microbiological quality of raw milk from farmers and dairy producers in six districts of Djibouti. *J Food Microbiol Saf Hyg* 2 (124), 2-7. doi:10.4172/2476-2059.1000124

Afif A, Faid M. et Najimi M. (2008). Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Institute agronomique et vétérinaires Hassan II, Rabat, Maroc.*, 7(1), 2-7.

Agabriel, C., Coulon, J.C., Geneviève, M., Bonaïti,B., Boniface,P. (1993). Effets respectifs de la génétique et du milieu sur la production et la composition du lait de vache. Etude en exploitations (1). *INRA Productions animales.* ,6 (3), 213-233.

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

Alais C., 1984. *Science du lait : principes et techniques laitier.* 4^{ème} édition.- Paris : Edition SEPAIC.

Bachtarzi, N., Amourache,L. et Dehkal,G.(2015). Qualité du lait cru destiner à la fabrication d'un fromage à pâte molle type Camembert dans une laiterie de Constantine (Est algérien). *International Journal of Innovation and Scientific Research.*, 17(1) ,34-42.

Benhila ,C. et Melahi, S.(2015).*Etude de la propreté microbiologique du lait de vache cru au niveau des fermes de la Wilaya de « Ain defla ».*Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.

Blanc, B. (1982). Les protéines du lait activité enzymatique et hormonale. *Le lait, International dairy journal.* , 62(617) ,350-395.O

Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, 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. Épiz.*, 16(2), 452-471.

Chye, F., Abdullah, A. et Ayob, M. (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiology.*, 21, 535–541.

CIPCLait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011). Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.

Coulon, J.B., Chilliard, Y. et Remond, B. (1991). Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. *INRA Prod. Anim.*, 4 (3), 219-228.

Couvreur, S. et Hurtaud, C. (2007). Le globule gras du lait: sécrétion, composition, fonctions et facteurs de variation. *INRA Prod. Anim.*, 20, 365-382.

Deforges, J., Derens, E., Rosset, R. et Serrand M. (1999). *Maitrise de la chaîne du froid des produits laitiers réfrigérés*. Edition Cemagref. Tec et Doc, Paris.

Eskin, N. M. et Goff, H. D. (2013). Milk. In *Biochemistry of Foods (Third Edition)*. 187-214

FAO. (1995). Food and agriculture organization, Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO alimentation et nutrition n°28.

Farougou, S., Kpodékon, T. M., Sessou P., Youssao, I., Boko C., Yèhouenou ,B. et Sohounhloué, D. (2011). Qualité microbiologique du lait cru de vache élevée en milieu extensif au Bénin.

Fox, P. F., McSweeney, P. L. et Paul, L. (1998). Dairy chemistry and biochemistry.

Ghazi, K. et Niar, A. (2011). Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura.*, 29(4), 193-196.

Guigma, w. (2013) *Appréciation de la qualité physico-chimique du lait frais en rapport avec les pratiques d'élevage dans les élevages autour de la ville de Kaolack au Sénégal*. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Guiraud, J.P. (2003). *Microbiologie Alimentaire*. Edition DUNOD. Paris.

Hamiroune,M., Benyahia,M., Chatouh,O., Bensefia,S.,Saidani,K., Foughalia,A.et Berber ,A.(2017).Mammites staphylococciques des vaches laitières: prévalence dans la région d'Alger et risques sur la santé publique.*Livestock Research for Rural Development* ,1-9.

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.*, 10,223-226.

Hoden, A. et Coulon, J.B. (1991). Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. *INRA Prod. Anim.*, 4 (5), 361-367.

Institut de l'élevage, (2009). *Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien.* 1^{ère}Edition France Agricole. Produire mieux.

JORA N °69, 1993, arrêt interministériel du 27 octobre 1993 (JORA) relatif aux spécifications et la présentation de certains laits de consommation.

JORA N °39, 2017, arrêt interministériel du 02Juillet 2017 (JORA) les critères microbiologiques relatif aux denrées alimentaires énumérées.

Kacimi El Hassani, S. (2013). La dépendance alimentaire en Algérie: importation de lait en poudre versus production locale, quelle évolution?. *Mediterranean Journal Of Social Sciences.*, 4(11), 152-158.

Kouamé-sina, S.M., Bassa, A., Dadié, A., Makita, K., Grace, D., Dje, M. et Bonfoh, B. (2010). Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire).*Revue Africaine de Santé et de Productions Animales. E.I.S.M.V, Dakar.*, 8(S), 35-42.

Kuzdzal-Savoie, S.et Moal, J. (1975). Les lipides complexes du lait Aspects biologiques. Aspects technologiques (MISE AU POINT). *Le Lait, INRA Editions.*, 55 (541-542), 1-23.

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

Léonil, J., Michalski, M. C. et Martin, P. (2013). Les structures supramoléculaires du lait: structure et impact nutritionnel de la micelle de caséine et du globule gras. *INRA Prod. Anim.*, 26(2), 129-144.

Mansour, L.M. (2015). *Etude de l'influence des pratiques d'élevage sur la qualité du lait : effet de l'alimentation.* Thèse doctorat en Sciences, Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Miranda, G. et Gripon, J.C. (1986). Origine, nature et incidences technologiques de la protéolyse dans le lait. *Le Lait, INRA Editions.*, 66 (1), 1-18.

Mottar, J. (1984). Influence de la durée de conservation sous réfrigération du lait cru sur la conservabilité du lait U.H.T. *Le Lait.*, 64(635-636-637), 29-45.

Murphy, S.C. et Boor, K.J., (2010). Sources and causes of high bacteria count in raw milk. *An Abbreviated Review.* [<http://www.extension.org/pages/11811/sources-and-causes-of-high-bacteria-counts-in-raw-milk:-an-abbreviated-review>].

Pougheon, S. (2001). *Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière.* Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

Ramakant, S. (2006). *Chemical & Microbiological Analysis of Milk & Milk Products.* International Book Distributing Company, Pub. Division.

Ramet J.P. (1985). La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection FAO Alimentation et nutrition n°48.

Robinson, R. K. (Ed.). (2005). *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products.* John Wiley and Sons.

Romain, J., Thomas, C., Michel, M. Pierre, S. et Gérard, B. (2008). *Les produits laitiers* 2^{ème} Ed; Tech et DocLavoisier.

Tankeshwar, A. (2013). Catalase test: principle, uses, procedure and results. Biochemical Tests for Gram Negative Bacteria. <http://www.microbeonline.com>.

Tankeshwar, A. (2013). Coagulase Test: Principle, procedure and interpretation. Bacteriology. <http://www.microbeonline.com>.

Tir, E., Bounoua, S., Heddar, M.et Bouklila, N. (2015). Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de laits crus de vache dans deux fermes de la wilaya de Tissemsilt (Algérie). *El Wahat pour les Recherches et les Etudes.*, 8(2), 26 – 33.

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

Van immerseel, F., De buck J., Boyen, F., Pasmans, F., Bertrand, S., Collard, J.M.....Ducatelle, R. (2005). Salmonella dans la viande de volaille et dans les œufs : un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. *Ann. Md. Vt.*, 149, 34-48.

Annexe 01 : Milieux de culture pour les analyses microbiologiques.**1. Gélose Mac- Conkey :**

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de caséine	15
Extrait de viande	3
Lactose	10
Chlorure de sodium	5
Sels biliaires	5
Rouge neutre	0,07
Agar	20
Cristal violet	0,001
Dissoudre 58 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C.	

2. Gélose PCA (plate count agar) :

Constituants	Quantité en g/l
Digestion enzymatique de caséine	5
Extrait de levure	2,5
Glucose	1
Agar bactériologie	15
Dissoudre 23,5g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C.	

3. Baird Parker :

Constituants	Quantité en g/l
Glycine	12g
Digestion pancréatique de caséine	10g
Pyruvate de sodium	10g
Bœuf Extrait	5g
Chlorure de Lithium	5g
Extrait de levure	1g
Agar	20g
Dissoudre 63 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C.	

4. Hektoen :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de viande	12
Extrait de levure	3
Lactose	12
Saccharose	12
Sels biliaires	9
Salicine	2
Sodium chlorure	5

Sodium thiosulfate	5
Citrate ferrique ammoniacal	1,5
Bleu de bromothymol	0,064
Fuschine Acide	0,1
Agar	14
Dissoudre 76 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C.	

5. Bouillon sélénite cystéine :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	5
Phosphate de sodium	10
Lactose	4
Dissoudre dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C.	

6. Eau peptonnée tamponnée :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	10
Sodium chlorure	5
Phosphate disodique	9
Phosphate monopotassique	1,5
Dissoudre dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C.	

7. Eau physiologique :

Constituants	Quantité en g/l
Chlorure de sodium	9
Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C.	

Annexe 02 : Préparation des solutions pour les analyses physico-chimiques.

Préparation de bleu méthylène

Bleu de méthylène.....0,05g
L'eau distillée100ml

Préparation de la phénophtaléine

Phénophtaléine1g
Alcool 95%120ml
L'eau distillée80ml

NaOH(0,1N).....quantité de titrage

Préparation de la solution NaOH (0,1N)

NaOH.....1g

L'eau distillée250ml

Annexe 03 : Protocole de coloration de Gram

1. On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne. Avec l'aide d'une anse que l'on aura préalablement stérilisé (en le passant sous le bec benzène).
2. On dépose ensuite ce prélèvement au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage.
3. **La coloration au violet de Gentiane** : la lame est plongée pendant 2 à 3 minutes dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau déminéralisée.
4. **Mordantage au lugol** : étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.
5. **Décoloration à l'alcool**: verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée.
6. **Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine**: laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher pendant ,10 à 15 minutes.

Annexe 04 : les principales étapes des analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait cru de vache.



Figure n°14 : Mesure du pH.



Figure n°15 : Détermination de l'acidité Dornic.



Figure n°16 : Préparation des dilutions décimales.

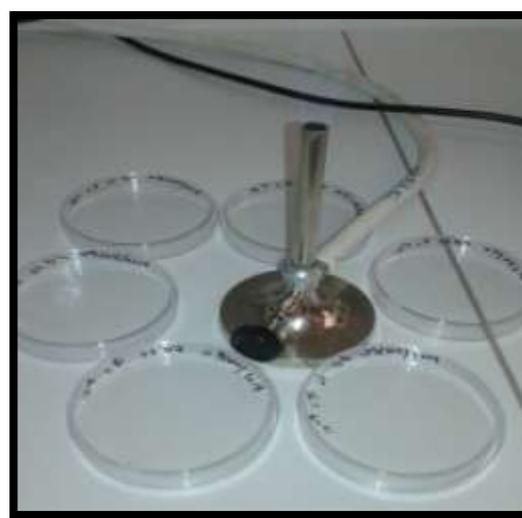


Figure n°17 : Préparation des boîtes de pétri.



Figure n°18: Recherche les germes aérobies mésophiles totaux.

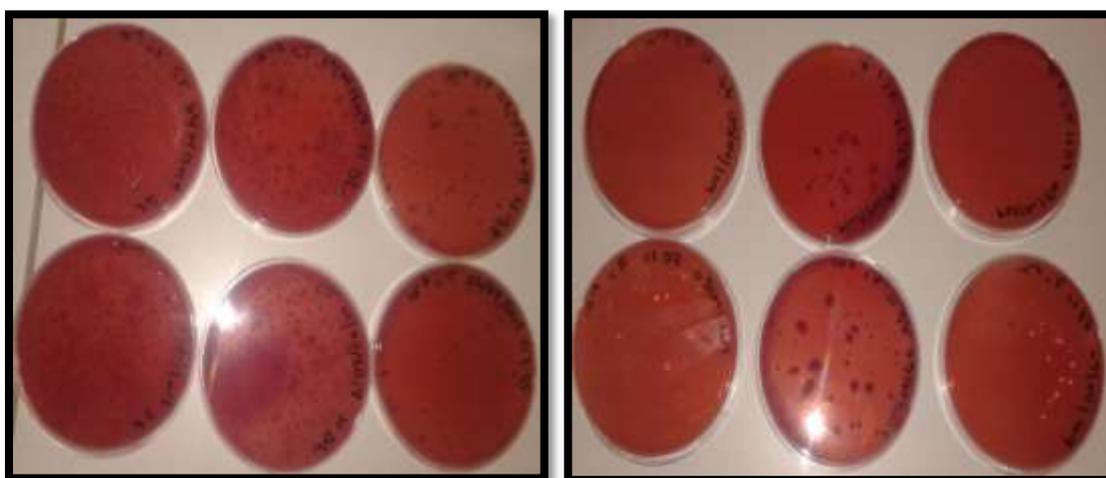


Figure n°19 : Recherche des coliformes totaux et des coliformes fécaux.

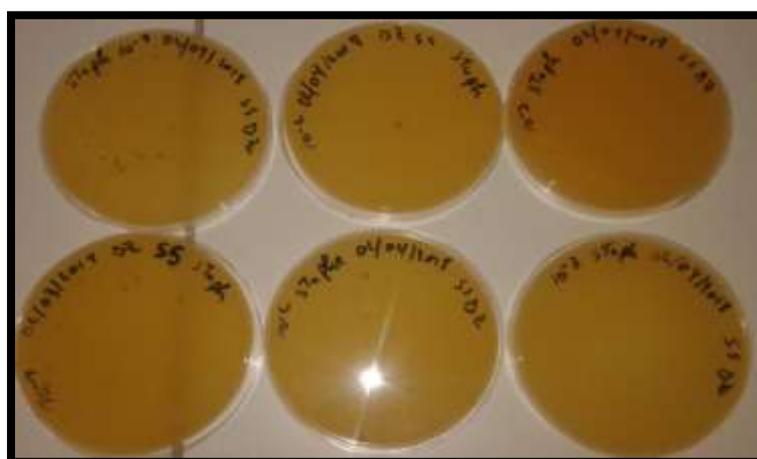


Figure n°20 : Recherche de *Staphylococcus aureus*.



Figure n°21 : Pré-enrichissement *Salmonella*.

Figure n°22 : Enrichissement *Salmonella*.

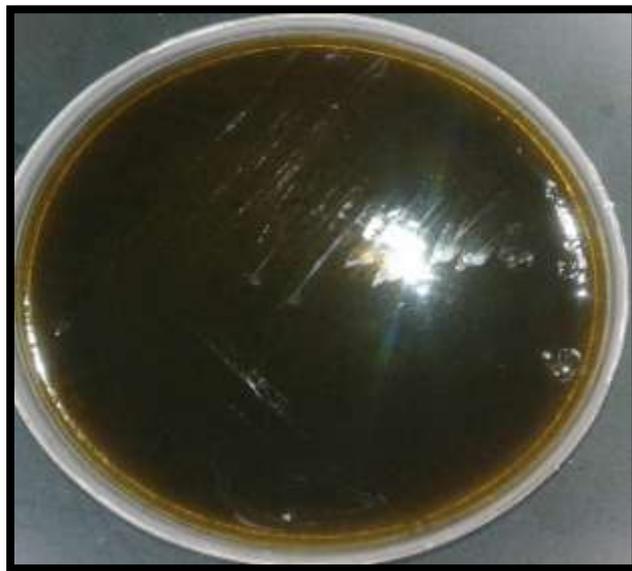


Figure n°23: Isolement et recherche de *Salmonella*.

Annexe 05 : Journal officiel de la République Algérienne N° 39

8 Chaoual 1438 2 juillet 2017		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39				13
ANNEXE I						
Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires						
1- Laits et produits laitiers						
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)		
		n	c	m	M	
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10 ⁵	3.10 ⁶	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³	
	Coliformes thermotolérants	5	2	5.10 ²	5.10 ³	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml		
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁴	10 ⁵	
	Enterobacteriaceae	5	0	10		
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml		
Lait UHT et lait stérilisé	Germes aérobies à 30 °C	5	0	10/0.1ml		
Lait en poudre et lactosérum en poudre	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
Fromages au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ⁴	10 ⁵	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ³	10 ⁴	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Crème au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ³	10 ⁴	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		