

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية 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 en vue 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"

Thème

**Etude des caractéristiques physico-chimiques et de
la qualité bactériologique du lait cru de vache en
comparaison avec le lait pasteurisé.**

Présenté et soutenu publiquement par

* HAMMADI Fouzia

*RAOUI Reguia

JURY:

Présidente : Dr ABDELHADI. FZ

Promotrice : Dr OUABED .A

Examinatrice : Dr BOUSMAHA.F

Année universitaire: 2014–2015

REMERCIEMENT

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 OUBED Asmahan pour sa précieuse aide et ses orientations.

Nous tenons à remercier Dr ABDELHADI Fatima Zohra, qui nous a honorées en acceptant de présider notre jury de soutenance.

On tient également à remercier notre enseignante Dr BOUSMAHA Fatma 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 M^{elle} SEDDI Ines, pour nous avoir apporté toute l'aide possible pour arriver à ces résultats.

Nous 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.

MERCI

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, Youcef, Abdelhakim et Ahmed.

A mes sœurs ; Fatima, Mouna, Nassima et Rania.

Aux neveux, Achraf, Abdenour et Mohamed Amir.

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

*A M^{me} OUABED, m'avoir guidé tout au long de la réalisation de
ce travail.*

*A tous mes amis ; Fouzia, Fatima, Amina, Arbia, Safia, Nadjiba,
Amel, Saleh.M et Redha.S.*

*A tous la promo du Master II Sciences des Procédés
Biotechnologie et Agro-alimentaire.*

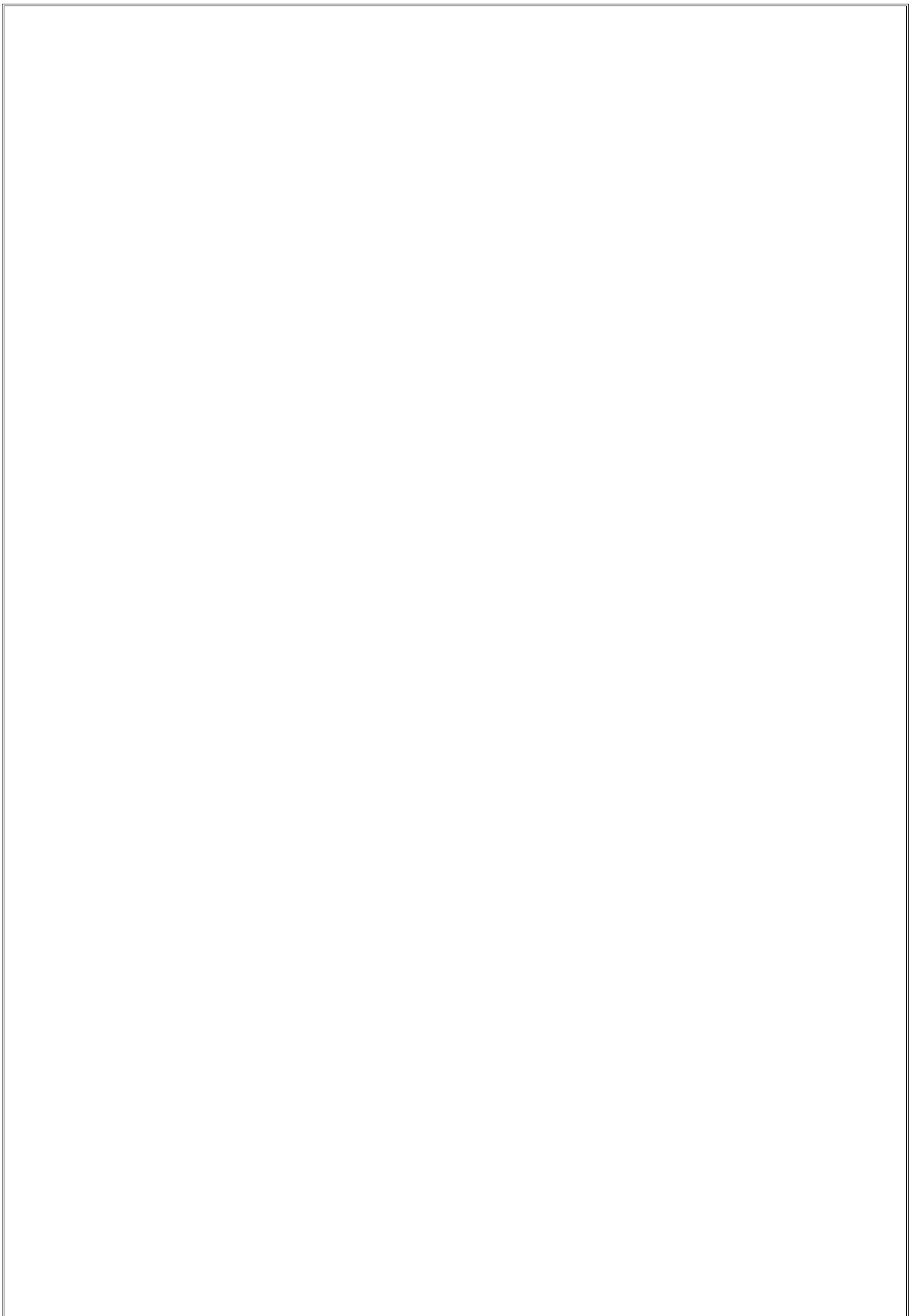
ROKIA

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui ont veillé à sa réalisation en particulier :

- ✚ A mes très chers parents pour leur soutien et encouragement tout le long de mon parcours.*
- ✚ A mes frères qui m'a beaucoup aidé dans la vie et ma soutenue Merci et mille Merci ; Elhadj, Ali, Elhebib, Nasro, Mostafa, Azzedine, Benchohra*
- ✚ A mes sœur Charifa et Malika*
- ✚ Aux belles filles ; Khadija, Nawel, Karima, Achoura, Naima. Je ne peux oublier leurs enfants*
- ✚ A Tous mes amis ; surtout Rokja, Arbia, Fatiha, Amina, Safia, nadjiba, Amel.*
- ✚ A M^{me} Ouabed de m'avoir apporté tout l'aide possible pendant tout la durée de travail.*
- ✚ A tous la famille Hammadi.*

FOUZIA



Liste des abréviations

BEA : Bile-Esculine-Azide

BP : Baird Parker

cm : Centimètre.

° D : degré Dornic.

Ex : Exemple.

FAM : Flore Aérobie Mésophile Totale.

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

LC : Lait cru.

LCP : Lait cru pasteurisé.

MG : Matière grasse.

NA : Normes algériennes.

P : Poids.

PCA : Plate Count Agar.

pH : potentiel Hydrogène.

TSE : Tryptone Sel Eau.

UHT : Ultra Haute Température.

UI : Unité Internationale.

VF : Viande Foie.

VRBL : Gélose lactosée au cristal violet au rouge neutre.

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Composition chimique moyenne d'un litre de lait de vache.....	02
Tableau n°2 : Flore originelle du lait cru	07
Tableau n°3 : Produits chimiques et appareillages utilisés pour les analyses physico – chimiques et bactériologiques.	13
Tableau n°4 : Les valeurs de pH de lait.....	21
Tableau n°5 : Valeurs de l'acidité.....	22
Tableau n°6 : Résultats de nos analyses bactériologiques du lait cru de vache.....	24
Tableau n°7 : Résultats de nos analyses bactériologiques du lait Pasteurisé Conditionné	24
Tableau n°8 : Flore mésophile aérobie totale.....	25
Tableau n°9 : Coliforme fécaux.....	27
Tableau n°10 : Coliforme totaux.....	27

Liste des tableaux des annexes

Tableau n°11 : Résultats de nos analyses physico-chimiques du lait pasteurisé Conditionné (Laiterie de Sidi Khaled).	
Tableau n°12 : Résultats de nos analyses physico-chimiques du lait cru de vache (Fermes de la région de Toriche-Tiaret).	
Tableau n°13 : Résultats de nos analyses bactériologiques du lait pasteurisé conditionné (Laiterie de Sidi Khaled).	
Tableau n°14 : Résultats de nos analyses bactériologiques, du lait cru de vache (Fermes de la région de Toriche-Tiaret).	
Tableau n°15 : Normes bactériologiques du lait cru (J.O.R.A N°35 du 27/05/1998).	
Tableau n°16 : Normes bactériologiques du lait pasteurisé (J.O.R.A N°35 du 27/05/1998).	

Liste des figures

Figure n°1 : Composition globale du lait (g/l)05

Figure n°2 : Protocole expérimental.....12

Liste des figures des annexes

Figure n° 3 : Présentation des échantillons contaminés par germes aérobies (cru)

Figure n° 4 : Présentation des échantillons contaminés par germes aérobies (pasteurisé)

Figure n°5 : Présentation des échantillons contaminés par Coliformes fécaux (cru)

Figure n° 6 : Présentation des échantillons contaminés par Coliforme totaux (pasteurisation)

Figure n°7: contamination par *Staphylococcus aureus* (lait cru)

Figure n°8: contamination par *Staphylococcus aureus* (lait pasteurisé)

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Partie I : Bibliographie

Généralité sur le lait

Introduction

I- Définition du lait	02
II- Composition du lait.....	02
II-1-Eau.....	03
II-2- Glucides	03
II-3- Matière grasse	03
II-4- Matière azotées	03
II-5- Matière saline	03
II-6- Minéraux	04
II-7- Vitamines	04
II-8- Enzymes	04
III- Propriétés physiques du lait	05
III-1- Aspect	05
III-2- Densité et masse volumique	05
IV- Propriété physico-chimique du lait.....	06

IV-1- pH et acidité	06
V- Composition biologique du lait cru	06
V-1- Flore du lait	07
V-2- Flore originale.....	07
V-1-2 Flore de contamination.....	08
VI- Qualité du lait.....	09
VI-1- Qualité microbiologique.....	09
VI-2- Qualité organoleptique	09
VII- Lait pasteurisé.....	10

Partie II : Expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1-L'objectif d'étude.....	11
2- Lieu et durée de l'étude.....	11
3- Protocole expérimental	12
4- Matériels et méthodes.....	13
4-1 Matériel utilisé	13
4-1-1 Appareillages et verrerie.....	13
4-1-2 Appareils pour la stérilisation.....	13
4-1- 3 Produits et équipements utilisés.....	13

4-1-4 Milieux de culture utilisés pour les analyses bactériologiques.....	14
4-2 Prélèvement.....	15
4- 2-1 Echantillonnage.....	15
4- 3 Analyses de laboratoire.....	15
4- 3- 1 Analyses physico- chimiques.....	15
4- 3 - 1- 1 Mesure du pH.....	15
4- 3-1- 2 Détermination de l'acidité titrable.....	16
4-3- 2 Analyses bactériologiques.....	16
4-3-2-1 Préparation de la dilution décimale.....	16
4-3-2-2 Dénombrement des micro-organismes aérobies à 30°C.....	17
4-3-2-3 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	18
4-3-2-4 Dénombrement des coliformes à 30°C et des coliformes fécaux à 44°C.....	19
4-3-2- 5 Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus spp</i>	20
4-3-2- 6 Dénombrement de Anaérobies sulfito-réducteurs.....	20

Chapitre II : Résultats et discussions

1-Analyses physico-chimiques.....	21
1-1 pH	21
1-2 L'acidité titrable.....	21
2- Analyses bactériologiques du lait.....	22
2-1 Germes aérobie mésophiles.....	23
2-2 Streptocoque fécaux.....	24

2-3 Coliformes.....	25
2-3-1 Coliformes fécaux	25
2-3-2 Coliformes totaux.....	26
2-4 <i>Staphylococcus aureus</i>	26
2-5 Anaérobies sulfite réducteurs	27
Conclusion	28

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

L'Algérie est le premier consommateur du lait au Maghreb avec un marché annuel estimé en 2004 à 1.7 milliard de litre, un taux de croissance de 8% et une consommation moyenne de l'ordre de 100 à 110 l/ habitant/an (**Mahouz, 2007**).

Les principales mesures de plan laitier ont surtout concerné les aspects quantitatifs de la production et se sont très peu intéressées à la qualité du produit et à son évolution. En effet, l'amélioration de la qualité du lait est devenue un objectif affiché dans les pays dits développés, où ce produit est soumis à une réglementation et à un contrôle sévère à tous les niveaux, de la production à la vente; des contrôles portant sur la teneur en matière grasse, en microorganismes, en cellules somatiques et en antibiotiques. Selon la réglementation Algérienne, le lait doit être sain, pur et de bonne qualité bactériologique ou hygiénique. Le problème est rendu difficile par la fragilité de cet aliment qui constitue un milieu de culture idéal pour les microbes en provenance de l'air, des poussières, du matériel, du trayeur et de la peau de l'animal.

Le contrôle d'hygiène du lait pasteurisé s'avère d'une très grande importance, car la plupart s'imaginent à tort, que tout lait pasteurisé est sain exempt de microorganismes, et qu'il peut être consommé sans danger, des contrôles officiels des marchés se bornent à constater les falsifications ou simplement les altérations visibles à l'œil nu, qui doivent être suivis par des analyses de laboratoire.

L'objet de notre travail est donc, d'évaluer la qualité bactériologique et physico-chimique du lait de vache cru et pasteurisé et déterminer si les conditions d'hygiène au niveau des fermes ainsi que chez les commerçants étaient respectées. Enfin, vérifier si le lait répondait aux normes microbiologiques et physico-chimiques édictées par le journal officiel de la République Algérienne N° 35 du 27 Mai 1998).

I- Définition du Lait

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (Larpen, 1997).

II-Composition chimique du lait

Le lait est plus qu'une boisson, c'est un aliment complet ou presque complet, qui contient des protéines, des glucides, des minéraux ainsi que des vitamines (Cayot et Lorient, 1998).

Sa composition varie en fonction de l'alimentation, le stade de lactation, l'état sanitaire, de la saison et de la race animale (ALAIS, 1984).

Le tableau qui suit donne la composition moyenne des éléments majeurs du lait :

Tableau n°1 : Composition chimique moyenne d'un litre de lait de vache (Mathieu, 1998).

Constituants du lait	Teneurs en grammes par litre
*Constituants minéraux :	
Eau	902
Constituants salins minéraux	6.9
Gaz dissous	0.1
*Constituants organiques :	
Constituants salins organiques	1.7
Lactose	49
Matière grasse	38
*Protéine ou constituants azotés protéiques :	
-Caséine	32
-Protéines dites solubles	26
Constituants azotés non protéiques	6
Autre constituants	1.5

II-1 Eau

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900-910g par litre. Dans cette eau, sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (**Mathieu, 1998**).

II-2 Glucides

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre (**Luquet, 1985**). Il est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin (**Mathieu, 1998**).

II-3 Matière grasse (MG)

La matière grasse groupe un ensemble de nombreuses substances de structure chimique différente mais toutes solubles à l'état anhydre dans les solvants organique apolaire tel que le chloroforme (**Veisseyre, 1979**). Les laits qui ont des teneurs très élevées en acides gras libres entraînent l'apparition du mauvais goût surtout lorsque la teneur atteint 2 mg/100g de matière grasse (**Chiliard et Lambert, 1987**).

II-4 Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait (**Goursaude, 1985**). Les protéines se répartissent en deux phases : une phase micellaire et une phase soluble (**Goy et al, 2005**).

II-5 Matière saline

Le lait contient des sels à l'état dissous (molécules et d'ions) et à l'état colloïdal. L'essentiel de ces sels est d'origines minérales, sous forme de phosphate, de calcium, de citrate et de chlorure de potassium, sodium et magnésium (**Luquet, 1985**).

II-6 Minéraux

La fraction minérale, bien que mineure dans la composition du lait, joue un rôle essentiel du point de vue nutritionnel. En effet, ce qui caractérise la fraction minérale du lait, c'est essentiellement la teneur élevée de calcium lié à la phosphosérine de la caséine. C'est cette liaison calcium/protéine qui donne au lait son caractère irremplaçable. Elle garde en effet le calcium sous forme soluble, y compris dans la lumière intestinal (**Paccalin et Galantier, 1986**).

II-7 Vitamines

Les vitamines sont des micronutriments qui doivent être apportés quotidiennement à l'organisme, car celui-ci ne peut les synthétiser (**Luquet, 1986**).

Le lait figure parmi les aliments qui contiennent la plus grande variété de vitamine. Tout fois, les teneurs sont souvent assez faibles. On a l'habitude de classer les vitamines en deux groupes suivants leur solubilité dans l'eau ou dans les matières grasses. Ainsi les vitamines A, D, E, K, sont liposolubles et se retrouvent intégralement dans la crème et le beurre. Alors que les vitamines B et C hydrosolubles, restent dans le lait écrémé et le babeurre (**Veisseyre, 1979**).

II-8 Enzymes

Le lait véritable tissu vivant, contient de nombreuses enzymes, mais leur étude est difficile car on ne peut pas toujours facilement séparer les enzymes naturelles du lait, de celles qui sont secrétées par les microbes présents dans le liquide. D'ailleurs, les unes et les autres ont un intérêt industriel (**Veisseyre, 1979**).

Certaines enzymes jouent un rôle antibactérien et apportent une protection limitée au lait comme la lactopéroxydase et le lysozyme. Certaines enzymes sont utilisées comme indicateurs de qualité hygiénique (**Goursaud, 1985**).

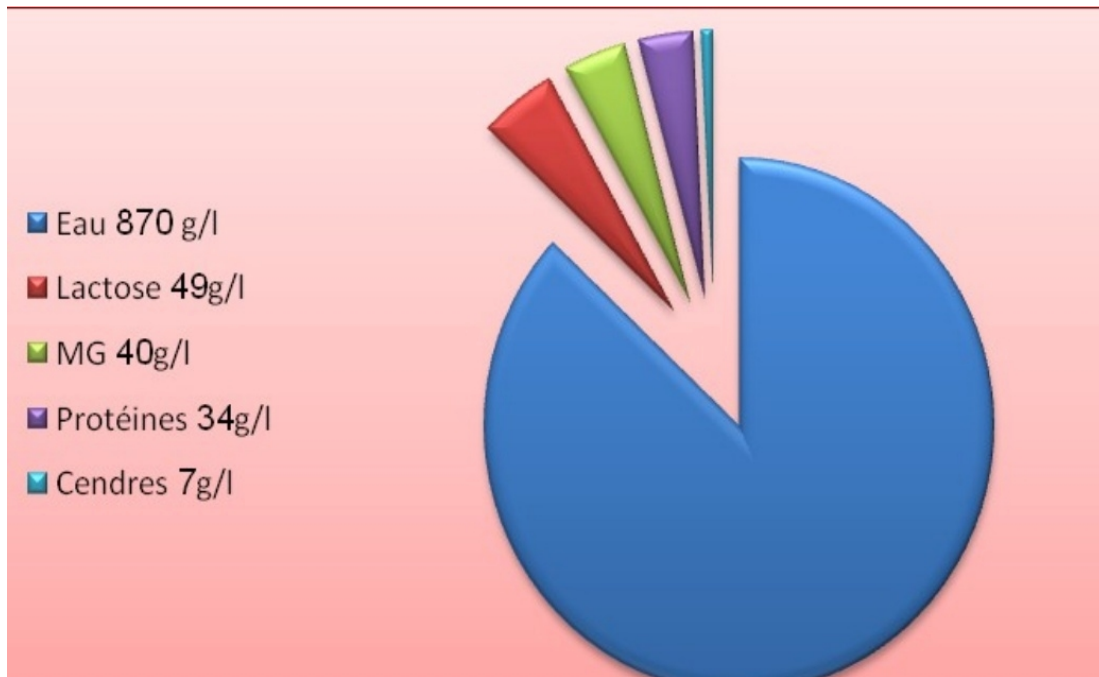


Figure n°1 : Composition globale du lait (g/l) (Brulé et al., 2008)

III- Propriétés physiques du lait

III-1 Aspect

Le lait apparaît comme un liquide opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en β carotène (Cudec, 2001).

Il a une odeur peu marquée, mais caractéristique; son goût variable selon les espèces animales (Luquet, 1985).

III-2 Densité et masse volumique

D'après Mathieu (1998), la densité du lait, est le rapport des masses d'un même volume de lait et d'eau à 20°C.

La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de lait à 20°C, par ce volume, elle s'exprime en g/ml.

La densité du lait est le rapport des masses d'un même volume de lait et d'eau à 20°C (Mathieu, 1998).

IV Propriétés physico-chimique du lait

IV-1 pH et acidité du lait

Le pH du lait frais normal de vache est de l'ordre 6,7. Cette valeur est due en grande partie aux groupements basiques ionisables et acides dissociables des protéines, aux groupements esters phosphoriques des caséines et aux acides phosphoriques et citriques (**Mathieu, 1998**).

Le lait de vache est légèrement acide, en ce sens qu'il faut lui ajouter une solution +basique pour le neutraliser, plus précisément pour entraîner le changement de couleur d'un indicateur coloré. L'acidité du lait est une acidité de titration.

On exprime couramment l'acidité du lait en degrés Dronic ; officiellement on la donne en gramme d'acide lactique par litre du lait.

Un lait frais, lait dont le lactose n'a pas encore été transformé en acide lactique a une acidité de l'ordre de 16°D. Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement. C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation de lactose en acide lactique par divers types de micro-organismes (**Mathieu, 1998**).

V- Composition biologique du lait

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

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

V-1 Flore du lait

Le lait est par sa composition, un aliment de choix ; il contient des matières grasses, lactose, protéines, sels minéraux et de 87% d'eau, son pH est de 6.7, il va être un substrat très favorables ou développement des micro-organismes (Guiraud, 1998).

V-1-1 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 5000 germes / ml et moins de 1 coliformes / ml] .Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores, microcoques, *streptocoques lactique* et *lactobacilles* (Larpen, 1997).

Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées « Lacténines » mais leur action est de très courte durée (1h environ) (Guiraud, 1998). D'autre micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux pour l'homme, il peut s'agir par exemple d'agents de mammites, 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*.

Les germes ordinaires du pis ne présentent pas de danger sanitaires mais peuvent se développer abondamment dans le lait, les autre peuvent être responsables des maladies ou d'intoxication graves qui sont généralement limitées par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs (Bourgois et al., 1996).

Tableau n°2 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
Micrococcus sp.	30-90
Lactobacilles	10-30
Streptococcus ou Lactococcus	< 10
Gram négatif	< 10

V-1-2 Flore de contamination

Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de micro-organismes. Une partie seulement d'entre eux peut se multiplier dans le lait si la température est favorable et le milieu propice. Il en résulte que la nature de la flore microbienne du lait cru est à la fois complexe et variable d'un échantillon à un autre et suivant l'âge du lait (**Bourgois et al., 1996**).

Le lait se contamine par des apports microbiens divers :

-Fèces et téguments de l'animal (*Coliformes, Bacillus, Clostridium*) et éventuellement les entérobactéries pathogènes (*Salmonella, Shigella, Yersinia*).

-Sol : *Streptomyces, listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques entres autres.

-Litière et aliment : flore banale variée, lactobacilles, *Clostridium* butyrique.

-Air et eau : flore diverses dont *Pseudomonas*, bactéries sporulées.

-Equipement de traite et stockage du lait : levures, flores lactiques avec lactobacilles, streptocoques (*Streptococcus, Lactococcus, Enterococcus, Leuconostoc*), cette flore est souvent spécifique de l'usine.

-Manipulateurs : Streptocoques dans le cas de traite manuelle mais aussi des germes provenant de contaminations fécales.

-Vecteurs divers : insectes en particulier.

Parmi ces microorganismes, il en est d'inoffensifs, de dangereux du point de vue sanitaire et d'autres capables d'entraîner la détérioration du lait (Bourgois et al., 1996).

Capable d'entraîner la détérioration du lait (**Bourgois et al, 1996**).

Ex : streptocoques *fécales* ou *lactobacilles bulgaricus* (**Guiraud, 1998**).

VI- Qualité du lait

La qualité se définit comme l'ensemble des propriétés recherchées par le consommateur, implique toutefois la sécurité sanitaire (bactériologique, et chimique), la valeur gastronomique et l'équilibre alimentaire.

La qualité du lait concerne sa faculté de conservation et son aptitude d'être transformée avec un bon rendement en dérivé également sains, savoureux, de haute valeur nutritionnelle (**wolter, 1997**).

VI-1 Qualité microbiologique

L'obtention d'un lait propre et sain exige un bétail sain, des locaux propres et des conditions de récolte satisfaisante. La conservation du lait à basse température jusqu'à la livraison au consommateur ou à la laiterie pour entraver le développement des microbes (**Tremolieres et al, 1980**).

La flore indésirable du lait qui provient des contaminants extérieurs ne devrait être pathogène ni pour l'homme ni pour l'animal, ni empêcher le traitement de lait. En dehors de sa flore normale, le lait peut être contaminé par certaines bactéries qui peuvent nuire au traitement du lait sans être pathogènes. Parmi celles-ci, les *clostridium butyrium*, les pseudomonas et les bactériophages (**Paraf et Peltre, 1992**).

VI-2 Qualité organoleptique

Comme tous les aliments, le lait possède les caractères organoleptiques suivants :

Couleur : le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de caractère (la vache transforme le *B* carotène en vitamine (**Fredot, 2007**)).

Odeur : Elle est caractéristique. En effet, le lait grâce à la matière grasse qui il contient, fixe des odeurs des animaux. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation et à la conservation du lait (**Fredot, 2007**). Selon Temolieres et al, (1980), un lait conservé à proximité d'un produit odorant (peinture, essence) peut fixer rapidement l'odeur du produits.

Saveur : Elle varie en fonction de la température de la dégustation et de l'alimentation de l'animal (**Fredot, 2007**).

VII. Lait pasteurisé

La pasteurisation est un traitement thermique qui garantit la destruction de tous les germes pathogènes, éventuellement présents, tel que mycobactérium tuberculose, Salmonella, Brucella et la majorité des bactéries responsables d'altération (**Frédot, 2007**).

La pasteurisation inactive en outre la phosphatase du lait cru ainsi que d'autres enzymes, le lait pasteurisé peut être obtenu de plusieurs façons (**Guiraud, 1998**).

La pasteurisation a par conséquent pour effet non seulement d'assainir le lait, mais aussi d'en prolonger la durée de conservation. Le lait pasteurisé n'est tout fois pas stérile, et doit être refroidi rapidement jusqu'à 5°C et gardé réfrigéré, afin d'éviter la prolifération des bactéries thermorésistantes.

Il existe deux types classiques de pasteurisation dans le cas du lait :

- Pasteurisation basse, réalisée par un chauffage à 36°C/ pendant 30min.
- Pasteurisation haute, par HTST (High Température Short Time), s'effectue entre 72 et 80°C /15s.

D'après **Brulé et al, (2008)**, pasteurisation Flash -85- 90°C/1-2 second, est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne.

La destruction des bacilles tuberculeux est souvent prise comme référence par le choix du barème de pasteurisation (**Jeantet et al., 2008**).

1- L'objectif de l'étude

Notre étude a été réalisée sur le lait de vache cru et pasteurisé, afin de :

- Evaluer ses qualités bactériologiques et physico-chimiques.
- Déterminer si les conditions d'hygiène au niveau des fermes ainsi que chez les commerçants étaient respectées.
- Si le lait répandait des point de vue sanitaire aux normes microbiologique et physico-chimique édictées par le Journal Officiel de la République Algérienne (J.O.R.A N : 35 du 27 mai 1998).

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 (ITMA).

Notre étude s'est déroulée sur une période d'un mois (du 16 mars au 15 avril 2015).

3- Protocole expérimental

Le protocole expérimental réalisé sur le lait de vache cru et pasteurisé se résume dans le schéma suivant :

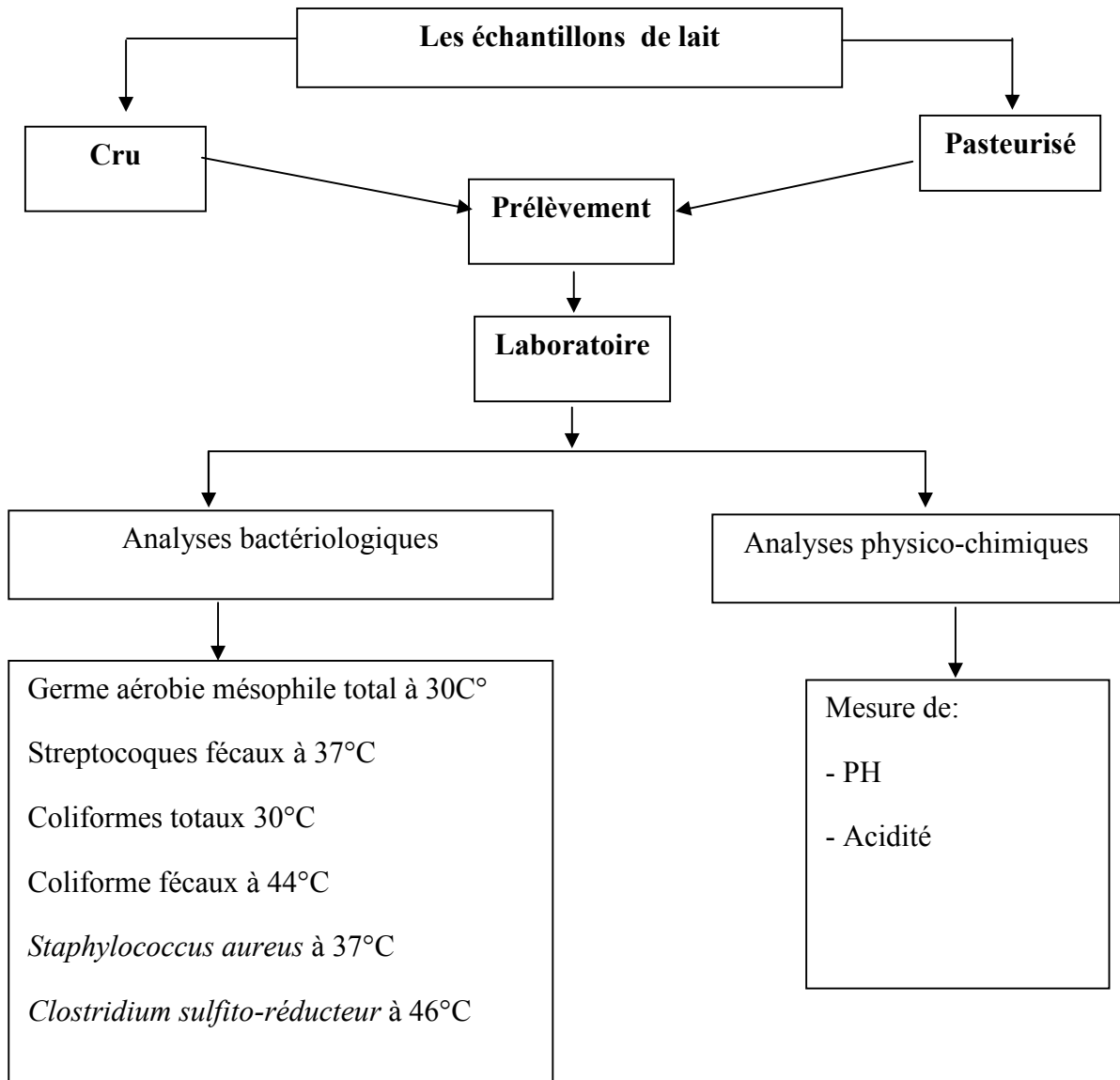


Figure n°2 : Protocole expérimental

4- Matériels et méthodes

4-1 Matériel utilisé :

4-1-1 Appareillages et verrerie

Le matériel à usage unique est acceptable au même titre que la verrerie réutilisable, si ses spécifications sont similaires. La verrerie doit pouvoir résister à des stérilisations répétées et être chimiquement inerte.

4-1-2 Appareils pour la stérilisation

En chaleur sèche (Four) ou en chaleur humide (autoclave). Le matériel destiné à entrer en contact avec le diluant, l'échantillon pour essai, les dilutions, sauf s'il est livré stérile, doit être stérilisé.

a) soit au four, en le maintenant à une température de 170°C à 175°C pendant au moins une heure.

b) soit à l'autoclave, en le maintenant à une température de 121°C ± 1 à une pression de un bar, pendant au moins 15 minutes.

4-1-3 Produits et équipements utilisés

Le tableau suivant récapitule le matériel utilisé.

Tableau n°3 : Produits chimiques et appareillages utilisés pour les analyses physico – chimiques et bactériologiques.

	Produits chimiques	Appareillages
Analyses physico-chimiques	Phénolphthaléine (5%) ; Solution d'hydroxyde de sodium NaOH (N/9) ; Chlorure de sodium Na Cl.	Plaque chauffante Réfrigérateur pH-mètre Etuve Balances électriques
Analyses bactériologiques	Alun de fer. Sulfite de potassium.	Bain –marie Autoclave

	Emulsion de jaune d'œuf. Tellurite de potassium.	Agitateur Etuve à(30°C ;37°C ;44°C) Bec bensun
--	--	---

4-1-4 Milieux de culture utilisés pour les analyses bactériologiques (Voir Annexe I)

- TSE ;
- Milieu gélosé PCA : utilisé pour le dénombrement des germes totaux.
- Milieu gélosé VRBL : utilisé pour la recherche et le dénombrement des Coliformes.
- Milieu gélosé BP : milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des *Staphylococcus aureus*.
- Milieu gélosé VF : utilisé pour le dénombrement des *Clostridies sulfito-réducteurs*.
- Bouillon Rothe : utilisé pour effectuer le test présomptif de recherche et de dénombrement des Streptocoques fécaux.
- Milieu gélosé BEA : utilisé pour l'isolement et le dénombrement des Streptocoques fécaux (test confirmatif).
- Milieu Chapman : utilisé pour la recherche et le dénombrement des *Staphylococcus aureus*.

4-2 Prélèvement

4- 2-1 Echantillonnage

Notre étude a été réalisée sur 40 échantillons de lait de vache, soit :

- 20 échantillons de lait cru, provenant de différentes fermes de Toriche (région de Oued Lili –Tiaret).
- Pour une meilleure traçabilité, aussi 20 prélèvements ont été effectués chez les revendeurs (commerçants) cité de la belle vie, sur du lait pasteurisé conditionné ayant pour origine la laiterie de Sidi Khaled.

4- 3 Analyses de laboratoire

4- 3- 1 Analyses physico- chimiques

4- 3 - 1- 1 Mesure du pH

Principe

Le pH représente l'acidité du lait à un moment donné. On le mesure habituellement à l'aide d'un pH-mètre (AMIOT et al., 2002). La mesure de pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait.

Technique

Après avoir étalonné le pH mètre par des solutions tampon ;

- Laisser le commutateur en position pH
- Régler le bouton C° à la température du lait à mesurer.
- Plonger l'électrode dans le lait homogénéisé après un temps de mise en température appropriée, procéder à la lecture de la valeur pH du lait.

4- 3-1- 2 Détermination de l'acidité titrable

Selon MATHIEU (1998), l'acidité naturelle du lait est de 16 à 19 D, et qui signifie que le lactose n'a pas encore été transformé en acide lactique. L'acidité est exprimée en degré Dornic.

$$1^{\circ}\text{D} = 0,1\text{g d'acide lactique par litre de lait}$$

Technique

- Mesurer 10 ml de lait;
- Ajouter 2 à 5 gouttes de la solution de phénolphtaléine ;
- Remplir l'acidimètre de NaOH (N/ 9) et titrer jusqu'à l'apparition d'une couleur rose ;
- Lire directement sur l'acidimètre et noter l'acidité en degré Dornic.

4-3- 2 Analyses bactériologiques

Avant toute analyse microbiologique qui doit être réalisée dans des conditions d'asepsie, on doit effectuer une série de dilutions.

4-3-2-1 Préparation de la dilution décimale

Au moment de l'emploi, distribuer le diluant (TSE) (voir annexe N°1) à raison de 9 ml dans des tubes stériles de 20 x 200 mm (6 tubes), et les placer dans l'autoclave pour la stérilisation à 120°C pendant 15 minutes.

Une dilution au 1/10 est obtenue en transférant aseptiquement 1ml de lait (après leur homogénéisation convenable) à l'aide d'une pipette de 1ml stérile dans 9ml de diluant (TSE).

Une dilution 1/100 est obtenue en transférant 1ml de la dilution au 1/10 à l'aide d'une nouvelle pipette de 1ml stérile dans un second tube de diluant.

Procéder d'une manière identique pour les dilutions suivantes jusqu'à la dilution 1/10⁶.

Mélanger soigneusement chacune des dilutions pendant 5 à 10 secondes au moment de leur préparation et avant les ensemencements.

D'après **Kodio (2005)**, le diluant ne doit pas introduire des variations quantitatives et qualitatives dans la flore microbienne. Il doit assurer la survie de tous les micro-organismes mais ne doit pas favoriser leur multiplication. Pour cela, toutes les manipulations doivent s'effectuer avec un maximum de précision et d'une manière aseptique.

4-3-2-2 Dénombrement des micro-organismes aérobies à 30°C

Cette flore, appelée aussi FAMR (flore aérobie mésophile revifiable) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que l'état (propreté) des installations (**Guiraud, 1998**).

Technique

A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri vide.

- Compléter ensuite avec 20 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Faire ensuite des mouvements de «8» pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.
- Laisser solidifier en posant les boîtes sur une surface fraîche et horizontale.
- Placer les boîtes de pétri retournées dans une étuve à $30^\circ\text{C} \pm 1$ pendant $72 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$.
- Le délai entre la préparation des dilutions et l'introduction de la gélose dans les boîtes n'excède pas 15 minutes (**lebres et al., 2002**).

4-3-2-3 Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux sont *des Streptocoques* des matières fécales. Ils appartiennent essentiellement au genre *Enterococcus*. Leur antigène de paroi les classe dans le groupe D de lancefield. Toutefois, *Streptococcus* possède le même antigène, comme *Streptococcus bovis*, suis, equinis, sont aussi des hôtes normaux de l'intestin que l'on ne

pourra distinguer des Enterococcus que par la culture en milieu hyper salé (65g/ml) (Joffin, 1999).

La recherche des Streptocoques fécaux ou Streptocoque de groupe D de la classification de lancefield fait appel à deux tests consécutivement à savoir :

Un test de présomption

Un test de confirmation

➤ **Test de présomption**

Ils sont recherchés par culture présomptive sur milieu liquide (Rothe) après 48 heures d'incubation à 37°C.

Cette recherche est intéressante car les Streptocoque fécaux (entérocoques) sont de bons indicateurs de contaminations. Sont considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble microbien.

➤ **Test de confirmation**

La gélose Bile-Esculine-Azide est utilisée pour la différenciation des streptocoques du groupe D de Lancefield.

Technique

A partir d'un enrichissement sur milieu liquide de Rothe, agiter les tubes de Rothe « positifs ». Prélever un ose bouclé et isoler sur une boîte de gélose Bile-Esculine-Azide. Incuber à l'étuve à 37°C pendant 24 et 48 heures.

Les colonies de Streptocoques du groupe D, sont petites, translucides et entourées d'un halo noir (esculine positive)

4-3-2-4 Dénombrement des coliformes à 30°C et des coliformes fécaux à 44°C

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).

Technique

Le dénombrement s'effectue sur le milieu VRBL, les dilutions s'effectuent comme pour la technique précédente, les boîtes sont ensemencées par 1 ml du produit ou de ses dilutions, le milieu fondu et refroidi à 45°C est ajouté. L'incubation a lieu pendant 24 heures à 30 ou à 37°C pour les coliformes (totaux) et à 44°C pour les coliformes thermotolérants (Guiraud, 1998).

Une première lecture est faite après 24 heures, compter les colonies rouges d'au moins 0.5 mm de diamètre.

4-3-2- 5 Recherche et dénombrement des *Staphylococcus spp*

La recherche et le dénombrement des *Staphylococcus aureus*, les seuls à produire éventuellement une entérotoxine protéique cause d'intoxication alimentaires, permettent donc de savoir si l'aliment présente des risques pour le consommateur (Joffin, 1999).

Principe

De nombreux milieux sont utilisables pour l'isolement et la numérotation directe :

- Le milieu Chapman mannite contient une forte teneur en NaCl (7.5 %) et inhibe la croissance de nombreuses bactéries autres que les *Micrococcus* et *Staphylococcus* (Guiraud, 1998).
- Le milieu Baird Parker solide ; qui est le milieu de choix en microbiologie alimentaire.

Tellurite et jaune d'œuf sont apportés au moment du coulage.

Le milieu qui a été utilisé est celui de Baird Parker.

Préparation de du milieu

Après avoir fondu un flacon contenant 100ml de gélose Baird Parker, on l'a refroidit dans un bain d'eau à 45°C et on a ajouté 5ml d'une solution de jaune d'œuf au tellurite de potassium à 1%.

Après étalement de l'inoculum (0,1ml de la solution mère) et incubation durant une période de 24 à 37°C.

Les *Staphylococcus spp* donnent des colonies noires (réduction de tellurite en tellure), avec un halo clair dû 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* non pathogènes sont souvent inhibées ou se développent de manière irrégulière (Guiraud, 1998).

4-3-2- 6 Dénombrement d'Anaérobies sulfito-réducteurs

La recherche des anaérobies Sulfito-réducteurs est réalisée dans deux buts différents :

Colostridium perfringens de type A est recherché car parfois responsable d'intoxication alimentaire.

Les clostridies sulfito-réducteurs (ou leur spores), bactéries commensales de l'intestin ou saprophyte du sol, comme test de contamination fécale, éventuellement ancienne vu la résistance des spores à l'extérieur.

Clostridium perfringens fait parties des *Clostridium sulfito-réducteurs* (Joffin, 1999).

Technique

- Introduire dans un tube stérile 20 ml de la dilution mère 10^{-1} les mettre au bain marie à 80°C pendant 10mn environ, puis refroidir rapidement sous courant d'eau froide.
- Ensemencer avec 1 ml du lait chauffé un tube contenant la gélose viande foie (VF) plus additifs (alun de fer et sulfite de sodium; ajouter quelques gouttes d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose, incubé à 46°C pendant 48h.
- les Clostridies sulfito-réducteurs apparaissent sous forme des colonies, entourés d'un halo noir.

Expression des résultats

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivants :

- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ;
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

Calcul

On calcule le nombre de micro-organisme (N) par ml à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1n_2) \cdot d}$$

Où :

c : nombre de colonies comptées par boîte.

n_1 : nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n_2 : nombre de boîtes comptées dans la deuxième dilution.

d : facteur de dilution à partir du quel les premiers comptages ont été obtenus.

1. Analyses physico-chimiques

1.1 pH

La mesure du pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait (**Luquet, 1985**).

Les valeurs du pH à 20°C des différents échantillons étudiés sont présentées dans le tableau n°4.

Tableau n°4 : Valeurs de pH

	Minimum	Maximum	Moyenne
Lait cru	5,99	6,7	6,44
Lait pasteurisé	6,1	6,6	6,11

Lait cru

Dans notre étude, le pH de lait cru varie de 5,99 à 6,7 avec une moyenne de 6,44.

Lait pasteurisé (conditionné).

Les valeurs de pH de lait pasteurisé conditionné varient de 6,1 à 6,6 avec une moyenne de 6,11. Cette moyenne est légèrement inférieure par rapport à celles du lait cru.

Le pH du lait frais normal de vache est de l'ordre de 6,7 (**Mathieu, 1998**). Le pH de nos échantillons reste dans les normes (légèrement acide). Cette acidité naturelle caractérise le lait frais d'une acidité développée issue de la transformation de lactose en acide lactique par divers types de micro organismes (**Mathieu, 1998**).

1.2 Acidité titrable

Le lait de vache est légèrement acide en sens qu'il faut lui ajouter une solution basique pour le neutraliser, plus précisément pour entraîner le changement de couleur d'un indicateur coloré.

On exprime couramment l'acidité d'un lait en degré Dornic, officiellement et par convention, on la donne en gramme d'acide lactique par litre de lait (**1 °D = 0,1g/ l**) (**Mathieu, 1998**).

Les valeurs des analyses de l'acidité sont illustrées dans le tableau n°5 :

Tableau n°5 : Valeurs de l'acidité.

	Minimum (°D)	Maximum (°D)	Moyenne (°D)
Lait cru	14	18	15,35
Lait pasteurisé	17	21	18.9

L'acidité des échantillons de lait cru est globalement acceptable avec une moyenne de $15,35 \pm 1^\circ\text{D}$, deux échantillons soit, 10% ont une acidité égale à 18°D avec une valeur maximale de 18°D , valeur respectant les normes internationales du lait de vache.

Concernant le lait pasteurisé les valeurs varient de 17°D à 21°D avec une moyenne de 18.9°D .

L'acidité est due principalement à la présence de protéines, surtout les caséines et la lactalbumine, de substance minérales, telles que les phosphates et le CO_2 , et les acides organiques, le plus souvent l'acide citrique (**Vignola, 2002**).

2. Analyses bactériologiques

Les germes dénombrés sont considérés comme des indicateurs de la qualité globale du lait et des pratiques d'hygiène. Les résultats obtenus ont permis d'évaluer les contaminations cumulées de la production.

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

NB : Les deux tableaux indiquant les critères microbiologiques de lait de vache cru et pasteurisé conditionné, selon le Journal Officiel de la République Algérienne (**J.O.R.A N°35 du 27/05/1998**) se trouvent dans la partie des annexes (voir annexe II).

Nos résultats d'analyses bactériologiques du lait de vache (Cru et pasteurisé) sont mentionnés dans les tableaux récapitulatifs suivants (N°6 et N°7) :

Tableau n°6 : Résultats des analyses bactériologiques du lait cru de vache

Flore (ufc/ml)	Minimum	Maximum	Moyenne	Normes (ufc/ml) (J.O.R.A, 1998)
FAMT	$1,01 \cdot 10^2$	$2,9 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^4$	10^5
Streptocoque fécaux	-	-	-	Absence/0.1 ml
Coliforme totau				
Coliforme fécaux	$1,5 \cdot 10^2$	$1,65 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^3$	10^3
<i>Staphylococcus aureus</i> .	$1,8 \cdot 10^2$	$8,55 \cdot 10^2$	$5,1 \cdot 10$	Absence
<i>Clostridium sulfito-réducteur</i>	-	-	-	50

Tableau n°7 : Résultats des analyses bactériologiques du lait Pasteurisé Conditionné

Flore (ufc/ml)	Minimum	Maximum	Moyenne	Normes (ufc/ml) (J.O.R.A, 1998)	
Germe aérobie à 30C°	10^2	$4,95 \cdot 10^5$	$7,6 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5$	
Coliforme totaux	$1,6 \cdot 10^2$	$1,8 \cdot 10^5$	$9,6 \cdot 10^3$	*sortie d'usine	1
				*à la vente	10
Coliforme fécaux	$1,5 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$1,7 \cdot 10$	*sortie d'usine	Absence
				*à la vente	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	$2 \cdot 10^2$	10	Absence	

2.1 Germes aérobies mésophiles totaux (ou Flore Mésophile aérobie totale)

Le tableau suivant (N°8) regroupe les valeurs du dénombrement des germes totaux :

Tableau n° 8: Flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Echantillons	Minimum	Maximum	Moyenne	Pourcentage % de contamination
Lait cru	$1,01 \cdot 10^2$	$2,9 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^4$	5%
Lait pasteurisé	10^2	$4,95 \cdot 10^5$	$7,6 \cdot 10^4$	25%

Nos résultats, selon le tableau N° 8, montrent que nos échantillons de lait cru analysés contiennent une charge variable de la FMAT, située entre $1.01.10^2$ et $2.9.10^5$ UFC/ml, avec une moyenne de $1.7.10^4$ UFC/ml.

Selon la norme fixée par l'arrêté interministériel aux spécifications microbiologiques (**J.O.R.A N° 35 du 27 Mai 1998**), qui limite la présence des germes totaux aérobies dans le **lait cru** à un seuil d'acceptabilité maximal de 10^5 UFC/ml, tous nos résultats obtenus sont considérés comme satisfaisants, à l'exception d'un seul échantillon qui est considéré comme insatisfaisant.

Nos résultats, toujours selon le tableau N° 8, ont montré une contamination de 25% (à savoir 04 échantillons) des échantillons de **lait pasteurisé**, par les germes aérobies totaux, avec des taux compris entre 10^2 et $4.95.10^5$ et une moyenne de $7.6.10^4$ UFC/ml. Alors que 75% des échantillons analysés ont montré des taux conformes aux normes fixées par **le J.O.R.A N° 35 du 27 Mai 1998** qui fixe un seuil de 3.10^4 UFC/ml.

La contamination de 25% des échantillons peut être due, entre autres :

- Défaut de pasteurisation.
- Manque d'hygiène

Cela indique que la qualité microbiologique finale et la durée de conservation du lait pasteurisé dépend bien de l'hygiène, au cours des opérations d'obtention, de conservation et de transport du lait cru (**Mahouz, 2007**).

La désinfection rigoureuse des appareils par les désinfectants et les détergents ainsi que l'éducation du personnel sont également nécessaires pour l'obtention d'une prolongation de la durée de conservation du lait pasteurisé (**Karim et müusavi, 1981**).

2.2 Streptocoques fécaux

Nous avons noté la présence de streptocoques fécaux dans quatre (04) échantillons de lait cru, soit 20%. Selon la législation Algérienne, il devrait y avoir absence de ces germes dans le lait. Ces germes proviennent d'une contamination fécale et peuvent éventuellement jouer un rôle dans les intoxications alimentaires (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Dans les échantillons pasteurisés, nous avons observé une absence de ces germes ce qui implique, probablement, l'efficacité du traitement thermique.

2.3 Les coliformes

Le dénombrement des coliformes dans le lait permet la mise en évidence d'une contamination fécale par des entérobactéries pathogènes. Le lait est une substance favorable à la survie et au développement des coliformes (**Guiraud, 1998**).

Les tableaux N° 9 et N° 10 montrent les valeurs de contamination de nos échantillons par des coliformes fécaux et totaux :

Tableau n° 9: Coliforme fécaux.

	Minimum	Maximum	Moyenne	Pourcentage % de contamination
Lait cru	$1,5 \cdot 10^2$	$1,65 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^3$	40%
Lait pasteurisé	$1,5 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	$1,7 \cdot 10$	10%

Tableau n° 10 : Coliforme totaux.

	Minimum	Maximum	Moyenne	Pourcentage % de contamination
Lait cru	-	-	-	-
Lait pasteurisé	$1,6 \cdot 10^2$	$1,8 \cdot 10^5$	$9,6 \cdot 10^3$	15%

2-3-1 Coliforme fécaux

On appelle coliformes fécaux ou coliformes thermotolérants, les germes capables de se développer à 44°C. Cette catégorie inclut essentiellement *Escheriachia coli* (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Nos résultats représentés dans le tableau N° 9, montrent une contamination fécale des échantillons (Contamination de 40% pour le lait cru et 10% pour le lait pasteurisé).

La présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale récente, car ces bactéries sont commensales de l'intestin et ne peuvent survivre en dehors de l'intestin très longtemps, et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produit par les matières fécale (**Barthe et al, 1998**).

On peut suggérer que cette contamination, est probablement due :

- Défaut d'hygiène du personnel.
- Défaut de désinfection du matériel utilisé lors de la traite.
- Non respect du protocole de décontamination du matériel et des locaux.
- Mauvaise conditions de stockage ou de protection du lait.

2-3-2 Coliformes totaux

D'après les résultats du tableau N° 10, nous avons noté une présence de germes, dans le lait pasteurisé, qui dépasse la norme officielle (**J.O.R.A N° 35 du 27 Mai 1998**) et qui limite les coliformes totaux du lait pasteurisé à 1UFC/ml.

Lorsqu'ils sont en nombre élevé, les coliformes peuvent provoquer des intoxications alimentaires (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Ces résultats, favorisent notre hypothèse qui suggère qu'il existerait, probablement, un problème au niveau de la tuyauterie reliant le pasteurisateur au tank de stockage.

2.4 *Staphylococcus spp*

Par sa richesse le lait constitue un milieu favorable au développement des *staphylococcus spp*, la production de l'entérotoxine alimentaire s'exerce en un temps court sous une température ambiante (**Joffin et Joffin, 1999**).

Nos résultats pour le **lait cru**, montrent un taux de staphylocoques qui varie de $1.8.10^2$ à $8.55.10^2$ UFC/ml avec une valeur moyenne de $5.1.10$ UFC/ml (contamination de 20%

(Voir annexe N° II). Le nombre de *Staphylococcus spp* dans tous nos échantillons de lait cru dépassait la norme fixée par le Journal Officiel de la République Algérienne qui parle d'une absence des *staphylococcus* dans le lait.

Le danger de la présence de ce germe provient du fait que cette bactérie produit une entérotoxine responsable des intoxications alimentaires (**Berche et al., 1988**). Ce germe pouvant être à l'origine des infections mammaires ou des infections cutanées (panaris, plaies infectées) (**Broutin et al., 2005**).

Nos analyses du **lait pasteurisé** ont montré une absence de *staphylococcus* dans 80% des échantillons et comme pour le lait cru, une contamination de 20% des échantillons était remarquée (Voir annexe N° II).

D'après nos résultats pour le lait, on peut suggérer, qu'il peut s'agir des staphylocoques présents sur la mamelle et qui rejoignent le lait lors de la traite (plaies, pis non lavés avant traite), ou de staphylocoques portés par le trayeur. De ce fait, la contamination serait due à une mauvaise hygiène du trayeur et à des mauvaises habitudes de traite, comme le trempage des doigts dans le lait pour lubrifier la mamelle, mauvaises conditions de stockage et de conditionnement.

2.5 Anaérobies sulfito-réducteurs

Nous avons enregistré, pour tous nos échantillons de lait (cru, pasteurisé), une absence totale des anaérobies sulfito-réducteurs. Leur présence aurait traduit une contamination fécale ou par le sol, récente ou ancienne et peut suspecter la présence du *Clostridium perfringens A*, parfois responsable d'infection (**Joffin, 1999**).

Conclusion

Notre étude avait pour objectifs d'évaluer les qualités bactériologiques et physico-chimiques du lait de vache cru et pasteurisé, dans le but de déterminer si les conditions hygiéniques et sanitaires avaient un effet sur la qualité hygiénique du lait.

Ce qui nous a permis de conclure que les laits pasteurisés commercialisés pouvaient aussi constituer une source de danger pour le consommateur, malgré un traitement thermique appliqué au niveau de l'usine. L'analyse bactériologique avait révélé la présence de germes pathogènes et témoins de contamination sur le lait pasteurisé conditionné et le lait cru, d'où la conclusion que les règles d'hygiène n'étaient pas respectées lors du conditionnement ainsi que lors du stockage chez les commerçants, probablement. Nos analyses ont montré aussi la présence de germes pathogènes (*Staphylococcus spp*), ce qui tendrait à suspecter, pour le lait cru, des infections de la mamelle, contamination par les porteurs humains lors de la traite ou le long de la filière d'acheminement vers l'usine.

Suite à ces résultats, pour le lait pasteurisé conditionné, il est fort probable, qu'un problème existerait au niveau de la tuyauterie entre le pasteurisateur et le tank de stockage, au niveau de la laiterie.

Il est donc indispensable qu'une meilleure prise en main pour le contrôle des conditions d'hygiène de la vache laitière au consommateur soit entreprise. Les éleveurs aussi doivent être sensibilisés sur les pratiques des règles d'hygiène.

Une meilleure maîtrise de la qualité hygiénique du lait pourrait permettre un abaissement des températures de pasteurisation, ce qui aboutirait à un lait de meilleure qualité nutritionnelle et organoleptique.

Références bibliographiques

ADRIAN, J.; POTUS, J.; FRANGUE, R. (1995).La Sciènes alimentaire de A à Z. Edi Tec et Doc Lavoisier, Paris. P 325.

ALAIS C., 1984. Science du lait ED SEPAIC. Paris, P 814.

AMIOT, J.;FOURNIER, S.L.; LEBEUF, Y.; PAQUIN, P et SINPSON, R. (2002).

Composition, propriétés Physico-chimique, valeur nutritive, qualité technologique et technologie d'analyse du lait in VIGNOLA C.L. Sciences et technologie du lait : transformation du lait. Ecole polytechnique de Montréal. Québec. Pp 4-54.

BARTH.C, PERRON.J, PERRON.J.M.R, 1988.Guide d'interprétation des paramètres microbiologique d'intérêt dans le domaine de l'eau potable, ministère de l'environnement du Québec, P 155.

BENHEDANE Née BACHTARZI, N. (2012).Qualité microbiologique du lait cru destiner à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est Algérien, mémoire de magister en Sciences Alimentaires, université Mentouri – Constantine. Pp 4-5 -12.

BERCH, P.; LOUIS, G.J.; SIMONET, M. (1988).Bactériologie, les bactéries des infections humaines. Edition Flammarion, Médecin. Sciences Paris : Pp 594-567.

BRULE, G. ; JEANTET, R.; GROGUENNEC, T. ; MAHAIT, M et SCHACK, P. (2008).Les produits laitiers Ed. Tec et Doc. Lavoisier, Paris, Pp1-19.

CAYOT, G et LORIENT, D. (1998).Structure et techno-fonction des protéines du lait Cd : Tec et Doc, Lavoisier. Paris : Pp 3-22

CHILIARD et LAMBERT, (1987).La lipolyse du lait dans (le lait matière première de l'industrie laitière), CIPIL, Paris. CIRAD-FAO. France : Pp 244-249.

DECARRAS, C. (2007).Microbiologique pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Ed Tec et Doc, Lavoisier, Paris, Pp 96-230.

DELLARRAS, C. (2007).Microbiologie pratique pour laboratoire. Ed Tec et Doc Lavoisier, France, P 476.

FREDOT, E. (2007).Connaissance des aliments, bases alimentaire et nutritionnelles des déictiques. Edi, Tec et Doc Lavoisier. Paris, Pp 9-22.

GADOUD, R.; JOSEPH, M.M.; JUSSIAU, R.; LIBERNEY, M.J.; MANGEOL, B.; MONTMEAS, L.; TARRIA, A. (1992).Nutrition et alimentation des animaux d'élevage – collection, INRAP. Les Edition fourché. Paris, P 44.

GHAOUES, S. (2011).Evaluation de la qualité physicochimique et organoleptique de cinq marques de lait reconstitué partiellement écrémé commercialisés dans l'est Algérien. Mémoire de magister, Sciences Alimentaire, Technologie Alimentaire. Université Mentouri –Constantine, P 5

GUIRAUD, J.P. (1998).Microbiologie alimentaire « microbiologie des principaux produits alimentaires » .Ed ; Dunod. Paris, Pp 136-137-651

GUIRAUD, J.P.; ROSEC, J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR, P 95.

JEANTET, R.; CROUGUENNEC, T.; SCHACK, P.; BRULE, G. (2007).Science des aliments. Edi Tec et Doc Lavoisier. P 27.

JEANTET, R. ; GROGUENNEC, T. ; SCHACK, P. (2008). Lait. Sciences des Aliment, biochimie, microbiologie procédée, produits – technologie de produits Alimentaire- Ed. Tec et Doc Lavoisier ; Pp8-29.

JOFFIN, C. ; JOFFIN, N. (1999).Microbiologie alimentaire 5^{ème} Edi, bordeau, Ed centre régional de documentation pédologie D'aquitaine, P 124, 143

JOURNAL OFFICIELN°35. (1998).Arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires : 7.

KARIM, G. ;MÛUSAVI, M. Z. (1981).Flore microbienne du lait pasteurisé de la région de Téhéran :Université de Téhéran, B.P.3262, Téhéran (Iran) : 25-529.

KODIOA. (2005).Qualité de produits laitiers de production industrielle et artisanale. Thèse de doctorat d'Etat en pharmacie. Faculté de médecine de pharmacie et d'ontostomatologie Bamako. Université du Mali, P 63.

LARPENT, J.P. (1997).Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire (TEC&DOC) : P 10-73

LUQUET, F.M. (1986).3 Qualité- Energie et Tables de composition- lait et produits laitiers vache, Brebis

LEBRES, M.; AZIZI, D.; HAMZA, H.; TALEB, F. (2002).Manuel des Travaux Pratiques. Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments. Institut Pasteur d'Algérie.

MAHOUZ, F. (2007).Suivi et évaluation de la qualité hygiénique du lait de vache dans la région de Tiaret. Mémoire de magistère en Science Vétérinaire, université Ibn Khaldoun, Tiaret, P 56

MATIEU, J. (1989) Initiation de la physicochimie du lait Edi. Tec et Doc Lavoisier. Paris. Pp 5- 220.

PAQUIN, P.;MOIREAU, M.; POULIOT.M.; SIMPSON, K. (2002).Science et Technologie du lait, transformation du lait. Ed. Tec et Doc, Lavoisier. P 600.

PACCALIN, J.; GALANTIER, M. (1986).Valeur nutritionnelle du lait et du produit laitiers, Ed. Tec et Doc. Lavoisier, Paris, P 101

PARAF, A.; PELTER, G. (1992).Immuno-analyses pour agriculture et alimentation. Edi INRA. Paris, Pp 201- 203.

PETRANSXIENE, D. ; LAPIÈD, L. (1981).Qualité bactériologique du lait et des produits. Laitiers. 2^{ème} Ed ; Tec et Doc Lavoisier. Paris, P 228.

TREMOLIERES, J. ; SERVILLE, Y. ; JACQUET, R.; DUPAIN, H. (1980).

Manuel d'alimentation humaine les aliments. Tome 2. Edi E-S-F. Paris, Pp 166 -174.

VEISSEYRE, R. (1979).Technologie du lait.3 Edi la maison rustique. Paris, Pp1- 3-45

VIGNOLA, C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada, Pp 3-75.

WALTER, R. (1997).Alimentation de la vache laitière. 3^{ème} Edi. France Agricole. Paris, Pp 2-3.

Annexe I

1. Milieux et Réactifs utilisés

1-1 TSE (liquide de dilution)

Tryptone 1g

Eau distillée 1000 ml

pH : 7

Répartir en tubes à essais (09-10ml).

Stérilisé en 121°C pendant 152 minutes.

1-2 Milieu Rothe

Le milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement de Streptocoque fécaux dans les denrées alimentaires, ce milieu sert au test présomptif.

Formule(en gramme par litre d'eau distillée)

- Milieu simple concentration

Hydrolysat trypsine de caséine 12,6

Peptone bactériologique 8

Glucose 5

Chlorure de sodium..... 5

Phosphate dipotassique 2,7

Phosphate monopotassique..... 2,7

Azide de sodium..... 0,2

-Préparation

Mettre 36.2 g de poudre dans un litre d'eau distillée.

1-3 Milieu BEA

Formule(en gramme par litre d'eau distillée)

Pastone.....	17
Peptone pepsique de viande	3
Extrait de levure	5
Bile de bœuf déshydratée.....	10
Chlorure de sodium	5
Citrate de sodium	1
Esculine	1
Citrate de fer ammoniacal	0, 5
Azide de sodium	0,25
Agar	13

Préparation

Mettre 56 g de poudre dans un litre d'eau distillée.

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

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

1-3

Milieu Baird Parker(BP)

Formule (en gramme par litre d'eau distillée)

Peptone	10
Extrait de viande de bœuf	4
Extrait de levure	2

Pyruvate de sodium	10
Chlorure de lithium	5
Glycocolle	12
Agar	1

Préparation

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

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

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

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

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

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

1-5 Milieu V.F (gélose viande foie pour germes sulfite-réducteur)

Extrait viande foie : 30g

Glucose

2g

Amidon

2g

Gélose

12g

Répartir en tubes à essais (20ml). Autoclave 20 minutes à 115°C ajouter avant emploi par tube de milieu en suspension, 0,5 ml 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).

1-6 Milieu VRBL (Gélose Lactoses Biliée au cristal Violet et au rouge neutre)

Composition

Peptone	10g
Lactose	10g
Déoxycholate de sodium	0,5g
Chlorure de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Agar agar	12 à 15g
Rouge neutre	0,03g
Eau distillée	1000ml

Préparation

La préparation est extemporanée. Préparer la quantité nécessaire ne pas stériliser à l'autoclave.

Faire dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant à ébullition. Refroidir le milieu en le maintenant dans un bain d'eau à $45 \pm 0,5$ °C

1-7 Milieu PCA (Plate Count Agar)

La gélose standard pour dénombrement est préparée selon la norme française N.F.04-505 et les recommandations de l' (American public association).

Elle est utilisée pour le dénombrement des aérobies totaux dans les eaux, le lait, les viandes et les produits à base de viande, et autres denrées alimentaires.

Formule

Tryptone	5g
Extrait de levure	2,5g

Glucose	4g
Gélose(Agar)	9g
Eau distillée	1dm ³

Préparation

Mettre 23,5g de poudre dans un litre d'eau distillée.

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

homogène.

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

Stériliser à 121°C pendant 152 minutes. Répartir en boîte Pétri (contenant éventuellement l'inoculum).

1-8 Milieu Chapman**Formule**

Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Gélose	15g
Extrait de la viande	1g
Mannitol	10g
Rouge de phénol	25ml
Eau distillée	1000ml

pH =7

Préparation

Autoclavé 15minutes à 120°C, répartir en boîte de Pétri.

Annexe II

Résultats de nos analyses physico-chimiques et bactériologiques du lait (cru et pasteurisé)

Tableau n°11 : Résultats de nos analyses physico-chimiques du lait pasteurisé conditionné (Laiterie de Sidi Khaled)

N° échantillon	Lait pasteurisé	
	pH	Acidité
E1	6.48	19
E2	6.5	18
E3	6.53	19
E4	6.52	20
E5	6.53	19
E6	6.3	21
E7	6.5	18
E8	6.57	19
E9	6.38	18
E10	6.26	17
E11	6.1	21
E12	6.44	18
E13	6.47	19
E14	6.45	19
E15	6.46	18
E16	6	21
E17	6.6	20
E18	6.5	19
E19	6.4	18
E20	6.25	17

**Tableau n°12: Résultats de nos analyses physico-chimiques du lait cru de vache
(fermes de la région de Toriche Oued Lili-Tiaret)**

N° échantillons	Lait cru	
	pH	Acidité
E1	6.37	14
E2	6.52	15
E3	6.56	15
E4	6.22	14
E5	6.62	17
E6	6.7	18
E7	6.3	15
E8	6.53	14
E9	6.43	15
E10	6.32	16
E11	6.48	15
E12	5.99	14
E13	6.61	16
E14	6.44	15
E15	6.39	16
E16	6.35	15
E17	6.44	14
E18	6.62	18
E19	6.47	16
E20	6.57	15
Normes	6.7	16 à 18

Tableau n°13 : Résultats de nos analyses bactériologiques du lait pasteurisé conditionné (Laiterie de Sidi Khaled)

N° Echant	Germes aérobie à 30 C° (10 ³)	Coliforme totaux (10 ²)	Coliforme fécaux (10 ²)	Staphylococcus aureus
1	0.1	1.8	-	Absence
2	0.318	1.9	-	Absence
3	0.15	2.75	-	Absence
4	0.323	-	-	Présence
5	0.309	-	-	Absence
6	0.4	3.4	-	Absence
7	0.531	2.34	-	Absence
8	0.527	869	-	Présence
9	0.436	9.42	-	Absence
10	0.459	21.6	-	Présence
11	230	3.2	1.5	Présence
12	30	1.6	-	Absence
13	0.427	3.3	-	Absence
14	0.918	12.2	-	Absence
15	0.56	4.6	-	Absence
16	305	1.6	2	Absence
17	220	5.6	-	Absence
18	495	8.9	-	Absence
19	0.28	28	-	Absence
20	235	6.45	-	Présence

**Tableau n°14 : Résultats de nos analyses bactériologiques du lait cru de vache
(fermes de la région de Toriche Oued Lili-Tiaret)**

N° Echant	Germes aérobie à 30 C° (10³)	Coliforme fécaux (10³)	Streptocoque fécaux	Staphylococcus aureus	Clostridium sulfito-réducteur
1	1.35	0.17	Présence	Absence	absence
2	0.16	165	Absence	Absence	absence
3	0.436	0.166	Absence	Absence	absence
4	0.318	0.17	Absence	Absence	absence
5	0.309	0.15	Absence	Présence	absence
6	290	0.718	Absence	Absence	absence
7	0.101	0.559	Absence	Présence	absence
8	0.625	1.66	Absence	Absence	absence
9	0.513	2.6	Absence	Présence	absence
10	0.377	0.54	Présence	Présence	absence
11	2.82	1	Absence	Absence	absence
12	24.4	0.89	Absence	Présence	absence
13	1	1.03	Absence	Absence	absence
14	0.19	1.73	Absence	Absence	absence
15	0.18	1.1	Absence	Absence	absence
16	15.7	1.27	Absence	Absence	absence
17	0.663	0.97	Absence	Absence	absence
18	0.175	0.4	Absence	Absence	absence
19	0.719	0.708	Absence	Absence	absence

20	0.418	1.01	Présence	Absence	Absence
----	-------	------	----------	---------	---------

Tableau n°15 : Normes bactériologique du lait cru (selon le J.O.R.A N°35 du 27 Mai 1998)

Les germes recherchés	N	C	m	M
Germes aérobies à 30°C	1	—	10 ⁵	10 ⁶
Streptocoques fécaux	1	—	abs/0.1 ml	
Coliformes fécaux	1	—	10 ³	10 ⁴
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	Absence	Absen ce
<i>Clostridium sulfito-réducteur</i> à 46°C	1	—	50	5.10 ²

Tableau n°16: Normes bactériologique du lait pasteurisé (selon le J.O.R.A N°35 du 27 Mai 1998)

Les germes recherchés	N	C	m	M
Germes aérobies à 30°C	1	—	3.10 ⁴	3.10 ⁵
Coliformes : *sortie usine *à la vente	1	—	1 10	10 10²
Coliformes fécaux : *sortie usine *à la vente	1	—	absence absence	absen ce absen ce
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	Absence	Absen ce

m : seuil au dessous duquel le produit est considéré étant de qualité satisfaisante. Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants.

M : seuil limite d'acceptable au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme non toxique.

M=10 m lors du dénombrement effectué en milieu solide.

M = 30 m lors du dénombrement effectué en milieu liquide.

n : nombre d'unité composant d'échantillon.

C : Nombre d'échantillons

Annexe III

Présentation graphique

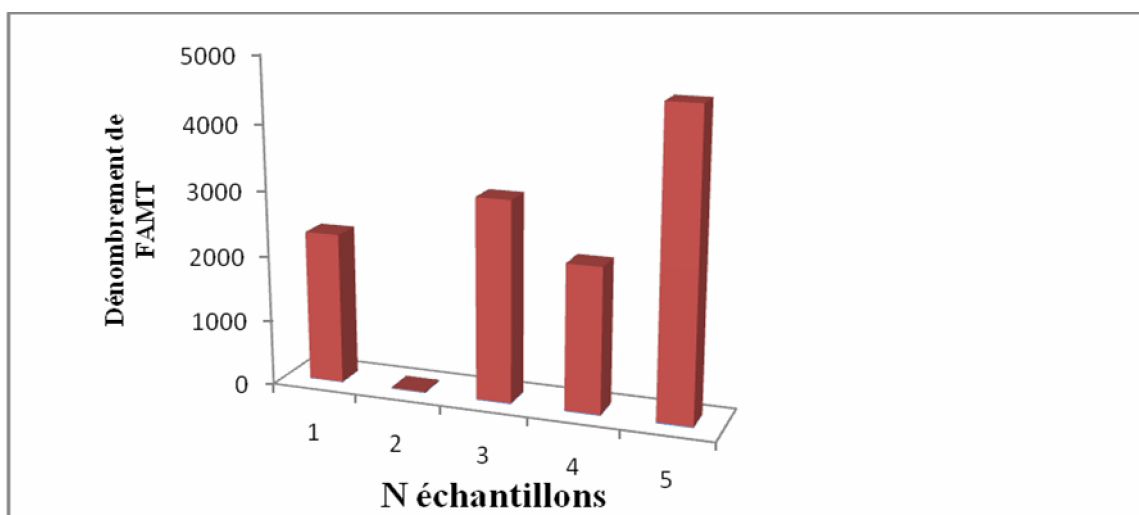


Figure n° 3 : Présentation des échantillons contaminés par germes aérobies (cru)

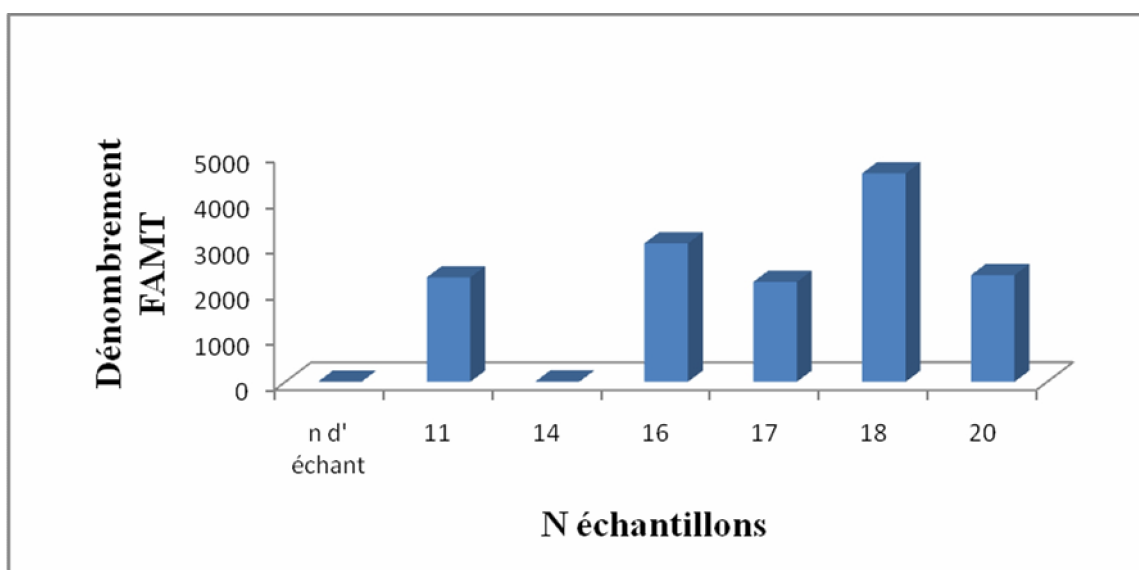


Figure n° 4 : Présentation des échantillons contaminés par germes aérobies (lait pasteurisé)

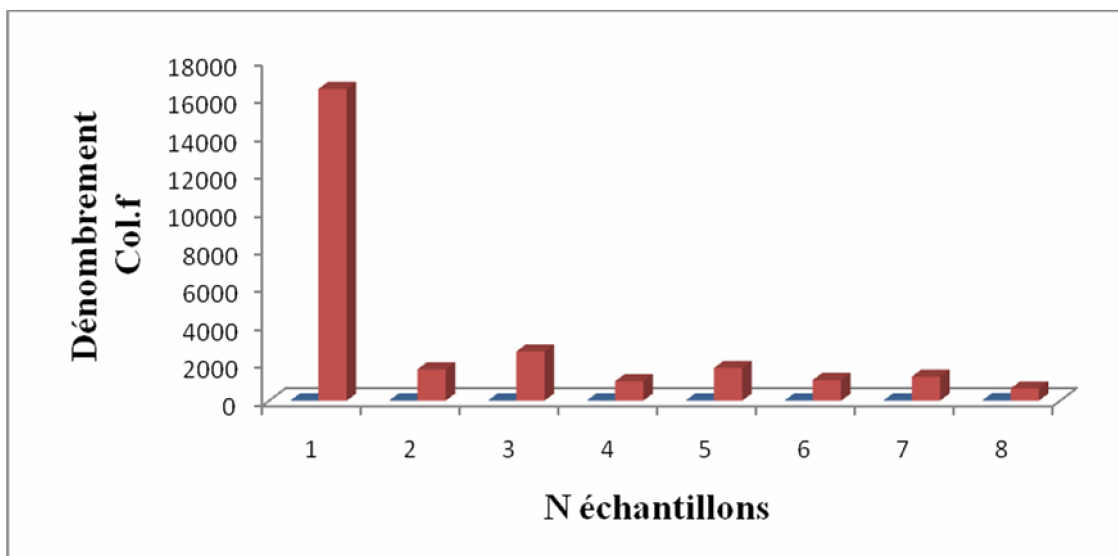


Figure n° 5 : Présentation des échantillons contaminés par Coliforme totaux (lait cru)

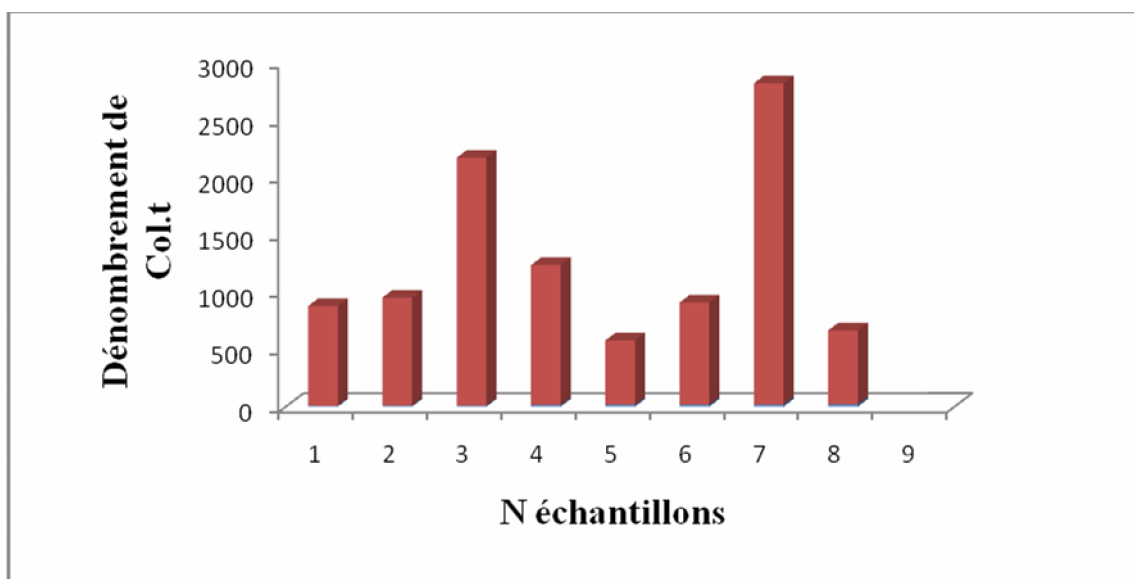


Figure n° 6 : Présentation des échantillons contaminés par Coliforme totaux (lait Pasteurisé)

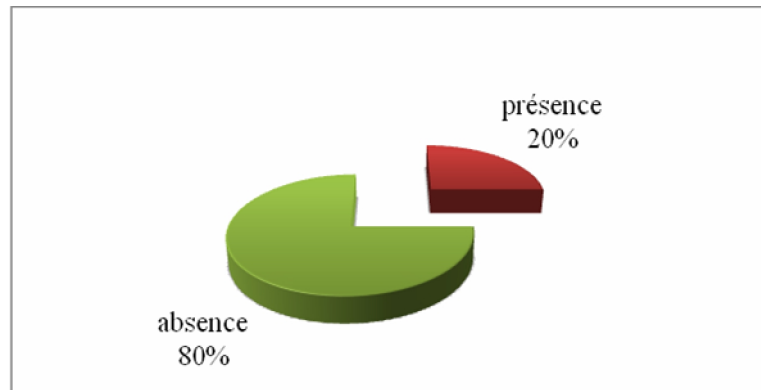


Figure n°7 : contamination par *Staphylococcus aureus* (lait cru)

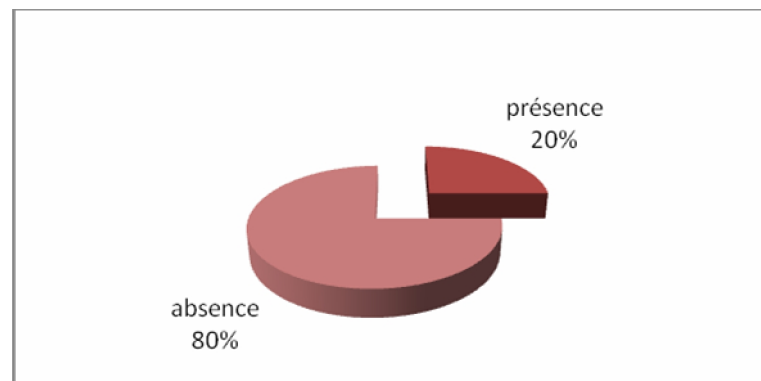


Figure n°8 : contamination par *Staphylococcus aureus* (lait Pasteurisé)

Annexe IV

Photos de quelques résultats de nos analyses bactériologiques

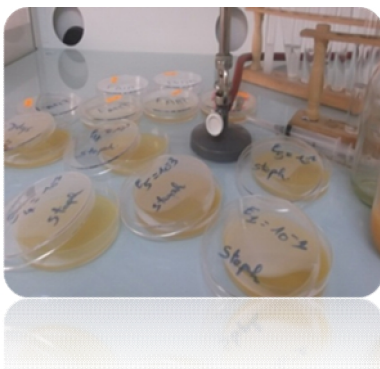


Photo n°1 : boîtes de Pétri contenant les germes



Photo n°2: *Staphylococcus aureus*

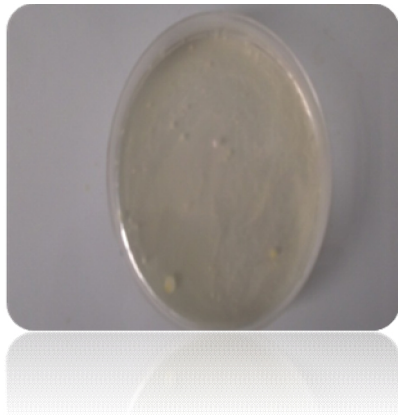


Photo n°3 : Germes aérobies
(pour lait pasteurisé)

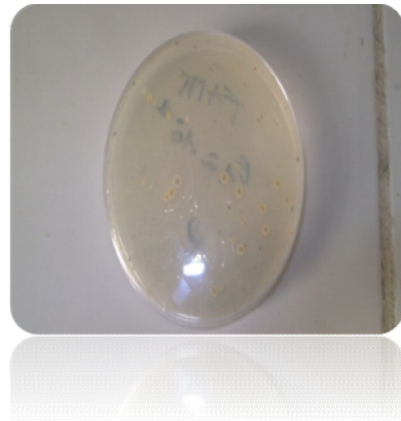


Photo n°4: Germes aérobies
(pour lait cru)

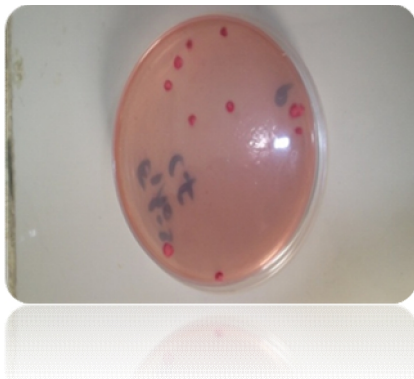


Photo n° 5 : Coliforme fécaux (pur lait cru)



Photo n° 6 : Coliforme totaux
(pour lait pasteurisé)

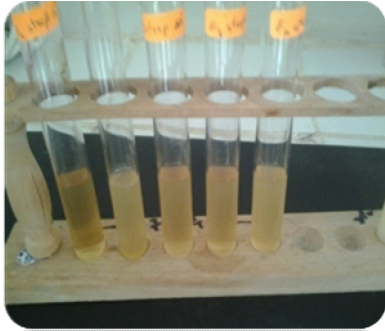


Photo n° 7 : Streptocoques fécaux
n°8 : Anaérobies sulfito-réducteurs

photo

Résumé

La présente étude a consisté à évaluer la qualité hygiénique du lait de vache cru et pasteurisé par des analyses bactériologiques et physico-chimiques.

40 échantillons de lait cru et pasteurisé ont été analysés pour leur qualité physico-chimique et hygiénique. Les résultats ont montré une contamination de ces derniers, 20 % de tous nos échantillons de lait cru et pasteurisé sont contaminés par les *staphylococcus aureus*. Le danger de la présence de ce germe provient du fait que cette bactérie produit une entérotoxine responsable des intoxications alimentaires, ce qui peut représenter un réel danger pour le consommateur.

Une contamination fécale (Coliformes fécaux et totaux) de 40% pour le lait cru et de 15% pour le lait pasteurisé, témoignerait de l'application des mauvaises conditions hygiéniques. Suite à ces résultats, pour le lait pasteurisé conditionné, il est fort probable, qu'un problème existerait au niveau de la tuyauterie entre le pasteurisateur et le tank de stockage, au niveau de la laiterie.

Il est donc indispensable qu'une meilleure prise en main pour le contrôle des conditions d'hygiène de la vache laitière au consommateur soit entreprise. Les éleveurs aussi doivent être sensibilisés sur les pratiques des règles d'hygiène.

Mots clés: Lait cru, lait pasteurisé, qualité bactériologique, caractéristiques physico-chimiques.