الجممورية الجزائرية الحيمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Ibn Khaldoun – Tiaret-Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire envue de l'obtention du diplôme de Master académique

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

Filière: "Sciences Biologiques"

Spécialité: "Sciences des procédés biotechnologiques et agroalimentaires"

Présenté et soutenu publiquement par :

- GUENDOUZ Wahida
- MATI Khaldia

Evaluation de la qualité bactériologique du lait de vache cru vendu dans la commune de Tiaret.

-Président: Melle BOUBAKEURR B. MCB
-Promoteur: Melle BOUSMAHA Fatma MCB

-Co-promoteur: /

-Examinateurs: Mr TADJ A.

Année universitaire: 2016-2017

R emerciement

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

On a l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice Dr BOUSMAHA Fatima pour sa précieuse aide et ses orientations.

Nous tenons à remercier Dr BOUBAKEUR B, qui nous a honorées en acceptant de présider notre jury de soutenance.

On tient également à remercier notre enseignant Mr TADJ A. qui nous a fait plaisir en acceptant d'examiner notre modeste travail.

Nos remerciements les plus sincères et les plus profonds sont adressés également à : Mr le Professeur AGGAD. H, Directeur du laboratoire de recherche ''Hygiène et pathologie animale, Institut des Sciences Vétérinaire (ex ITMA), qui a mis à notre disposition tous les moyens nécessaires pour la réalisation de notre étude.

Un très grand merci, à l'ensemble du personnel du laboratoire, en particulier Mr.ABDELLI.M, et Mr.Radwouane, pour nous avoir apporté toute l'aide possible pour arriver à ces résultats.

Nos tenons à adresser nos remerciements à nos parents pour leur aide, compréhension, soutien moral, encouragements et surtout pour leur patience afin de réaliser ce modeste travail.

Nous n'oublions pas de remercier tous les amis, sans exception, plus proches de nous, ils ont encouragé, chacun à sa manière, durant la réalisation de notre mémoire.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes parents qui ont été toujours à mes cotés pour me soutenir et me donner le courage pour terminer mes études.

A mes frères ; Mohamed et Abdelkader

A ma sœur ; Halima

A ma chère amie intime MELIANI Fatima Zohra.

A tous ma grande famille GUENDOUZ et ZAATAR sans exception; oncles, tantes, cousins et cousines « Chahinez, Assia; Ahlame; Sara; Hayat et Nadjwa ».

A Mme BOUSMAHA Fatima, m'avoir guidé tout au long de la réalisation de ce travail.

A tous mes amis ; Fatima, Naima ZERIF, Fatima DJEMMANE, SOUALMI Salma, et kheira OTHMANI.

A tous mes collègues de travail ; AISSSAWI M..MDJAHED T. ; BEN ABDALLAH A.

A Mr le responsable de la spécialité : Mr LAREJ Houcine A tous la promo du Master II Sciences des Procédés et biotechnologie Agro-alimentaire.

VVahida

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes parents qui ont été toujours à mes cotés pour me soutenir et me donner le courage pour terminer mes études.

A mes frères ; Fethi et Djilali

A mes sœur ; Houaria et Imen

A tous ma grande famille MATI sans exception; oncles, tantes, cousins et cousines.

A Mme BOUSMAHA Fatima, m'avoir guidé tout au long de la réalisation de ce travail.

A Mr le responsable de la spécialité : Mr LAREJ Houcine A tous la promo du Master II Sciences des Procédés Biotechnologie et Agro-alimentaire.

K haldia

S ommaire

List	e d	les	al)ré	Vi	at	io	ns

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Introduction

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1- L'objectif de l'étude04
I.2- Lieu et durée de l'étude04
I.3- Protocole expérimental
I.4- Prélèvement06
I.5- Matériels et méthodes
I.5.1- Matériel et produits utilisés
I.5.2. Méthodes
I.5.2.1. Préparation de la dilution décimale
I.5.2.1.1. Choix du diluant
I.5.2.1.2. Techniques de dilution
I.5.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux (en milieu solide)07
I.5.2.2.1. But
I.5.2.2.2. Mode opératoire
I 5 2 2 2 Inauhatian

I.5.2.2.4. Lecture	08
I.5.2.2. 5. Dénombrement	08
I.5.2.3. Recherche et dénombrement des Staphylococcus aureus	09
I.5.2.3.1. But	09
I.5.2.3.2. Milieux sélectifs utilisés (Baird Parker)	09
I.5.2.3.3. Technique	09
I.5.2.3.4. Lecture	10
I.5.2.3.5. Test de coagulase	10
I.5.2.3.6. Dénombrement	10
I.5.2.4. Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs	10
I.5.2.4.1. But	10
I.5.2.4.2. Principe	11
Chapitre II : Résultats et discussion	
II. Résultats et discussion	12
II.1. Les coliformes	12
II.1.1. Les coliformes totaux	12
II.1.2. Les coliformes fécaux	13
II.2.Staphylococcus aureus	14
II.3.Les anaérobies sulfito-réducteurs	15
II.4. Discussion des résultats selon les points de ventes	16
Conclusion	
Références bibliographiques	

Annexes

Liste des abréviations

BP: Baird Parker

J.O.R.A: Journal Officiel de la République Algérienne.

PE < N.J.O.R.A. : pourcentage des échantillons qui présentent une charge inférieure au normes de

J.O.R.A 1998

PE > N.J.O.R.A.: pourcentage des échantillons qui présentent une charge supérieure au normes de

J.O.R.A 1998

pH: potentiel Hydrogène.

TSE: Tryptone Sel Eau.

UFC: Unité Formant Colonies

UI: Unité Internationale.

VF: Viande Foie.

VRBL : Gélose lactosée au cristal violet au rouge neutre.

Liste des tableaux

Tableau n°01 : La répartition des échantillons selon les points de ventes	06
Tableau n°02: les différents matériels et méthodes utilisés	06
Tableau n°03: Comparaison des résultats des analyses bactériologiques des échantillons	du
lait de vache cru (Clostridium sulfito-réducteurs) avec les normes de J.O.R.A 1989	. 15
Tableau n°05: Les résultats bactériologiques du lait de vache cru vendu dans la commu	ıne
de Tiaret	e II
Tableau n°06: Spécification microbiologique du lait cru	IV

Liste des photos

Photo n° 01 : Coliformes totaux	Annexe III
Photo n° 02 : Coliformes fécaux	Annexe III
Photo n°03: Staphylococcus aureus	Annexe III
Photo n°04 : Résultats du test de coagulase pour les <i>Staph</i>	vlococcus aureus Annexe III

Liste des figures

Figure n°01 : Le protocole expérimental.	05
Figure $n^{\circ}02$: Présentation des échantillons des laits crus contaminés par les	Coliformes
totaux	12
Figure n°03: Présentation des échantillons des laits crus contaminés par les	Coliformes
fécaux	13
Figure n°04: Présentation des échantillons des laits crus contaminés par les Staph	hylococcus
aureus	14

ntroduction

I ntroduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de trois milliards de litres par an (**Kirat** ,2007). La production du lait de vache se heurte souvent au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs.

Le lait de vache est le produit intégral de traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. C'est un fluide complexe contenant de nombreux composants dispersés .Les principaux en concentration sont synthétisés dans la mamelle : le lactose, la caséine ainsi qu'une partie des matières grasses , la plupart des autres proviennent directement du sang .La complexité du lait répond à sa fonction d'aliment exclusif du jeunes mammifère. Certains éléments présents à très faible concentration ont malgré tout un rôle nutritionnel évident comme les vitamines ou bien certaines enzymes impliquées dans des fonctions catalytiques .La composition du lait est soumise à de nombreux facteurs de variation tels que la race , l'individu , le stade et le numéro de lactation , la saison , le climat et l'alimentation (François ;2005).

Les conditions d'hygiène au niveau des fermes et tout le long du circuit de la production jusqu'à l'arrivée du lait à la laiterie, comportent autant de sources de contaminations à maîtriser afin de préserver la qualité hygiénique du lait (Faye et Loiseau, 2000).

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélève dans de bonnes conditions a partir d'un animal sain (moins de 10³ germes/mL). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (**Cuq, 2007**).

Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz, des substances aromatiques, de l'acide lactique, diverses substances protéiques, voire des toxines (institut de l'élevage, 2009).

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes :La flore indigène ou originelle et la flore contaminants. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (**Vignola, 2002**).

la flore de contaminationpeuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes pour l'homme, il peut s'agir par exemple d'agents de mammite, de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en absence d'anomalie

du pis tels que les salmonelles, les brucelles et les bacilles tuberculeux. Elles peuvent être responsables de maladies oud'intoxications graves qui sont généralement limitées par la surveillance vétérinaire desanimaux producteurs (**Bourgeois et al, 1996**).

Les contaminations des laits et produits laitiers sont nombreuses de la production à la transformation, ce sont des contaminations secondaires (Carlier et al, 1984) tel que L'homme qui est un agent de contamination majeur : mains et vêtements sales, personnesmalades (pour les Staphylocoques) ou (affections respiratoires, digestives et cutanées), ou étant un porteur sains ; porteur de Salmonelles : Salmonella typhiqueest éliminée pendant plusieurs années et de façon discontinue et dont un traitement antibiotique n'élimine pas le portage.

Les animaux comme les hommes sont porteurs de germes ; tube digestif, peau et phanères, appareil respiratoire, lésions, etc. Des contaminations d'origine fécale peuvent entrainer la présence de Clostridium, d'entérobactéries coliformes etéventuellement d'entérobactéries pathogènes : Salmonella, Yersinia. Ajoutons que les insectes sont également vecteurs de microorganismes. Leur rôle a été mis en évidence dans le transport de shigelles, salmonelles et autres.

Le sol abrite des germes dit telluriques et des spores de levures, moisissures, *Bacillus*et *Clostridium*. Quant à l'eau (de ruissellement notamment), elle est susceptible de receler toutes lesespèces bactériennes puisqu'elle draine la litière, le foin, etc. Les germes Gram – aérobies comme *Pseudomonas* sont fréquents dans les eaux douces (Carlier *et al*, 1984).

En effet, l'hygiène dans la production, la conservation et la transformation du lait est un aspect critique pour la santé des populations et sur l'aspect financier au niveau des différents acteurs (BenhamedN.,2014).

Le contrôle de la qualité du lait est une nécessité fondamentale. Le non-respect des règles d'hygiène peut hypothéquer gravement la qualité du lait, et peut donner certains nombres d'altérations et de contaminations par des micro-organismes, dont certains sont pathogènes et peuvent être à l'origine de plusieurs maladies et intoxications humaines (**Petranxiene et Lapied, 2002**).

L'objectif des critères microbiologiques est de pouvoir porter un jugement sur la salubrité d'un aliment connaissant sa contamination et le comparant aux normes et critères. Sachant que la répartition des microorganismes dans un lot de produits n'est pas homogène, il convient d'analyser plusieurs échantillons et d'interpréter statistiquement les résultatsobtenus(Carlier et al., 1984).

Le lait cru doit être produit par des animaux sains, il doit être propre et ne pas contenir de résidus ni de germes pathogènes. Un lait de bonne qualité doit être normal d'aspect et d'odeur, les épreuves de filtration, d'ébullition et à l'alcool doivent être négatives. Son acidité titrable

doit être inférieure à 21°D, il doit contenir moins de 100 coliformes par mL et moins de 50 germes sulfito réducteurs par ml. Un lait de très bonne qualité doit contenir moins de 30 000 germes par ml et réduire le bleu de méthylène en plus de 4 heures (**Guiraud**, 1998).

L'objectif principal de cette étude était l'évaluation de la qualité bactériologique du lait cru de vaches vendu dans la commune de Tiaret. Notre recherche a porté sur les germes de contamination suivant : les Coliformes totaux et fécaux, les *Staphylococcus aureus* et les anaérobies sulfito-réducteur.

Partie expérimentale

Chapitre I: Matériels et méthodes

I.1- L'objectif de l'étude

Notre étude à été réalisé sur le lait de vache cru vendu dans des point de vente pour évaluer leur qualité bactériologique.

I.2- Lieu et durée de l'étude

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau de laboratoire de recherche « hygiène et pathologie animale » de l'institut des Sciences Vétérinaires Université Ibn Khaldoun Tiaret.

Notre étude s'est déroulée durant la période du 19 Mars au 04 Avril 2017.

I.3- Protocole expérimental

Le protocole expérimental réalisé est résumé dans la figure n°01.

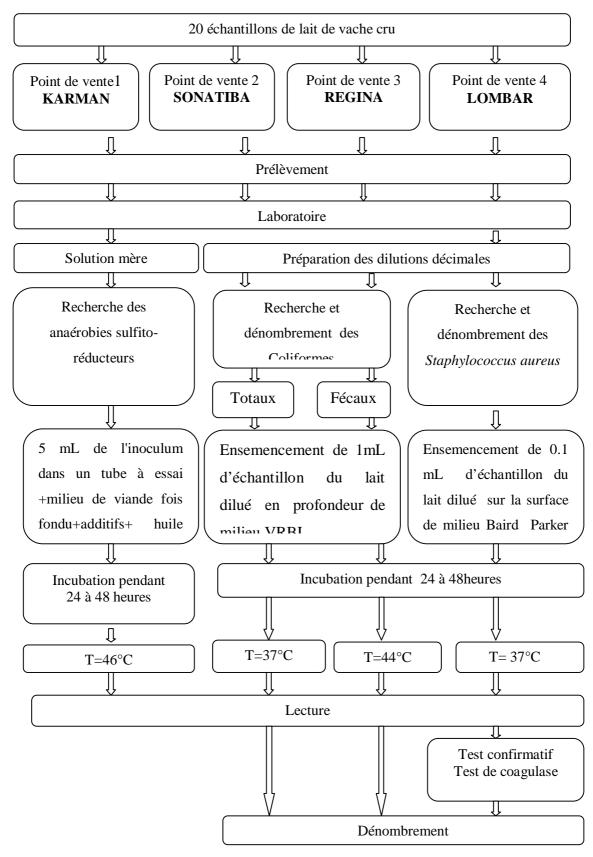


Figure n°01: Le protocole expérimental

I.4- Prélèvement

Les prélèvements sont effectués sur 20 échantillons de lait de vache cru acheter de 04 points de ventes dans la commune de Tiaret (SONATIBA, REGINA, LOMBARE et KARMAN) selon le tableau suivant :

Nom de point de vente	les échantillons
REGINA	E1.E5.E9.E13.E17
SONATIBA	E2.E6.E10.E14.E18
KARMAN	E3.E7.E11.E15.E19
LOMBAR	E4.E8.E12.E16.E20

Tableau n°01 : La répartition des échantillons selon les points de ventes.

I.5- Matériels et méthodes

I.5.1- Matériel et produits utilisés

Matériel	Verreries	Produits utilisés		
-Four à une température comprise	- Tubes à essai.	Milieu VRBL : utilisé pour la		
entre 170°C et 175°C durant au	Eprouvettes	recherche et le dénombrement		
moins 1 heure;	graduées, pour la	des coliformes.		
- Autoclave à une température de	préparation des	- Milieu V.F. : utilisé pour la		
121°C durant 20minutes.	milieux complets.	recherche des anaérobies		
- Incubateur, réglable à 37 ± 1 °C.	- Pipettes	sulfito-réducteurs.		
- Incubateur, réglable à 43 ± 0.5 °C.	graduées en	- Milieu Baird Parker : milieu		
- Bains marie. réglables à 45 ± 1°C	verre de 20 mL,	sélectif utilisé pour la		
et à 37 ± 1 °C.	5 mL, 1 mL, et	recherche et le dénombrement		
- Réfrigérateur (permettant de	0,1 mL.	de Staphylococcus aureus.		
conserver les milieux et réactifs	- Boîtes de Pétri	- Plasma de sang .		
préparés), réglable à 0 – 5°C		- Alun de fer.		
- Agitateur.		- Sulfite de sodium.		
- Appareil de comptage lumineux.		- TSE (liquide de dilution)		
- Balance.		- Emulsion de jaune d'œuf.		
- Bec bensen.		- Tellurite de potassium.		
		- l'huile de paraffine.		

Tableau n°02 : les différents matériels et produits utilisés

I.5.2. Méthodes

I.5.2.1. Préparation de la dilution décimale

Avant toute analyse microbiologique qui doit être réalisée, on doit effectuer une série de dilutions.

I.5.2.1.1. Choix du diluant

Le diluant doit être «neutre» vis-à-vis des microorganismes : il ne doit pas être trop riche et permettre leur croissance et il ne doit pas non plus les inhiber ou les tuer (par exemple par modification brutale de pression osmotique) .Certains germes sont très sensibles à l'eau distillée (staphylocoque), d'autres aux solutions salines comme l'eau physiologique ou le milieu de Ringer (Escherichia coli): cependant cette action dénaturante n'intervient qu'après plusieurs heures .Ces problèmes peuvent être éviter en utilisant un milieux adéquat (tryptone –sel) (Guiraud,2012).

I.5.2.1.2. Techniques de dilution

Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques. Leur mode de préparation est minutieux.

On prépare autant de tubes qu'il y a de dilutions à effectuer en prenant des tubes stériles dans lesquels on met aseptiquement 9 mL de liquide diluant.

Après l'avoir l'homogénéisée soigneusement, on prélève 1 mL dans la suspension de départ à l'aide d'une pipette de 1 mL et on le porte dans le premier tube de dilutions (10⁻¹).

La pipette ne doit entrer en contact ni avec les parois des tubes, ni avec les le liquide diluant. Avec une nouvelle pipette de 1 mL, on homogénéise par aspirations et soufflages le contenu de ce tube (10⁻¹) (par ailleurs agité à la main)et ensemence le tube (10⁻²) et ainsi de suite en changeant à chaque fois de pipette pour ne pas perturber les dilutions ; si une partie de la dilution prélevée doit être utilisée , on peut utiliser la même pipette à cette fin au même moment .on peut naturellement utiliser des volumes différents en respectant le facteur de dilution souhaité .Selon la nature de produit ou de germe (**Guiraud,2012**).

I.5.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux (en milieu solide)

Ce sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, oxydase-, aéro-anaérobies ou anaérobies facultatifs ; ils peuvent se développer en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface équivalents ; ils fermentent le lactose avec production d'acide et de gaz en 48heures à une température de 35à 37°C.

Les coliformes thermotolérants, encore appelés "coliformes fécaux ", ils ont les même propriétés que les coliformes, mais à une température optimale d'incubation de 44°C (**Delarras, 2007**).

I.5.2.2.1. But

L'intérêt de cette manipulation est de déterminer pour le produit testé une contamination fécale et d'en apprécier l'ampleur car les coliformes sont des bactéries vivant principalement dans les intestins. De plus, les coliformes thermo tolérant (ou coliformes fécaux) survivant difficilement hors de l'intestin traduiront donc une contamination fécal récentes (Joffin, 1999).

I.5.2.2.2. Mode opératoire

A partir des dilutions décimales 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 1 mL de chaque dilution dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée.

Cette opération doit être effectuée en double pour chaque dilution car :

- La première série de boîtes sera incubée à 37 °C et sera réservée à la recherche des coliformes totaux.
- La deuxième série de boîtes sera incubée à 44 °C et sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.
- Compléter ensuite avec environ 15 mL de gélose au Désoxycholate a 1‰ (ou avec gélose VRBL) fondue puis refroidie à 45°C ± 1.
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour bien mélanger la gélose a l'inoculum.
- Laisser solidifier les boîtes sur la paillasse, puis couler à nouveau environ 5 mL de la même gélose; cette double couche a un rôle protecteur contre les diverses contaminations (Larpent; 1997).

I.5.2.2. 3.Incubation

Les boîtes de pétri seront donc incubées couvercle en bas pendant 24à 48 h à :

- > 37 °C pour la première série (recherche des coliformes totaux)
- ➤ 44 °C pour la deuxième série (recherche des coliformes fécaux)

I.5.2.2.4. Lecture

Les colonies des coliformes totaux et fécaux apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé et de 0,5 mm de diamètre.

I.5.2.2. 5. Dénombrement

Les normes AFNOR utilisent un mode de calcul plus complexe, prenant en compte les boites de deux dilutions successives, à la condition qu'elles contiennent moins de 300 colonies et qu'une boite au moins de la dilution la plus forte contiennent au moins 15 colonies (**Joffin**, 1999).

Dans cette méthode, si l'on nomme:

 $\sum C$: somme des colonies comptées sur toutes les boites retenues,

 n_1 : nombre de boites retenues à la première dilution ;

n₂: nombre de boites retenues à la deuxième dilution ;

d: taux de dilution de la première dilution,

alors:

$$N = \frac{\sum C}{(n.1 + 0.1n2)d} \quad ufc/ml$$

I.5.2.3. Recherche et dénombrement des Staphylococcus aureus

I.5.2.3.1. But

La recherche des *Staphylococcus aureus* permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur, car ils sont les seuls à produire éventuellement une entérotoxines protéique causant une intoxication alimentaire (**Guiraud, 1998**).

I.5.2.3.2.Milieux sélectifs utilisés (Baird Parker)

Ce milieu est rendu sélectif par l'action du tellurite qui inhibe la plupart des bactéries à Gram négatif et sert aussi d'indicateur par sa réduction en tellure noire, c'est un milieu riche du fait de la présence de jaune d'œuf, de pyruvate et de glycocolle ;

Le jaune d'œuf permet la mise en évidence de lécithinase de *Staphylococcus aureus* par opacification de milieu autour des colonies (**Gay Leyral et** *al*, **2001**).

I.5.2.3.3. Technique

- A l'aide d'une pipette stérile, déposer 0.1 ml de l'échantillon du lait.
- Répéter avec les dilutions suivantes, en utilisant une nouvelle pipette stérile à chaque dilution.
- Etaler le plus rapidement possible, avec l'étaleur, l'échantillon ou les dilutions déposées à la surface du milieu de culture. Ne pas toucher les parois de la boite avec l'étaleur. Utiliser un étaleur stérile pour chaque boite.
- laisser les boites sur la paillasse, couvercle fermé, pendant environ 15 min, afin que l'excès d'humidité disparaisse.
- Mettre les boites en incubation à 37°C pendant 24heurs (Larpent, 1997)

I.5.2.3.4. Lecture

Staphylococcus aureus donnent des colonies noires (réduction de tellurite en tellure), avec un halo clair du à la protéolyse des protéines de jaune d'œuf, et éventuellement, un liseré blanc opaque (précipitation des acides gras produits par la lécithinase qui hydrolyse la

lécithine du jaune d'œuf). Leur taille est de 0,5 à 2 mm. Aspect brillant. Les colonies de *Staphylococcus aureus* non pathogènes sont souvent inhibées ou se développent de manière irrégulière (**Guiraud**, 1998).

I.5.2.3.5. Test de coagulase

L'identification de *S.aureus* est basée sur la mise en évidence de la coagulase à partir de plusieurs colonies prélevées sur milieu BP. Chaque colonies est ensemencée dans 0,5 mL de bouillon cœur –cervelle .Après 24heures d'incubation à37°C ,on ajoute 0,5mL de plasma de lapin et le mélange est incubé à 37°C puis examiné périodiquement jusqu'à 24heures d'incubation .La présence de coagulase se traduit par une prise en masse du milieu (**Michel ,2005**).

I.5.2.3.6. Dénombrement

Pour le dénombrement les boîtes qui renferment 150 colonies au maximum, Dénombrer les colonies suivant leur aspect. (J.O.R.A, 2005)

I.5.2.4. Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs

Les anaérobies Sulfito – Réducteurs sont des bactéries anaérobies strictes, de forme Bacille à gram positif, catalase négative, mobiles, sporulés, appartenant à la famille des Bacillacea, hôte habituel du tube digestif de l'homme, leurs spores ont une résistance considérablement dans les milieux naturels, ils ont un pouvoir de détruire le sulfite de sodium et donner en présence du fer, du sulfure de fer d'ou une coloration noire (**Bourgoie C.M et al, 1996**).

I.5.2.4.1. But

La recherche des anaérobies Sulfito-réducteurs est réalisée dans deux buts différents : Clostridium perfringens de type A est recherché car parfois responsable d'intoxications alimentaire.

Les clostridies sulfito-réducteurs (ou leurs spores), bactéries commensales de l'intestin ou saprophytes du sol, comme test de contamination fécale, éventuellement ancienne vu la résistance des spores à l'extérieur. Clostridium perfringens fait partie des Clostridium sulfito-réducteurs (Joffin, 1999).

I.5.2.4.2. Principe

De chaque échantillon de lait cru, cinq mL ont été prélevés aseptiquement dans un tube stérile, 0,5mL d'une solution à 5% de sulfate de sodium et deux à trois gouttes de solution d'Alun de fer à 5% ont été introduites dans chaque tube.

Après l'homogénéisation de tube par un mouvement rotatoire vertical et on le laissait refroidir à une température ambiante, on ajoutait un second volume de 0 ,7 mL de gélose viande

foiesuivis par 3 à 4 gouttes d'huile de paraffine (pour créer l'anaérobiose), pour assurer l'anaérobiose.

Après incubation à 46°C pendant 24 à 48 heures, les grosses colonies noires qui se sont développées en anaérobiose sont des colonies de bactéries produisant, à partir des sulfites, des sulfures qui ont précipité avec les ions de fer. Il s'agissait des colonies de *Clostridium* sulfitoréducteurs (**Joffin C., Joffin J.N.1999**).

Chapitre II: ésultats et discussion

II. Résultats et discussion

II.1. Les coliformes

II.1.1. Les coliformes totaux

Après le dénombrement des coliformes totaux, on a obtenu le graphe de la figure n°02.et les résultats de la recherche des coliformes totaux sont représentés dans la photo n°01. (Voir annexe III)

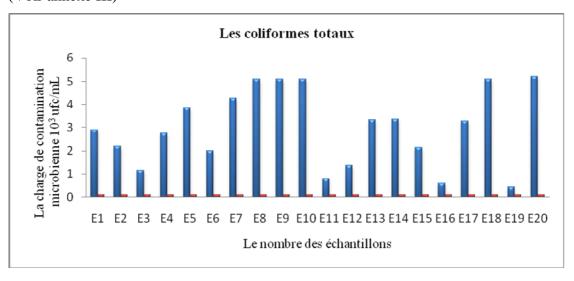


Figure n°02 : Présentation des échantillons des laits crus contaminés par les Coliformes totaux.

Les résultats représentés dans le graphe ci-dessus montrent une présence considérable de coliformes totaux dans les quatre points de vente et le taux de contamination des échantillons est de 4,4.10³ufc/mL comme valeur minimal et 51.10³ufc/mL comme valeur maximal et une moyenne de 29.9.10³ufc/mL,

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

Tous les échantillons présentent une forte contamination par ces germes qui dépassent de loin la norme de 10³ufc/mL édictée par **Guiraud** (1998).

Le taux de contamination par les coliformes totaux constater au cours de cette recherche été supérieure à celles qui a cité par **Tir Elhadj et al. en 2015**, dans la région de Tissemsilt dont la moyenne de contamination a été de 10,49.10³ ufc/mL.

Ce taux élevé peut être s'expliquer par une négligence de l'hygiène des étables et des vaches, d'après **Magnusson et al. (2007),** les litières fortement souillées contiennent plus des Coliformes et la prévalence de mammites, dans ce cas, augmente, suggérant une contamination des trayons et du lait plus importante. D'autres sources de contaminations sont

également considérées tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite.

II.1.2. Les coliformes fécaux

Après le dénombrement des coliformes fécaux, on a obtenu le graphe de la figure n°03.et les résultats de la recherche des coliformes fécaux sont représentés dans la photo n°02 (voir annexe III).

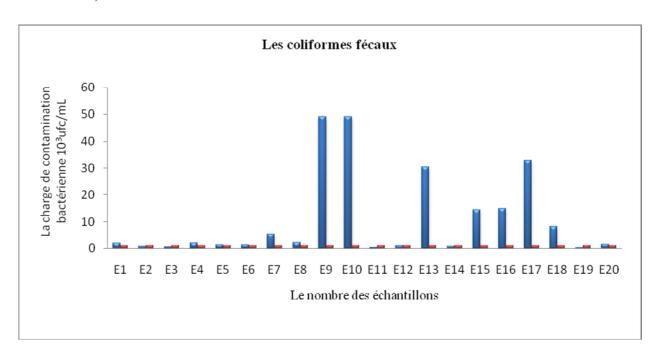


Figure n°03 : Présentation des échantillons des laits crus contaminés par les Coliformes fécaux.

Nous avons interprétés les résultats des analyses bactériologiques selon les normes exigées par l'arrêt interministériel N° 35 du 27/05/1998 aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

Pour les coliformes fécaux, 75% des échantillons sont considérés comme non satisfaisants par rapport à la norme Algérienne (10³ufc/mL).

Cinq échantillons seulement répondent aux normes Algérienne avec une charge de contamination qui été inferieurs à 10³ufc/ml pour 03 échantillons du point de vente de KARMAN (E3 .E11.E19) et 02 échantillons du point de vente SONATIBA (E2 .E14).

La moyenne de contamination des coliformes fécaux a été de 10,9.10³ufc/mL, avec un taux maximal de contamination de 35,7.10³ufc/mL et le taux minimal de 0,3.10³ufc/mL.

Ces résultats obtenus sont plus élevés par rapport aux résultats obtenus par **Tir Elhadj et** *al* (2015) avec une moyenne de contamination de 0,87.10³ufc/mL et celles de **Hammadi** (2015) avec une moyenne de contamination égale 9.10³ufc/mL.

La présence des coliformes fécaux traduit une contamination fécale récente, car ces bactéries vivant principalement dans les intestins survivent difficilement dans le milieu externe (**Joffin**, 1999).

Ces résultats exprime l'existence d'une situation de négligence des plus simples règles d'hygiène dans certaines exploitations tel que: l'absence du lavage du pis avant et après la traite, la présence des coliformes indique aussi une faute hygiénique relevant soit d'une mauvaise qualité du lait utilisé qui est peut être due aux matériels de fabrication sale (Larpent, 1997).ou même il peut indiquer aussi la présence possible de micro-organismes entéropathogènes responsables des gastroentérite.

II.2.Staphylococcus aureus

Selon **la figure n°04**, on peut constater la présence de *Staphylococcus aureus* dans tous les échantillons de lait de vache cru analysés.et les résultats des *Staphylocococcus aureus* sont illustrés dans la photo n°03.(voir annexe III).

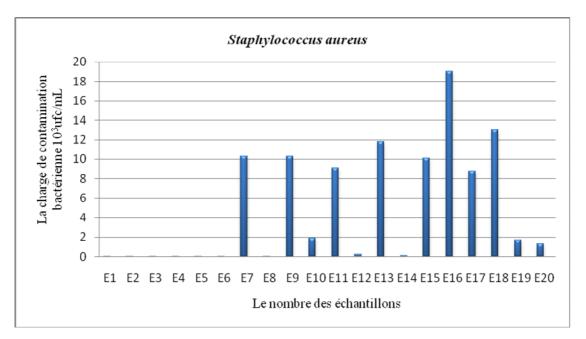


Figure n°04 : Présentation des échantillons des laits crus contaminés par les *Staphylococcus aureus*.

Les travaux de **Tir Elhadj et** *al* (2015)ont montre une absence totale de *Staphylococcus aureus*, contrairement a nos résultats qui ce rapproche aux travaux de **Hammadi** (2015) qui a constaté un taux de contamination égale à 5,1 .10²ufc/mL.

Le taux moyen de contamination par *S. aureus* dans tous les échantillons été de 4,89.10³ufc/mL et qui a dépasser de loin la norme fixée par le Journal Officiel de Republication Algérienne.

La présence de germes considérés comme pathogènes est probablement dû à la mauvaise qualité hygiénique des récipients utilisés dans la filière (Ashnafi M., 1996)

Ou peut accéder au lait soit par excrétion directe à partir de mamelles atteintes de mammite staphylococcique, soit par contamination de l'environnement lors de la manipulation et de la transformation du lait cru.

II.3.Les anaérobies sulfito-réducteurs

Les anaérobies sulfito-réducteurs sont présents dans les aliments des animaux (aliments qui ont été en contact avec de la terre) et contaminent le lait directement ou par l'intermédiaire des fèces. Ce sont des bactéries pathogènes et leur présence traduit une contamination fécale ou par le sol, récente ou ancienne (Rondia P. et Delfosse C., 2007).

Le tableau ci dessous présente nos résultats des anaérobies sulfito-réducteurs comparés avec les normes Algériennes.

Flore ufc /mL	Minimum	Maximum	Moyenne	Norme ufc/mL
				J.O.R.A1998
Anaérobies sulfito-	absence	absence	absence	50
réducteurs				

Tableau n°03: Comparaison des résultats des analyses bactériologiques des échantillons du lait de vache cru (anaérobies sulfito-réducteurs) avec les normes de **J.O.R.A 1989**.

Les résultats d'analyse des anaérobies sulfito-réducteurs affichées dans le tableau n°02 traduit une absence totale de ces dernier dans tout les échantillons du lait cru ce qui concorde avec les résultats citer par **Tir Elhadj et** *al*, **2015** et par **Hammadi en 2015**. Ils répondent aux normes du Journal Officiel de la Republication Algérienne.

II.4. Discussion des résultats selon les points de ventes

La figure n°05 montre Le taux de contamination bactériologique du lait de vache cru dans les points de ventes par les différents germes :

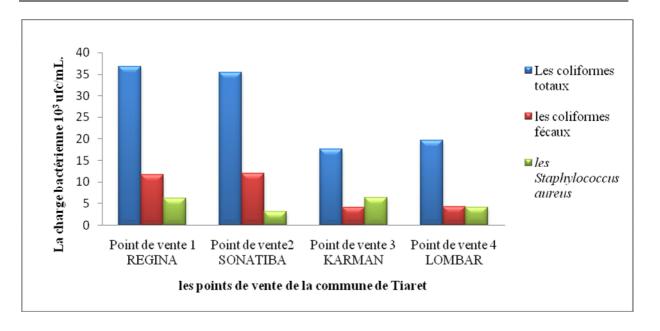


Figure n°05 : Représentation de la charge bactérienne du lait cru des différents points de vente.

Le graphe reflète une très grande hétérogénéité dans les résultats ;

Les échantillons du point de vente de REGINA présente une contamination importante par les coliformes totaux avec une moyenne de contamination égale à 36,8.10³ ufc/ml qui se rapproche à celle de point de vente de SONATIBA avec une moyenne de 35,5.10³ ufc/mL et qui été supérieur aux résultats de LOMBAR (19,9.10³ ufc/mL) et de KARMAN (17,6.10³ ufc/mL).

Le taux de contamination en Coliformes fécaux le plus important a été enregistré dans le point de vente SONATIBA avec une moyenne de 12,01.10³ ufc/mL qui a été proche de celle de REGINA (11,73.10³ ufc/mL) mais restent largement supérieur à ceux de LOMBAR (4,31. 10³ ufc/mL) et de KARMAN (4,16.10³ ufc/mL).

Le taux de contamination par les *Staphylococcus aureus* été important dans les laits crus analysés dans les quatre points de vente (KARMAN; REGINA; LOMBAR; SONATIBA) avec des moyennes respectives de (6,38.10³ufc/mL; 6,20.10³ufc/ml; 4,11.10³ufc/mL; 3,02.10³ufc/mL).

Globalement la présence de cette diversité de flore dans les points de vente, n'est que le résultat logique d'un mauvais encadrement de nos éleveurs par les vétérinaires, l'absence des mesures d'hygiène, ainsi que le non-respect et la méconnaissance et des bonnes règles de conduites d'élevage, en particulier celles liées à la propreté des animaux, leur environnement et bien sûr les conditions de sécurité pour le stockage et la livraison de lait (Ghazi k. et Niar A. 2011).

Conclusion

Conclusion

À la lumière de cette étude nous avons évalué la qualité bactériologique du lait de vache cru issu de quatre différents points de ventes de la commune de Tiaret, les résultats obtenus ont montrer que les lait cru analyses présentent une charge bactérienne très élevée en coliformes totaux dans tous les échantillons avec une moyenne de contamination égale à (29,9 .10³ufc/mL) ainsi que une présence considérable des coliformes fécaux (10,9.10³ ufc/mL) et des *Staphylococcus aureus* (4.89.10³ufc/mL) avec une absence totale des anaérobies sulfito réducteurs.

L'importance de cette charge bactérienne n'est que le résultat de contaminations et multiplications successives associées aux mauvaises conditions hygiéniques et de température élevée non contrôler le long du chemin de l'acheminement du lait de la ferme aux consommateurs (lors de la traite à la ferme, au cours du transport et sur les lieux de vente).

La grande variabilité dans les taux de contamination des échantillons du lait dévoile une situation alarmante de la qualité de ce produit, du point de vue qualité hygiénique, tous les échantillons peuvent être qualifiés de mauvais car ils dépassent de loin la norme recommandée par le journal officiel concernant les critères microbiologiques des laits et des produits laitiers.

La présence de germes responsables d'intoxication alimentaire tels que *S. aureus* peut devenir un problème de santé publique et la prévention des toxi-infections d'origine alimentaire par des germes pathogène passe par la mise en place d'un programme d'action contre :

- les mammites bovines.
- instaurer une politique de qualité avec la vulgarisation des bonnes pratiques d'élevage et insister sur la propreté des animaux, de leur environnement immédiat et la salubrité de la traite.
- le maintien du lait à température de réfrigération et le strict respect des règles d'hygiène lors des manipulations à la ferme et aux points de vente.
- De plus la diffusion d'un avis recommandant à la population de faire bouillir le lait local avant toute consommation devrait être faite afin de limiter le nombre de germes pathogène présents dans le lait cru.

léférences bobliographique

Références bibliographiques

- ➤ **ASHNAFI M. 1996;** Effect of container smoking and incubation temperature on the microbiological and ergo a traditional Ethiopian sour milk. International Dairy J., page 6.
- ➤ **BENHAMED N. 2014**; Evaluation de la qualité microbiologique et sanitaire du lait cru dans la région d'Oran, Algérie : Etude du profil moléculaire virulent des *Staphylococcus aureus* impliquées dans les mammites bovines. Thèse unique. Université d'Oran. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de Biologie .page 141.
- ➤ BOURGEOIS C-M ET, LARPENT J-P. 1996; Microbiologie alimentaire. Aliments fermentés et fermentation alimentaires, Ed Tech et Doc, Lavoisier, 2èmeedition, Tome 2. Paris : page 523.
- ➤ BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F et ZUCCA, J. 1996; Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Edition sciences et techniques agroalimentaires :page 360.
- ➤ CARLIER V., ROZIER J., BOLNOT F. 1984; Bases microbiologiques de l'Hygiène des aliments. Ecole Vétérinaire de Maisons-Alfort, France, page 232.
- ➤ CUQ J.L. 2007; Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. page 20-25.
- ➤ **DELARRAS CAMILLE 2007**; Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire, Lavoisier page 96.
- ➤ FAYE B., LOISEAU G. 2000; Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. In : Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement, Actes de l'atelier international, Montpellier, 11-13 décembre, 2000, p11-13
- ➤ FRANÇOIS -Marie ,2005; Bactéries lactiques et probiotiques Georges Corrieu Lavoisier collection sciences et techniques Agroalimentaire Edition TEC page 38.

- ➤ GHAZI kheira et NIAR A. 2011; Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (original article)à l'Institut des Sciences Vétérinaires, Université Ibn-Khaldoun de Tiaret, B.P. 72.
- ➤ **GUIRAUD JOSEPH –PIERRE 2012**; Microbiologie alimentaire page 360.
- ➤ **GUIRAUD**, **J.P.1998**; Microbiologie alimentaire « microbiologie des principaux produits alimentaires » .Ed; Dunod. Paris, page 136-137-651.
- ➤ HAMMADI Fouzia, RAOUI Reguia 2015; Etude des caractéristiques physicochimiques et de la qualité bactériologique du lait cru de vache en comparaison avec le lait pasteurisé. Ibn Khaldoun Tiaret.
- > INSTITUT DE L'ELEVAGE. 2009; Traite des vaches laitières : Matériel, installation, entretien. 1ereédition.France Agricole, institut de l'élevage : page 554.
- ➤ **JOFFIN C. ET JOFFIN J.N. 1999**; Microbiologie alimentaire. Collection Biologie et technique, 5ème édition , page 212 -211.
- ➤ JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE 2004; Rabie Ethani 1425 23 mai 2004 PAGE 14 Arrêté du 5 Safar 1425 correspondant au 27 mars 2004 rendant obligatoire la méthode de contrôle microbiologique pour le lait stérilisé
- > JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 42 8 Journada El Oula 1426 /15 juin 2005.
- ➤ KIRAT S. 2007; « Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines -. Montpellier(France), page 13.
- LARPENT Jean Paul 1997; Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire, Lavoisier page 168.
- ➤ LEYRAL G. ET VIERLING É. 2007; Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4e édition Biosciences et techniques. page 87.

- ➤ MAGNUSSON M., CHRISTIANSSON et SVENSSON B. 2007; Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factor affecting contamination of raw milk. journal of dairy science. n° 90. pp: 2745-2754.
- ➤ MICHEL Federighi 2005; Bactériologie alimentaire, Compendium d'hygiène des aliments 2eme édition page 38-44.
- ➤ PETRANXIENE D et LAPIED L., 2002; Qualité bactériologique du lait et des produits laitiers (Analyses et tests). Ed. Lavoisier, Paris, page 328.
- ➤ **RONDIA P. et DELFOSSE C., 2007**; Filière Ovine et Caprine 19 (2007).
- ➤ TIR El Hadj, BOUNOUA Samira, HEDDOU Messouda, BOKLILA Nassira.

 2015 ; Etude de la qualité physicochimique de laits crus de vache dans deux fermes de la wilaya de Tissemsilt, El watan pour les recherches et les études vol.n°02 P26-33.
- ➤ VIGNOLA C. 2002; Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. page 3-75.

Annexes

Annexe I

La composition des milieux de culture

1-T.S.E:(liquide de dilution)

Tryptone 1g

NaCl 8.5g

Eau1dm³

pH: 7

Répartir en tubes à essais (09-10 ml).

Stériliser à 121°C pendant 152 minutes

2-Milieu Baird Parker:

Formule (en grammes par litre d'eau distillée) :

Peptone......10

Extrait de viande de boeuf......4

Extrait de levure.....2

Pyruvate de sodium......10

Chlorure de lithium.....5

Glycocolle.....12

Préparation:

Mettre 57 g de poudre dans un litre d'eau distillée froide.

Attendre cinq minutes, puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à l'ébullition jusqu'à dissolution complète.

Répartir puis stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

Au moment de l'emploi, ajouter à 100 ml de base fondue et refroidie vers 45-50°C :

5 ml de jaune d'oeuf au tellurite de potassium à 1%

3-Milieu V.F (gélose Viande Foie pour germes sulfito-réducteurs)

Composition

Extrait viande foie: 30g

Gélose12g

Répartir en tubes à essais (20ml). Autoclaver 20 minutes à 115°C ajouter avant emploi par tube de milieu en suspension, 0.5ml de sulfite de sodium à 5% et 4 gouttes de citrate de fer ammoniacal à 5% stérilisés par filtration ou 10 minutes d'ébullition (les solutions doivent être fraîches).

4-Milieu VRBL : (Gélose Lactosée Biliée au cristal Violet et au rouge neutre)

Composition

Milieu de culture déshydraté.

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.

Formule en g/ln d'eau distillée :

Peptone de viande......10

Lactose......10

Vert brillant......23ml

pH = 7.4

Préparation

Dissoudre de 40g dans un litre d'eau distillée.

Autoclave 15 à 121 °C

Conserver dans un endroit fris et en absence d'humidité

Annexe II

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Echantillons	Coliforme	Coliformes	Streptococcus aureus		Les
	s totaux	fécaux	Flore ufc	Coagulase	anaérobies
	ufc/mL	ufc /mL	/mL		sulfito-
					réducteurs
E1	2,9.104	1,96.10 ³	0,06.10 ³	+	Absence
E2	2,2.104	0,7.10 ³	0,04.10 ³	+	Absence
E3	1,16.104	0,63.10 ³	0,04.10 ³	+	Absence
E4	2,74.10 ⁴	2,08.10 ³	0,02.10 ³	+	Absence
E5	3,84.10 ⁴	1,37.10 ³	0,04.10 ³	+	Absence
E6	2,01.104	1,36.10 ³	0,06.10 ³	+	Absence
E7	4,27.104	5,36.10 ³	1,03.104	+	Absence
E8	5,09.104	2,13.10 ³	0,06.10 ³	+	Absence
E9	5,1.104	4,9.104	1,03.104	+	Absence
E10	5,1.104	4,9.104	1,09.10 ³	+	Absence
E11	0,8.104	0,4.10 ³	9,8.10 ³	+	Absence
E12	1,36.104	1,04.10 ³	0,2.10 ³	+	Absence
E13	3,32.10 ⁴	3,05.104	1,18.104	+	Absence
E14	3,36.10 ⁴	0,74.10 ³	0,1.10 ³	+	Absence
E15	2,13.10 ⁴	1,44.104	1,01.104	+	Absence
E16	0,59.104	1,49.104	1,9.104	+	Absence
E17	3,28.10 ⁴	3,28.10 ⁴	8,81.10 ³	+	Absence
E18	5,09.104	8,27.10 ³	1,3.104	+	Absence
E19	0,44.104	0,3.10 ³	1,7.10 ³	+	Absence
E20	5,1.104	1,43.10 ³	1,31.10 ³	+	Absence
Moyenne	29.9.10 ³	10,9.10 ³	4.89.10 ³		
PE <n.jo.r.< td=""><td>00%</td><td>25%</td><td>00%</td><td></td><td></td></n.jo.r.<>	00%	25%	00%		
A					
PE	100%	75%	100%		
>N.J.O.R.A					

Tableau n°04 : Les résultats bactériologiques du lait de vache cru vendu dans la commune de Tiaret.

Annexes III

Les photos des résultats des analyses bactériologiques du lait de vache cru vendu dans la commune de Tiaret.

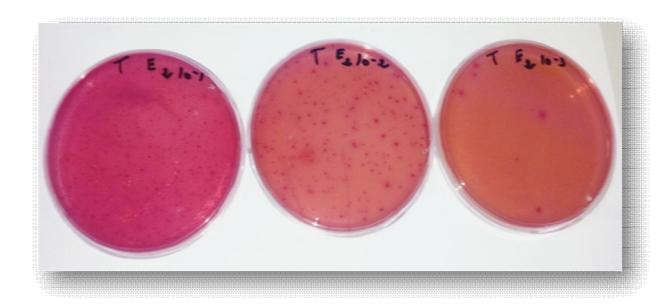


Photo n°01: Les coliformes totaux



Photo n°02: Les coliformes fécaux.

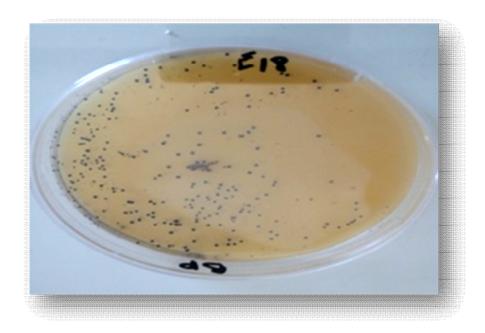


Photo n°03: Staphylococcus aureus.





Photo n°04: Résultats du test de coagulase pour les *Staphylococcus aureus*.

Annexe IV

Les critères microbiologiques du lait de vachecru

D'après l'arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatifs aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires page 07. (N° J.O.R.A: 035 du 27-05-1998).

Lait cru	n	С	m
Germes aérobies à 30°C	1	-	10 ⁵
Coliformes fécaux	1	-	10^{3}
Streptocoques fécaux	1	-	Absence/0,1ml
Staphylococcus aureus	1	-	Absence
C. sulfito-réducteurs	1	-	50
Antibiotiques	1	-	Absence

Tableau n°05: Spécification microbiologique du lait cru.

Résumé

L'objectif de l'étude consiste à évaluer la qualité bactériologique du lait de vache cru prélevé de quatre points de vente de la commune de Tiaret (LOMBAR, REGINA, SONATIBA, KARMAN), Au total 20 échantillons de lait ont été analyser. Les résultats ont montrés une contamination à 100 % des échantillons avec une moyenne de contamination de 29,9.10³ ufc/mL pour les coliformes totaux et une moyenne de 10,9.10³ ufc/mL pour les coliformes fécaux, Par ailleurs, 100% des prélèvements ont été positifs pour de *Staphylococcus aureus* à coagulase positif avec 4.89.10³ ufc/mL. Tendis que on a enregistré une absence totale des anaérobies sulfito-réducteur.

Le danger de la présence de ces germes, est le fait qu'il peuvent être a l'origine d'intoxications alimentaires et même des maladies, ce qui représente un réel danger pour le consommateur,

Suite a ces résultats, il faut tirer la sonnette d'alarme pour mettre en œuvre un programme de vulgarisation des bonnes pratiques d'hygiène afin d'assurer la salubrité durant toute la chaine de production du lait cru.

Mots-clés: vache, lait cru, qualité, bactériologiques, Tiaret, points de vente.

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم جودة حليب البقرة النبئ بالقيام بتحاليل بكتريولوجية ل 20عينة حليب أحضرت من أربع نقاط بيع من بلدية تيارت (لومبار، الريجينا، السوناتيبا، كارمان) من أجل تحديد جودتها.

أبرزت النتائج وجود تلوث هذه الأخيرة بمجموع القولونيات بنسبة 100 % بمعدل (29.9. 10^3 و.ت.م.ب/ملل) ووجود بكتريا القولون البرازية بمعدل (10.9. 10^3 و.ت.م.ب/ملل) ،أما النتائج المحصل عليها بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية ذات التخثر الايجابي كانت 100% ملوثة (4.89. 10^3 و.ت.م.ب./ملل) ، كما سجلنا غياب تام للبكتيريا اللاهوائية المرجعة للكبريت.

الخطر في وجود هذه الجراثيم، هو أنه يمكن أن يكون سبب التسمم الغذائي وحتى الأمراض التي تمثل خطرا حقيقيا بالنسبة للمستهلك،

وبعد هذه النتائج، وجب التنبيه لتنفيذ برنامج التوعية من الممارسات الصحية الجيدة لضمان السلامة في جميع مراحل إنتاج الحليب النيئ.

الكلمات المفتاحية: البقرة ، الحليب النبئ، الجودة، بكتريولوجية ، تيارت، نقاط بيع .