



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE E POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHESCIENTIFIQUE
UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTEUR VETERINAIRE

THEME :

Etude physicochimique du lait cru de vache

PRESENTE PAR :

-ACHI Amina

-AIT MOHAMED Amer Imene

ENCADRE PAR:

- Dr: Aggad: H.

Année universitaire : 2016-2017

Dédicace :

Je dédie ce travail à ma très chère famille, à mon père : Kada, ma chère mère, que j'aime tant, sans lesquels je ne serai jamais arrivée là où je suis.

Mes sœurs chéries chacun par son propre nom, et a mon chère frère Hamada, mes cousins et mes cousines de m'avoir Soutenu sur tout le plan durant mon cycle.

Je dédie ce travail à la famille Bousmaha , Boudali, et Rayah

Je dédie ce travail à tous mes amies, particulièrement à Naghmouch Hanane, kharchach Mama Iman, et a mon ami Boudali Zinalabidin.

Je dédie ce travail à toute ma promotion de l'institut vétérinaire de Tiaret(Algérie).

Enfin je dédie ce travail à mon encadreur **Mr AGGAD.H.**

Achi Amina

Dédicace :

Je dédie ce travail à

Mon père et Ma mère

Que j'aime tant, sans lesquels je ne serai jamais arrivée là où je suis.

A mon petit frère Walid et A kouceila et la famille ait Abderrahmane

A ma chère cousine Sara Auld Ali A mon oncle Djaferould-Ali et A

toute ma famille ainsi que mes amies Amina, Hanane, Mama, Fatiha
et Fatima ,

A tous ceux qui sont absents sur les lignes mais présents dans le cœur

Enfin je dédie ce travail à mon encadreur **Mr AGGAD.H.**

Ait Mohamed Amer Imene

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier *Allah* de nous avoir donné la force, le courage, l'intelligence et la sagesse de bien achever ce travail avec amour et patience.

Nos sincères remerciements s'adressent particulièrement à notre encadreur **Mr AGGAD.H** pour sa précieuse aide, ces orientations et le temps qu'il nous a accordés pour notre encadrement avec patience et abnégation malgré ces Multiples préoccupations.

Nous remercions profondément tous les enseignants qui nous ont encouragés et soutenus pendant notre cursus

Nos remerciements les plus sincères et les plus profondes sont adressés à :

Tous les responsables et le personnel pour leurs entières disponibilités et coopérations lors de la réalisation de ce travail.

Un très grand merci, à l'ensemble du personnel du laboratoire et tous les employeurs de l'université pour leurs aides leurs conseils et pour leurs complicités.

Mes remerciements s'adressent à tous mes professeurs de l'Institut vétérinaire De Tiaret.

Enfin nous remercions, tous ceux qui ont partagé avec nous les moments, les plus difficiles pour la réalisation de ce travail et tous ceux qui nous ont souhaité la réussite.

Liste des abréviations

°D : Degré Doronic.

µg : Microgramme.

µm : Micromètre.

PV: Poids vif

Cal : Calorie.

Cl: Chlore.

JORA : journal officiel de république algérienne.

M.G : matière grasse.

M.S : matière sèche.

T.C : Taux des cendres.

A.F.N.O.R : Association française de normalisation

Art : Article.

AW: activité d'eau.

FAO: L'organisation pour l'alimentation et de l'agriculture.

I.S.O : Organisation internationale de standardisation.

J.O : Journal Officiel.

N : Normalité.

UI : Unité internationale

SOMMAIRE

Dedicace.....	01
Remerciements.....	03
Sommaire.....	04
Liste des tableaux.....	09
Liste des figures.....	10
Liste des abréviations.....	11
Introduction.....	13

Partie bibliographique

1. Définition du lait.....	15
2. Définition du lait cru.....	15
3-définition de lait de vache.....	15
3. Composition chimique du lait.....	15
3.1. Eau.....	17
3.2. Glucides.....	17
3.3 Matières azotées et protéines.....	17
3.4 Matières grasses.....	18
3.5. Matières .salines.....	19
3.6. Vitamines.....	20

3.7. Oligoéléments.....	20
3.8. Les lipides.....	20
3.10. Les enzymes.....	21
4. Propriétés physiques du lait.....	21
4.1 Aspect.....	22
4.2 Densité et masse volumique.....	22
5. Propriétés physico-chimiques.....	22
5.1. Le pH du lait	23
5.2. L'acidité du lait.....	24
5.3. La densité.....	24
5.4. La viscosité.....	24
6. Composition biologique du lait.....	24
6.1. Flore microbienne du lait.....	25
6.2. Flore originelle.....	25
6.3. Flore de contamination.....	26
2. Qualité du lait.....	26
2.1. Définition de la qualité du lait:.....	26
2.2. Les composants de la qualité.....	26
2-3.les paramètres de la qualité.....	26

2.3. Qualité organoleptique :	27
A- couleur.....	28
B -L'odeur.....	29
C -La saveur.....	29.
D -la viscosité	29
2.4. Qualité nutritionnelle.....	30
2.5. Qualité hygiénique.....	31
2.5.1. Alimentation.....	31
2.5.2. Traitement contre les nuisibles.....	31
2.5.3. Résidus des médicaments vétérinaires	32
2.6. Qualité microbiologique.....	32
2.6.1. La flore originelle	32
2.6.2. La flore de contamination	34
3. Les facteurs influençant la qualité du lait.....	35
3.1. Variation qualitatives.....	35
3.1.1. Hérités.....	35
3.1.2. Alimentation.....	35
3.1.3. Stade de lactation.....	36
3.1.4. Effet du moment de la traite.....	36
3.1.5. Niveau de production.....	36

3.2. Variation quantitative.....	37
3.2.1. Influence des facteurs liées aux animaux	37
La race	37
3.2.2. Influence des facteurs extrinsèques.....	37
A-Alimentation.....	37
B-Facteurs climatiques et saisonniers.....	38
B.1.Traite.....	38
B.2.Stockage et conservation du lait.....	38
B.3. Collecte.....	39
B.4.transport.....	39

Partie expérimental :

1. objectif de l'étude.....	41
2. protocole expérimentale.....	41
3. matérielles utilisées :.....	42
3.1matérielles utilisées pour les analyses bactériologiques.....	43
3.2appareille utilisées pour la stérilisation.....	43
3.3. Produits utilisés pour les analyses bactériologiques.....	43
4. analyses effectuées	43
4.1echantillonnage.....	44

4.1.1 Lieux et périodes de travail.....	44
4.1.2 les prélèvements.....	44
4.1.3 conditions de prélèvement.....	44
4.2 préparations de l'échantillon.....	45
4.2.1 décontamination.....	45
Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	46
La Recherche et dénombrements des staphylocoques.....	47
La recherche de la désoxyribonucléase.....	48

Résultats et discussion

1- Analyses bactériologiques.....	50
1.1. Flore mésophile aérobie totale.....	50
1.2. Staphylocoques aureus	51
1.3. Clostridies sulfite-réducteurs	52
Conclusion.....	53
Liste des références.....	55
Les Annexes.....	59

Liste des tableaux

Tableau N°01 : Composition moyenne et distribution des protéines du lait.....	17
Tableau N°02 : Concentration des minéraux et des vitamines dans le lait.....	19
Tableau n°03 : Caractères physiques du lait cru.....	27
Tableau n°04 : Qualité organoleptique du lait.....	29
Tableau n°05 : Flore originale du lait	33
Tableau n°06 : Germe contaminant le lait cru.....	33
Tableau n°07 : les matérielles utilisées	42

Listes des figures

Figure°1 : Composition globale du lait de vache avec le détail de sa composition minérale	15
Figure N°2 : source de contamination de lait cru par les différents microorganismes.....	35
Figure n°003 : les différentes étapes d'analyses.....	41
Figure n°004 : Staphylococcus aureus.....	51
Figure n°005 : Clostridies sulfito-réducteurs.....	52

Introduction:

Le lait cru désigne un lait animal brut, qui n'a pas subi de pasteurisation de stérilisation de thermisation de microfiltration.

un lait cru n'a jamais excédé la température de 40 degrés Celsius ,c'est-à-dire proche de la température du corps de l'animal ,chez les animaux sains le lait sort de la mamelle sous forme quasi-stérile ,mais les mammites sont nombreuses et cela en résulte souvent par des contaminations avec staphylocoques streptocoques ou Escherichia coli , le lait peut ensuite être contaminé par la terre , la paille ,les déjections, sources riches en micro- organismes sporulés (Bacilles ,Clostridies), Microcoques, Salmonelle et Listeria et aussi les machines à traire les cuves de stockage, dont le but est grâce au refroidissement de limiter la croissance des germes en général, mais qui ne pourront empêcher l'augmentation des germes psychrophiles comme pseudomonas ,les pays interdisant la commercialisation de lait cru fondent leurs jugements sur un historique de TIAC mettant essentiellement en cause les salmonelles, Escherichia coli et la Listeria.

Le lait de vache est très utilisé dans l'alimentation humaine, il contient les trois types de nutriments principaux (glucides, lipides, protéines) des sels minéraux tels que le calcium et les phosphates des vitamines, ainsi que l'hormone de croissance du veau.

Pour un éleveur les deux caractéristiques principales qui font la qualité du lait de ses vaches sont :

Le taux de matières azotées totales également appelé ou taux protéique TP : le taux de matières grasses également appelé taux butyreux ou TB, Ces taux varient en fonction des races

Définition du lait :

Selon l'arrêté interministériel, le lait doit répondre à certaines spécifications réglementées par les articles suivants :

Art.2 :

La dénomination «lait» est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique.

Art.3:

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.

Art.4 :

La dénomination «lait» sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination «lait», suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.

Art.5 :

Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire (**JORA N°69, 1993**)

Définition du lait cru :

Le lait cru est un produit intéressant sur le plan de la nutrition, c'est un produit vivant et fragile, il est uniquement réfrigéré à la ferme et maintenu à une température inférieure à 10 C°, il n'a subi aucun traitement thermique et conserve toute la flore microbienne d'origine, il est donc impérativement vendu et consommé dans quelques jours qui suivent la traite (**GALAZY et GUIRAUD, 1980**).

Définition de lait de vache :

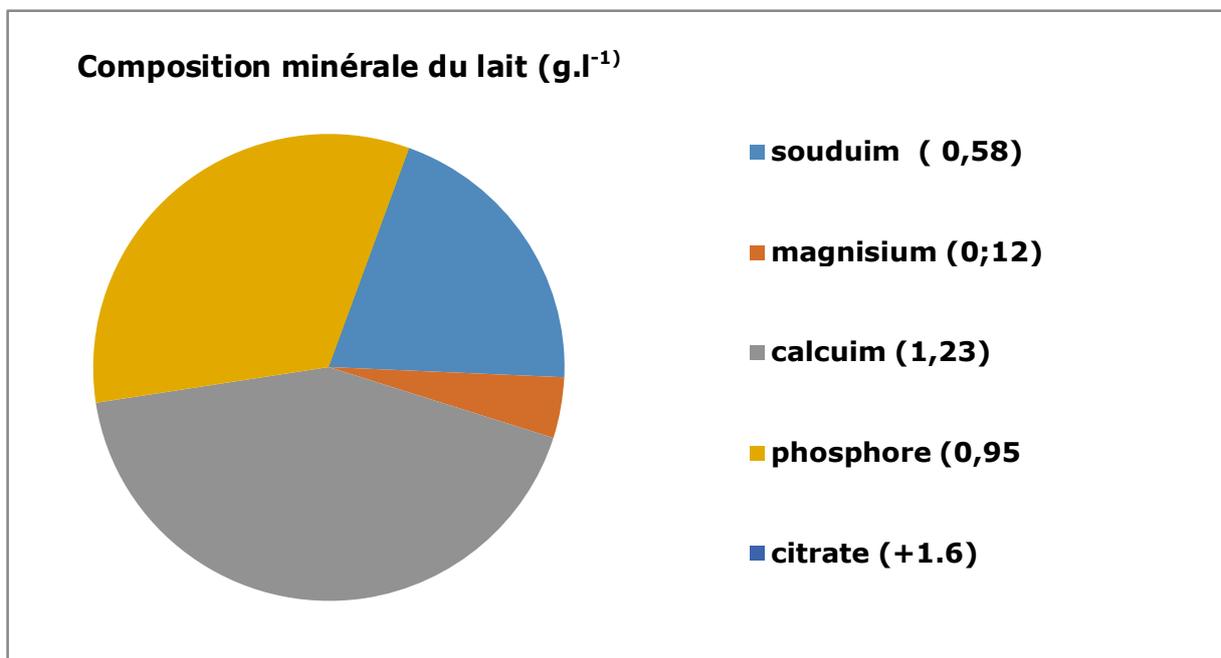
Le lait destiné à l'alimentation humaine a été définie en 1908 lors des premiers congrès internationaux pour la répression des fraudes alimentaires, comme "produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum" (**larpent, 1997**).

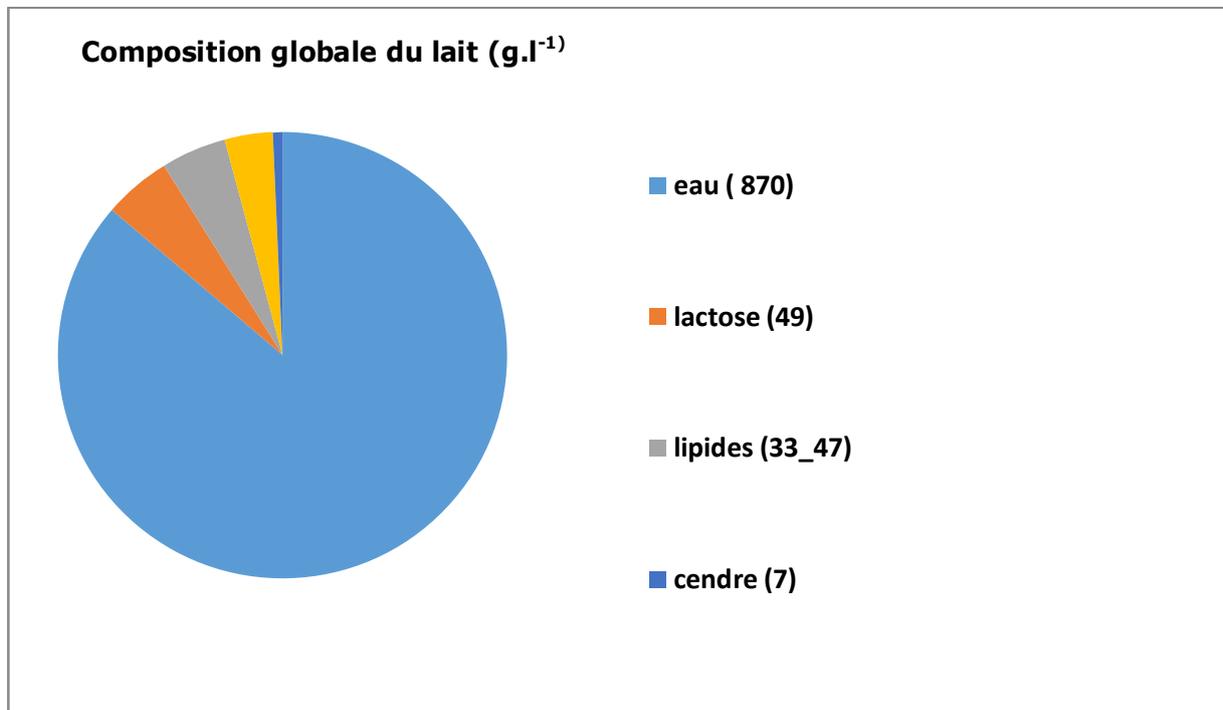
Composition chimique du lait de vache :

Le lait est un mélange complexe constitué à 90 % d'eau qui comprend :

- une solution aqueuse contenant les sucres, les protéines solubles, les minéraux et les vitamines hydrosolubles.
- une solution colloïdale contenant les protéines en particulier les caséines
- une émulsion de matières grasses dans l'eau, la densité du lait est de 1,034g/ml, le pH est proche de la neutralité 6,6 à 6,8.

Figure°1 : Composition globale du lait de vache avec le détail de sa composition minérale





1-Eau:

C'est de loin le composé le plus abondant : 902 g par litre. En elle, sont dispersés tous les autres constituants du lait et tous ceux de sa matière sèche (MATHIEU, 1998).

2- les glucides :

Le lactose est un disaccharide constitué d'une unité galactose et une unité glucose. sa synthèse s'effectue dans les cellules lactogènes à partir du glucose sanguin en présence de galactosyl-transférase et d' α -lactalbumine. Avec une concentration de 48 à 50g/l, le lactose représente environ 97% des glucides totaux du lait de vache. Il participe au maintien de la pression osmotique dans le système mammaire en association avec les éléments minéraux du lait (K, Na, Cl). (ROMAIN et al. 2008)

3.3 Eau :

c'est de loin le composé le plus abondant : 902 g par litre en elle sont dispersés tous les autres constituants du lait et tous ceux de sa matière sèche (MATHIEU).

3- Matières azotées et protéines (matières azotées totales) :

La dénomination « matières azotées totales » regroupe les protéines (Taux Protéique), ainsi

que l'azote non protéique (dont l'urée). Le TP est une caractéristique importante du lait. La teneur totale 34 à 35 g/L.

Les protéines du lait représentent 95% des matières azotées totales.

Les 5% restants sont constitués :

- d'acides aminés libres et de petits peptides
- d'azote non protéique, essentiellement de l'urée (0,3 à 0,4 g/L) mais aussi de la créatinine, de l'acide urique.

Les protéines sont constituées soit d'acides aminés seulement (β -lactoglobuline, α -lactalbumine), soit d'acides aminés et d'acide phosphorique (caséines α et β) avec parfois encore une partie glucidique (caséine k). Une vingtaine d'acides aminés interviennent dans la composition de ces protéines, leur séquence conférant à chaque protéine des propriétés propres. C'est sur la base de la précipitation à pH 4,6 (à 20°C) ou sous l'action de la présure qu'on sépare deux constituants : la

ou plutôt les caséines (a, b, g et k) et les protéines solubles ou protéines du lactosérum.

Les protéines du lait forment un ensemble assez complexe constitué de :

- 80% de caséines,
- 20% de protéines solubles : lactalbumines, lactoglobulines, sérum albumines, immunoglobines .

Ces protéines ont des origines différentes :

- 90% des protéines du lait sont synthétisées par la mamelle (et sont spécifiques du lait), les Caséines sont entièrement synthétisées par la mamelle, les lactoglobulines sont des protéines Sanguines modifiées par la mamelle.
- 10% des protéines du lait (sérum albumines, immunoglobulines) proviennent directement du sang.

TABLEAUN°1 : composition moyenne et distribution des protéines du lait (ROMAINET AL2008)

	Proportion	Composition moyennes (g/l)
total	100	34
protéines	95	32.3
Caséines:		
α caséine	46	12
βcaséine	34	9
k caséine	13	3.45
γcaséine	7	1.85
Protéines solubles :		
β-lactoglobine	5	2.9
α-lactalbumine	22	1.3
sérum-albumine	5	0.3
globuline immunes	12	0.7
protéoses peptones	10	0.6
Substances azotée non protéiques	5	1.7

4-Matières grasses:

La teneur en matière grasse des laits de vache varie entre 3.3 et 4.7 % suivant la race, le stade de lactation, la saison, etc. Elle est fortement corrélée à la teneur en protéines. Les constituants lipidiques sont d'une part prélevés dans la circulation sanguine et d'autre part synthétisés dans Les cellules épithéliales de la glande mammaire et secrétés dans la lumière des alvéoles sous forme de globules gras dont le diamètre moyen est d'environ 4µm (ROMAIN et al, 2008).

Elles sont constituées essentiellement (99%) de Triglycérides (triesters du glycérol avec divers acides gras saturés), (APFELBAUM et al, 1995).
 Détaille à la fois la teneur (pour 100 g de matière grasse) et la (ou les) localisations principale(s) des lipides du lait.

5- Matières salines :

Les minéraux (ou matières salines) sont présents dans le lait (7,3 g/litre environ), soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale).

Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement bio disponibles.

Les autres (calcium, phosphore, magnésium et soufre) existent dans les deux fractions.

Dans la fraction soluble, ils existent en partie sous forme libre (calcium et magnésium ionisés), en partie Constituants lipidiques Proportions Triacyl glycérols 97.5 Diacylglycérols 0.36 Monoacylglycérols 0.027 Acides gras libres 0.027 Cholestérol 0.31 Hydrocarbures Traces Caroténoïdes 0.008 Phospholipides 0.6 sous forme saline (phosphates et citrates) non dissociée (calcium et magnésium), ou encore sous forme complexe (esters phosphoriques et phospholipides)

Dans la fraction colloïdale, les minéraux (calcium, phosphore, soufre et magnésium) sont associés ou liés à la caséine au sein des micelles (ADRIAN et al, 1995)

Tableau N°02 : concentration des minéraux et des vitamines dans le lait (MICHEL ET WATTIAUX 1998.)

Minéraux mg/100ml		vitamine	g/100ml du vitµ
Potassium	138	Vit A	30
calciums	125	Vit D	0.06
chlores	103	Vit K	88
phosphores	96	Vit E	17
sodiums	58	Vit B	137
soufres	30	Vit B2	180
magnésium	12	Vit B6	45
micro-minéraux	0.1≥	Vit B12	0.4
		Vit B12	1.7

6-Vitamines :

Ce sont des substances organiques qui a l'état de trace, permettent la croissance, l'entretien le fonctionnement de l'organisme celui-ci est généralement incapable de les synthétiser le lait figure parmi les aliments qui

contiennent la plus grande variété de vitamines toute fois les teneurs sont souvent assez faible (VEISSEYRE 1997).

On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamines de groupe B et vitamine C) en quantités constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) en quantités variables dépendant de facteurs exogènes (race, alimentation, radiation solaire, etc.) (ROMAIN et al 2008).

Vit A	500-1000 ut (hiver)...2000-3000 ut (été)
Vit D	15-20 UI
vitamines liposoluble	
vit E	1, 2 mg
vit K	0,02-0,2 mg
Vit B1.....	0, 3-1 mg
vitamines hydrosolubles	
Vit B2.....	0, 8-3 mg
Vit PP	1-2 mg
Acide pantothéniques.....	2-5 mg
Vit B6	0,3-1 mg
vit* B12.....	1-8 mg
Vit C.....	10-20 mg

Teneur moyenne des vitamines par litre de lait
--

7-Les oligo-éléments :

Leurs teneurs en oligo-éléments dans le lait varient fortement mais, au-delà de certaines limites, elles sont l'indice d'une contamination du lait et présentent un caractère toxique pour la santé et/ou nuisible en technologie laitière. Les teneurs en oligo-éléments du lait données dans la littérature (tableau 9) sont seulement indicatives, dans la mesure où elles subissent l'influence de divers facteurs (alimentation, stade de lactation, etc.) et dépendent aussi des méthodes utilisées. D'une manière générale, le lait constitue pour l'homme une mauvaise source d'oligo-éléments. Ils s'y trouvent le plus souvent à des taux relativement modestes, et lorsque les taux semblent plus proches des besoins, ils sont présents sous forme inorganique (de moindre biodisponibilité). C'est le cas notamment du cuivre et du manganèse, très liés aux groupements phosphates de la caséine. Dans une certaine mesure le zinc (et le fer) font exception à cette règle.

7.1. Le fer :

Le lait est pauvre en fer (0,6 mg/kg), c'est donc pour l'homme une mauvaise source de fer, moins en raison de sa teneur (comparable à celle du lait humain) qu'en raison de sa biodisponibilité. Le fer du lait de vache est lié à la caséine pour 60% environ. La teneur en fer du lait ne couvre pas les besoins du jeune dans toutes les espèces, c'est pourquoi, les jeunes naissent avec une réserve de fer stocké dans le foie. Cette réserve est normalement suffisante pour couvrir les besoins durant la période d'alimentation lactée exclusive

7.2. Le zinc:

Le zinc se trouve dans le lait de vache à des taux et sous forme nettement plus favorables pour la nutrition humaine. Il est fortement lié à la caséine (80%) mais aussi aux immunoglobulines (20%).

7.3. Le cuivre:

Le cuivre est très peu abondant dans le lait de vache et est lié aux protéines. Sous régime lacté strict, des enfants ont présenté des carences cupriques

7.4. L'iode:

Le fluor et le brome Ils ne sont trouvés dans le lait que dans la mesure où l'eau et le sol en sont pourvus. L'iode est surtout lié aux protéines, mais existe aussi sous forme libre. L'iode et le brome sont plus abondants dans les régions côtières puisque ces éléments sont apportés par les embruns et les pluies marines.

7.5. Le sélénium:

La teneur en sélénium reflète la consommation par le cheptel d'herbes produites sur un sol cémentifère. Les carences se rencontrent chez l'animal comme chez l'homme dans les régions où le sol en est particulièrement dépourvu (Nouvelle-Zélande, Chine, etc.).

7.6. Le cobalt et le manganèse:

C'est le constituant de la vitamine B12. Le manganèse est seulement présent dans le lait à des concentrations faibles

8-les lipides:

les matières grasses sont présentes dans le lait sous forme d'une émulsion de globules gras la teneur en matière grasse est appelée taux butyreux les termes matières grasse et lipide ne sont pas synonymes en effet la matière grasse obtenue par des moyens mécanique (produit de l'écémage obtenue par centrifugation représente le contenu du globule gras de ce fait elle ne contient pas les lipides polaires ou complexe (phospholipidique extra.) mais contient par contre des composés liposolubles qui ne sont pas des lipides au sens strict et que l'on nomme substance lipoïde il s'agit essentiellement d'hydrocarbures d'alcools (dont le cholestérol et vitamine E) et des vitamines liposoluble(ADK) cette fraction encore appelée insaponifiable regroupe donc des composés variés et nombreux qui en raison de leurs importance et leurs rôles seront étudié séparément même s'ils représentent moins de 1% de matière grasse total du lait , les lipides (fraction saponifiable) constituent donc l'essentiel de MG (>98%).

De tous les composants du lait de vache les lipides sont ceux qui quantitativement et qualitativement varient le plus les taux moyens précisés dans la littérature 35g/litre peuvent être retenu en pratiques industrielle lorsque le lait est un mélange provenant de plusieurs animaux.

9-Enzymes :

- Peroxydes :

_ inactivé a T 80° C pendant quelque secondes

_ utiliser pour vérifier si on atteint la température de pasteurisations (>80° C)
ou nom : test de storch.

- Catalase :

_ détruit a 75° c pendant 60 secondes

_ augmenté en cas d'une maladie.

- Phosphatase :

- Débute par la pasteurisation ordinaire : 72° c pendant 15-20 secondes

- Lipase :

_ Leur quantité est supposée augmenter vers la fin du cycle de lactation

_ inactivée par la pasteurisation.

Propriétés physiques du lait :

Aspect :

Le lait apparaît comme un liquide opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la (CUDEC, 2001).

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

Densité et masse volumique:

La masse 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).

Propriétés physico-chimiques du lait:

Le lait est un liquide opaque de couleurs blanc Chatre, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β -carotène et de sa matière grasse. Sa saveur est douce et son odeur faible, mais identifiable. Le pH est voisin de la neutralité (ADRIANE et al.1995).

Le pH du lait :

Le pH du lait frais normal est de l'ordre de 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 pH du lait frais à 20°C varie entre 6,6 et 6,8. Plutôt proche de 6,6 immédiatement après la traite, il augmente légèrement dans les heures suivantes la traite par diminution de la quantité du dioxyde de carbone dissout dans la phase aqueuse (CROGUENNEC et al.2008).

L'acidité du lait :

Le lait est légèrement acide en ce sens qu'il faut 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 Doronic ($1^{\circ}\text{D}=0,1 \text{ g}$ d'acide lactique par litre de lait), officiellement et par convention, on la donne en grammes d'acide lactique par litre du lait.

Un lait frais, 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 organisme (MATHIEU, 1998).

Densité :

Elle est de 1,032 à 20°C pour les laits de grand mélange en laitier (laits livrés en grande quantité aux laiteries). Ils ont une composition assez stable mais reflètent les races des animaux (FREDOT, 2007).

Viscosité :

Elle correspond à la résistance d'un liquide à l'écoulement. Elle est due à la présence de protéines et de matière grasse dans le lait. Elle limite la montée des matières grasses à la surface du lait, diminue lorsque la température augmente et augmente lorsque le pH est inférieur à 6 (FREDOT, 2007).

Composition biologique du lait :

Le lait est un aliment biologique qui présente un intérêt nutritionnel évident. Sa composition, ses propriétés physico-chimiques font un milieu très favorable à la multiplication des micro-organismes.

Néanmoins, la multiplication des micro-organismes naturellement présents dans le lait ne débute pas immédiatement après la traite en raison des propriétés bactériostatiques naturelles du lait.

Cette protection est efficace pendant les heures qui suivent la traite. Il faut profiter de cette période pour refroidir le lait afin de freiner la croissance microbienne (FAYE et LOISEAU, 2002).

a) Flore microbienne du lait :

Le lait est de par sa composition, un aliment de choix ; il contient des matières grasses, lactose, protéines, sels minéraux, des vitamines et de 87 % d'eau. Son pH est de 6,7, il va être un substrat très favorable au développement des microorganismes (GUIRAUD, 1998)

b) Flore originelle :

Le lait confier peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, a partir d'un animal sain (moins de 5000 grenèle et moins de 1 coliformes ml), il s'agit essentiellement de germes saprophytes microcoques, streptocoque lactique (lactococcus) et lactobacilles.

Lorsque le lait issu d'un pis qui présente une mammite ou trouve : streptocoques pyoangènes, coryébactéries pyogènes, staphylocoque.....etc.

Il s'agit aussi de germe d'infection générale

Brucella (fièvre de malte), *Listria monocytgenes* (listériose) *Mycobactérum* (tuberculose) *Bucillus anthracis* (charbon)

Les germes ordinaires du pis ne présentent pas de danger sanitaire mais peuvent se développer abondamment dans le lait. Les autres peuvent être responsables de maladies ou d'intoxications graves qui sont généralement limitées par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs (GUIRAUD, 1998)

c) Flore de contamination :

- Fèces et téguments de l'animal
- Sol
- Litières et aliment
- Air et eau
- Equipement
- Manipulateur
- Vecteurs divers (insectes en particulier)

Levures et moisissures :

Les levures associées au lait sont les espèces suivantes : *Geotrichumhansenii*, *Kluyvermyceslactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowialipilytica*, *Candida kefyri*, *Torulopsislactis –condensi* .

Les moisissures liées aux produits laitiers sont les suivantes :
Geotrichum candidum, Sporendonem sebi, Penicillum, Rhizopus,
Mucor, Cladosporium herbarum, Scopularia opsis fusca
Trichoderma viridae, Alternaria alternata, Botrytis cinerea,
Cylindrocarpum heteronema, Trichothecium roseum, Fusarium, Byssosclama
(BOURGEOIS et al., 1996)

La Qualité du lait:

2-1. Définition de la qualité du lait:

"La qualité se définit comme l'ensemble des propriétés recherchées par le consommateur. Elle implique tout à la fois la sécurité sanitaire (bactériologique et chimique), la valeur gastronomique (ou hédonique) et l'équilibre (ou valeur nutritionnelle), (ROUX, 1994).

La qualité du lait concerne sa faculté de conservation et son aptitude à être transformé avec un bon rendement en dérivés également sains, savoureux, de haute valeur nutritionnelle. (WOLTER, 1997)

2-2. Les composantes de la qualité :

La qualité de tous produits destinés à l'homme, est l'aptitude à satisfaire ses besoins. Ces derniers varient et sont issues de différentes considérations (gout, santé, services, ... etc.) et donc la qualité ne peut pas être prise comme une seule unité. Elle peut contenir différentes composantes, chacune répondant à une certaine exigence du consommateur. Les quatre composantes essentielles sont :

- La qualité organoleptique ou sensorielle et psycho-sensorielle ;
- La qualité nutritionnelle ;
- La qualité hygiénique ;
- La qualité marchande (Varlin, 1998)

Paramètres de qualité :

La qualité du lait concerne sa faculté de conservation et son aptitude à être transformé avec un bon rendement en dérivés sains, savoureux et de haute valeur nutritionnelle (Wolter, 1997).

La qualité du lait aura tendance à se baser sur des critères analytiques quantitatifs, le taux butyreux, le taux protéique, le taux de contamination en microorganismes, ainsi que les inhibiteurs de croissance de la flore microbienne (Bamouh, 2006).

1-1. Matière grasse

Le lait de vache est un aliment très riche en graisse. Cette distribution est en relation avec plusieurs facteurs à savoir l'alimentation, le stade de lactation, l'âge, la saison et la qualité du lait produit (Tremoliere et al. 1980).

L'essentiel de la matière grasse est lipidique (99,5%) constitué essentiellement de glycérides. La fraction restante malgré son faible taux (0,5%) n'a pas d'intérêt car elle est très diversifiée (Goursaud, 1985).

La valeur énergétique du lait dépend de son taux de lipides, la moyenne étant de 640 cal/litre (Derache, 1986).

1-2. Matière protéique

Le lait de vache est riche en protéines. La teneur moyenne d'un lait normal est d'environ 30 à 35 g de protéine par litre ce qui représente 95% de l'azote total présent dans le lait (Cheftel et al. 1985).

Les protéines du lait présentent un énorme avantage du point de vue économique. Sont les protéines de haute valeur biologique les moins chères (Lederer, 1985).

En plus les protéines du lait sont particulièrement importantes pour le transfert de certains minéraux et de certaines vitamines (Ribardeau, 1993).

A côté des nutriments présentant des effets favorables, il en existe certains pouvant avoir un rôle néfaste comme des contaminants (Coulon et al. 2003).

2-3. Qualité organoleptique:

Elle est représentée dans : le tableau N°03 : Caractères physiques du lait cru (LARPENT, 1997):

	Caractères normal	Caractères anormal
couleur	Blanc mat Blanc jaunâtre Lait riche en crème	Gris jaunâtre : lait de mammite Bleu, jaune : lait colore par des substances chimiques ou des pigments bactériens
		Odeur de putréfaction, de moisissure, de rance

Odeur	Odeur faible	
Saveur	Saveur agréable	Saveur sale : lait de mammite Saveur amer : lait très pollue par des bactéries
Consistance	Homogène	Grumeleux : mammite Visqueux ou coagule : pollution bactériennes

a) La couleur:

Le lait est un liquide blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates, ou par fois bleutes ou jaunâtre du fait de la beta carotène ou de la lactoflavine contenue dans la matière grasse (**jacques, 1998**).

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le β -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait) à la caséine et à la B2.

b) L'odeur:

Elles toujours faible et variables en fonction de l'alimentation de la femelle productrice.

Elle est caractéristique, en effet, le lait grâce à la matière grasse qu'il contient, fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, l'alimentation de l'animal et à la conservation du lait.

Le lait na pas d'odeur propre, il se charge facilement au contacte de récipients ma odorants, mal laves lors de l'acidification du lait l'odeur devient aigrette sous influence de la formation d'acides lactique (**chiton, 1982**).

c) La saveur:

Elle varie en fonction de la température de dégustation et de l'alimentation de l'animal.

La saveur d'un bon lait est agréable et légèrement sucre, ce qui est principalement due a la présence de matière grasse, la saveur du lait se compose de son gout et de son odeur (**haro la, 2002**).

d) la viscosité :

Elle est en fonction de l'espèce on distingue :

Un lait visqueux chez les mono gastrique (jument, ânesse, carnivores de femme).on parle de lait albumineux.

Un lait moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que le lait de la vache).le lait est dit caséux (Allais, 1984)

Tableau N°04 : Qualité organoleptique du lait (JOFFIN et JOFFIN, 2000).

Caractère examiné	Caractère normal	Caractère anormal
couleur	Blanc mat : lait normal. Blanc jaunâtre : lait riche en crème. Blanc bleuâtre : lait écrémé ou fortement mouillé.	Gris jaunâtre : lait de rétention lait de mammite bleu, jaune : laits colorés par de substances chimique (bleu de méthylène, dichromate ou par des pigments bactériens).
Odeur	Odeur faible	Odeur de putréfaction
saveur	Saveur caractéristique et agréable (variable selon le degré de chauffage du lait).	Saveur salée ; lait de rétention lait de mammite Gout amer : lait très pollué par des bactéries (quelquefois du à l'alimentation).
Consistance	Aspect homogène	Aspect grumeleux : lait De mammite. Aspect visqueux ou coagulé : lait très pollué par bacteries

2-4 Qualité nutritionnelle:

Selon **RUASSE (1990)** ; le lait apporte des protéines de bonne qualité (caséines, albumines, globulines), du calcium (environ 1200 mg/L) et du phosphore ; Le sucre de lait est le lactose. Il favorise l'absorption intestinale du calcium, mais il est parfois mal toléré (ballonnements ; diarrhée), sa consommation par les germes de la fermentation lactique lors de fabrication des yaourts et des fromages supprime ces inconvénients.

Les graisses du lait contenant principalement des acides gras saturés. C'est dans la fraction grasse que se trouvent les vitamines liposolubles (surtout vitamine A) c'est aussi dans la matière grasse que se trouve le cholestérol (environ 105 mg/L de lait entier).

Parmi les vitamines du groupe B, le lait est surtout riche en vitamine B2 (riboflavine) qui est, soluble dans l'eau, se trouve donc aussi dans les laits écrémés et leur dérivés, par contre le lait est dépourvu de vitamine C et leur dérivés, par contre le lait est dépourvu de vitamine C.

2-5 Qualité hygiénique :

L'obtention d'un lait propre et sain exige un bétail sain, des locaux propre, des conditions de récoltes satisfaisantes et une conservation du lait a base de températures jusqu'à la livraison aux consommateurs ou a la laiterie, pour éviter le développement des microbes (**Tremoline1980**).

Pour améliorer la qualité du lait, il faut éviter l'apport des micro-organismes à tous les stades de production, détruire les germes qu'on ne peut pas éviter par la chaleur, inhiber la croissance des germes qu'on ne peut pas détruire (**Bourgeois 1996**).

Le lait pour être reconnu propre à la consommation humaine ou animale, il ne doit pas contenir de résidus qui peuvent provoquer des effets néfastes tels que l'empêchement de la fermentation lactique et des difficultés en fromagerie. ces résidus regroupent les bactériostatiques, antifongique, antibiotique, qui sont présent à des proportions variables (**Barnet, 1993**).

Le lait provenant d'une vache saine et propre contient de 100.000 à 200.000 de germes /ml (**J.O.N 69.1993**).

2.5.1. Alimentation :

Compte tenu de l'utilisation finale du lait, les aliments et le fourrage destinés aux animaux laitiers ne devraient présenter aucun risque d'introduction directe ou indirecte dans le lait de contamination en quantités présentant un risque inacceptable pour la santé des consommateurs ou susceptibles de compromettre la salubrité du lait ou produits laitiers (**Codex Alimentarius, 2004**)

2.5.2. Traitement contre les nuisibles :

La lutte contre les nuisibles devrait être effectuée de manière à éviter la présence de résidus tels que les pesticides à des niveaux inacceptables dans le lait. Les nuisibles tels que les insectes et les rongeurs sont des vecteurs d'introduction de maladies humaines et animales dans les milieux de production. Une application inappropriée des substances chimiques utilisées pour lutter contre ces nuisibles peut entraîner des dangers chimiques dans le milieu de production (**codex Alimentarius 2004**)

2.5.3. Résidus des médicaments vétérinaires :

Les résidus sont des substances redoutables qui peuvent exister dans le lait. (**Harding, 1982**) l'origine de ces substances peut être à la fois, le traitement des maladies et de l'alimentation.

Les résidus regroupent les bactériostatiques, les antifongiques, et des antibiotiques qui sont présents à des proportions variables (**Barnet, 1996**).

L'usage des antibiotiques contre les infections des bovins laitiers au cours de la période de lactation se traduit par la présence des résidus dans le lait qui présentent un danger potentiel pour le consommateur (**Hillerton et al, 1998**)

2-6. Qualité microbiologique :

La maîtrise de la qualité bactériologique implique de bonnes pratiques de fabrication, de stockage et de distribution. Le contrôle de cette qualité consiste à conférer à l'aliment une protection intrinsèque contre la prolifération microbienne et de réduire le niveau de contamination du produit fini (**BOURGEOIS et LARPENT, 1991**).

Le lait constitue un milieu très favorable au développement des micro-organismes, car il renferme une teneur très importante en eau.

La laiterie est un secteur industriel où le contrôle microbiologique joue un rôle fondamental. Il peut intervenir à différents stades depuis la fabrication jusqu'à la consommation des produits finis. Il est donc nécessaire d'évaluer ces flores à incidence technologique pour pouvoir déterminer l'aptitude du lait à subir telle ou telle transformation (**BOURGEOIS et CLERET, 1980**).

2.6.1. La flore originelle :

Il s'agit essentiellement de germes saprophytes ; microcoque, streptocoque lactique ; et lactobacilles (**LARPENT, 1997**).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire, il peut s'agir d'agents de mammite (**GUIRAUD, 1998**).

Ces microorganismes, sont plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et non aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (VA mam et Sutherland, 2001). le tableau n° regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Le lait cru propre provenant d'un animal sain contient en général moins de 1000 micro-organismes par cm. Ce sont des Streptocoques lactiques (Lactococcus), des Lactobacilles, parfois des Microcoques, commensaux du pis (GRAY CLARRON, 1986).

Tableau n°05 : Flore originale du lait (Vignole, 2002).

Microorganisme	Pourcentage (%)
Microcoques sp.	30-90
Lactobacilles	10-30
Streptocoque ou lactococcus	<10
Gram négatif	<10

2.6.2. La flore de contamination :

Le lait au cours de la traite, du transport et de stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de micro organisme.

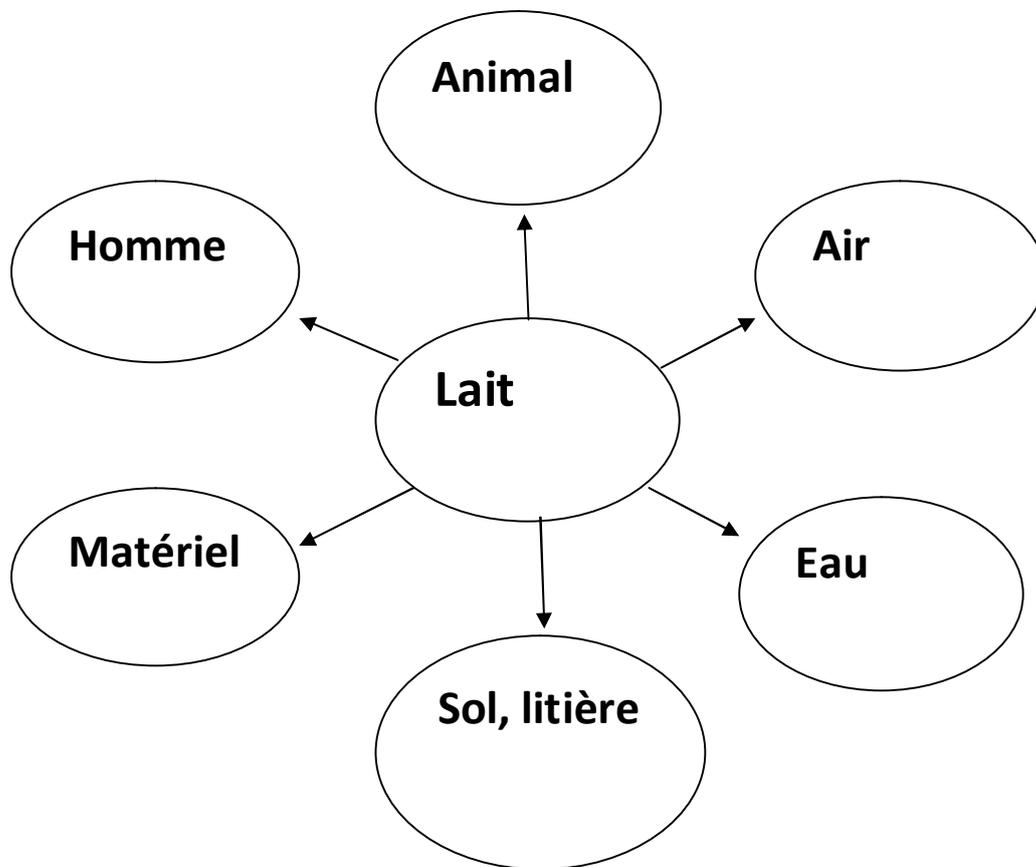
Une partie seulement d'entré eux peut de multiplier dans le lait si la température est favorable et le milieu propice. il en résulte que la nature de la flore microbienne du lait cru est a la foi complexe et variable d'un échantillon a un autre et suivant l'âge du lait (BOURGEOIS et al, 1996).

Ces contaminations par divers micro organisme peuvent provenir de l'environnement : Entérobactéries, Pseudomonas, flavobacterium, Microcoque, Corynébactéries, Bacillose...Etc., par l'intermédiaire du materiele, par le sol, herbe ou la laitière (tableau n 06 °).

Tableau n°06 : Germe contaminant le lait cru (Jakob et al, 2009).

Source de contamination		psychotropes
-Germe Gram positifs -germe sporule aérobie	Terre, poussière, foin (très répondu)	Certaine espèces
-Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
-Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
-Staphylocoque	Peau, muqueuses	Non
-Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
-Bactéries propionique	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
-Bactéries lactique	Plantes, ensilage, résidus de lait, muqueuses	Non
-Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
-Germe Gram négatifs -Coli bactéries(E-coli)	Fèces, eaux usées	Non
-Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaine espèces
-Pseudomonas	Eau, sol (très répondu)	oui
-Alcali gènes, Flavobacterium, etc.	Eau, sol (très répondu)	oui

Figure N°1 : source de contamination de lait cru par les différents microorganismes (l'arpent.1997)



3-Les facteurs influençant la Qualité du lait :

3-1. Variations qualitatives :

Les principales variations qualitatives concernent le taux de matières grasse et de protéines du lait, leurs teneurs plus ou moins grandes s'expliquent par des facteurs aussi variés que hérédité, l'alimentation, le stade de lactations et le moment de la traite.

3.1.1- Hérédité :

Les éléments du lait ont une bonne hérédité. Elle est de 0,5 et de 0,6 respectivement pour les protéines et les matières grasse (Crapelet ; 1970)

3.1.2. Alimentation :

L'alimentation intervient par la qualité de ses nutriments. C'est ainsi que des rations pauvre en cellulose s'accompagne d'une chute de taux butyreux. Cette dernière entrainerait celle du taux protéique .en effet il existe une corrélation positive entre le taux de matière grasse et la teneur en protéines du lait produit.

3.1.3. Stade de lactation :

Il peut y avoir des écarts de 4 à 6 points pour le taux butyreux et de 3 à 5 pour le taux protéique. Les taux le plus faibles se situent pendant le deuxième et le troisième mois de lactation et les plus élevés en début et surtout en fin de lactation « dixième mois », (Charron, 1986).

Le stade de lactation a une influence très remarquable sur la production laitière, particulièrement sur sa teneur en matière grasse et en matière protéique (Raimond, 1987).

3.1.4. Effet du moment de la traite :

La teneur protéines est quasi-constante du début à la fin d'une même traite alors que le taux butyreux augmente. Pour un lait total dosant 40g /L de matières grasses, le taux butyreux passe de 20g dans les premiers jets à 120g dans les derniers (Vichada, 1996).

3.1.5. Niveau de production :

Le niveau de production du lait a un effet sur la qualité du lait. Plus, le niveau de production est élevé, plus le taux de matières utiles dans le lait est faible.

Le taux de matière utilisé est inversement proportionnel au niveau de production. La Holstein par exemple, reconnue comme vache laitière haute productrice, produit une quantité importante de lait avec une faible teneur en matières utiles (Vichada ; 1996).

3-2. Variations quantitatives :

3-2-1.-Influences des facteurs liées aux animaux :

-La race :

La variation du génotype de la vache laitière a une forte influence sur le niveau de production et plus encore sur les taux notamment de matière grasse « qui commande fortement le rendement en fromage », (Walter, 1997)

On distingue des animaux spécialisés dans la production laitière, c'est le cas de l'holstein. il existe aussi des animaux dits mixtes par ce qu'ils exploitent pour la production de lait et de viande c'est le cas de Normande ou de la

Montbéliarde ; il ya enfin des races simplement allaitantes comme la Ndama, lé Gobera etc. à la saine dune même races il existe des différences individuelle.ces différences sont a la base de sélection.

Le rand de lactation a un impact sur la quantité du lait produite .il a été signale que la première lactation sont toujours inférieures aux lactations suivantes. (Milli go, 2010).cet effet s'atténue cependant a partir de la troisième lactation, laquelle correspond a la lactation adulte. Effet du rond de lactation justifie le recours a la lactation corrige, l'opération qui consiste dune jeune vache a celle dune vache adulte. Celle-ci équivaut a1, 3 fois la première lactation ou bien1, 12 fois la deuxième lactation. Cette évolution trouve son explication dans le développement des tissus mammaires dont maximum est atteint a partir de la troisième lactation, par la suite, chez les vaches âgées, il ya une sortie de vieillissement de ce même tissu, le rendant moins efficace a la production laitière.

3-2-2.-Influence des facteurs extrinsèques :

A-Alimentation :

L'alimentation constitue l'élément efficace à cours terme de faire varier le taux butyreux et protéique. Une mauvaise alimentation des vaches entraîne une chute brutale de la qualité des protéines secrétées et une diminution de la production laitière, tandis que le taux de matière grasse est plus ou moins faible (Richard .W, Matthew man).

L'alimentation semble généralement représentée la clef de voûte de l'ensemble et le premier facteur limitant.

Dans l'ordre des propriétés, il faut satisfaire pleinement les exigences en :

_ Eau d'abreuvement puisqu'elle conditionne le niveau de consommation, l'efficacité de la digestion et les facultés de sécrétion lactées.

_ Fourrage de haute qualité, très indigestible et digestible permettant de couvrir, en plus de l'entretien, une part déjà forte de la production laitière à partir de la seule ration de base.

_ Complément correcteur de la ration de base nécessaire à compenser les déséquilibres alimentaires des fourrages qui sont accentués par la simplification de la composition floristique et par l'intensification de la production végétale.

_ Complément de production, de composition standard est distribué en qualité bien ajustée aux besoins à fin d'éviter toutes sous consommation responsable de sous production comme toute surconsommation qui entraîne pleinement un phénomène de substitution coûteux et rapidement dangereux pour la santé de l'animal (Walter, 1997).

B-Facteurs climatiques et saisonniers :

Le taux butyreux et protéiques augmente généralement en hiver tandis que la production laitière diminue par contre on a une production augmentée en été (Charron, 1986)

B-1.Traite :

Elle représente une opération très importante dans la conduite d'un troupeau laitier. Elle est généralement effectuée deux fois par jours dont le lait du matin est plus pauvre que le lait du soir en matière grasse, et quelque établissement font trois traites par jours dont celui du midi est plus riche en matière grasse(Tôle, 1978).en effet une augmentation de 40 si l'on passe de deux a trois fois par jour (Vichada, 1996).Elle exige une main d'œuvres de qualité, si elle est réaliser dans de mauvaises conditions, elle peut entraîner des diminutions de production, et des accidents sanitaires (Charron, 1986).

Les facteurs inhibant l'éjection du lait (stress, douleurs, émotion) réduisent considérablement la qualité du lait.

La traite doit abêtir a certaines règles ;

- traite dans le calme ;
- assurer une bonne préparation de la mamelle ;
- traite rapidement ;

B-2_Stockage et conservation du lait :

Le lait est refroidi immédiatement après la collecte à une température plus proche possible de 0°C, qui ne doit en aucun cas dépasser +2°C. Le lait peut être conservé 2 à 3 jours à basses températures (Huchon, 1996).

Le lait doit être transporté dans un délai de 24h. La conservation de lait à basse température permet une bonne conservation des propriétés organoleptiques du lait (Richard, 1993)

B-3_Collecte :

Le refroidissement du lait permet un ramassage tout les deux ou trois jours. La chaîne du froid est interrompue, les camions citernes étant réfrigérés et le lait n'est jamais en contact de l'air ambiant, changement et déchargement s'effectuant par tuyaux (Charron, 1986)

Ce mode de transport implique le mélange des laits avec des risques de contaminations, même par des petites quantités de lait « souillés » et au cours du voyage, le lait aura subit une agitation qui peut porter atteinte à ses propriétés physico-chimiques (Auclair, 1980 et Webern ,1985).

B-4_transport :

Le transport doivent respecter certain règles l'égales afin de livrer un lait de bonne qualités, notamment par le maintien du lait dans le froid qui a pour bute d'arrêter le développement des microorganismes.il constitue un traitement de stabilisation (**Weber, 1985**)

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

Partie
Expérimental

Matérielles
Et Méthodes

1. Objectifs de l'étude :

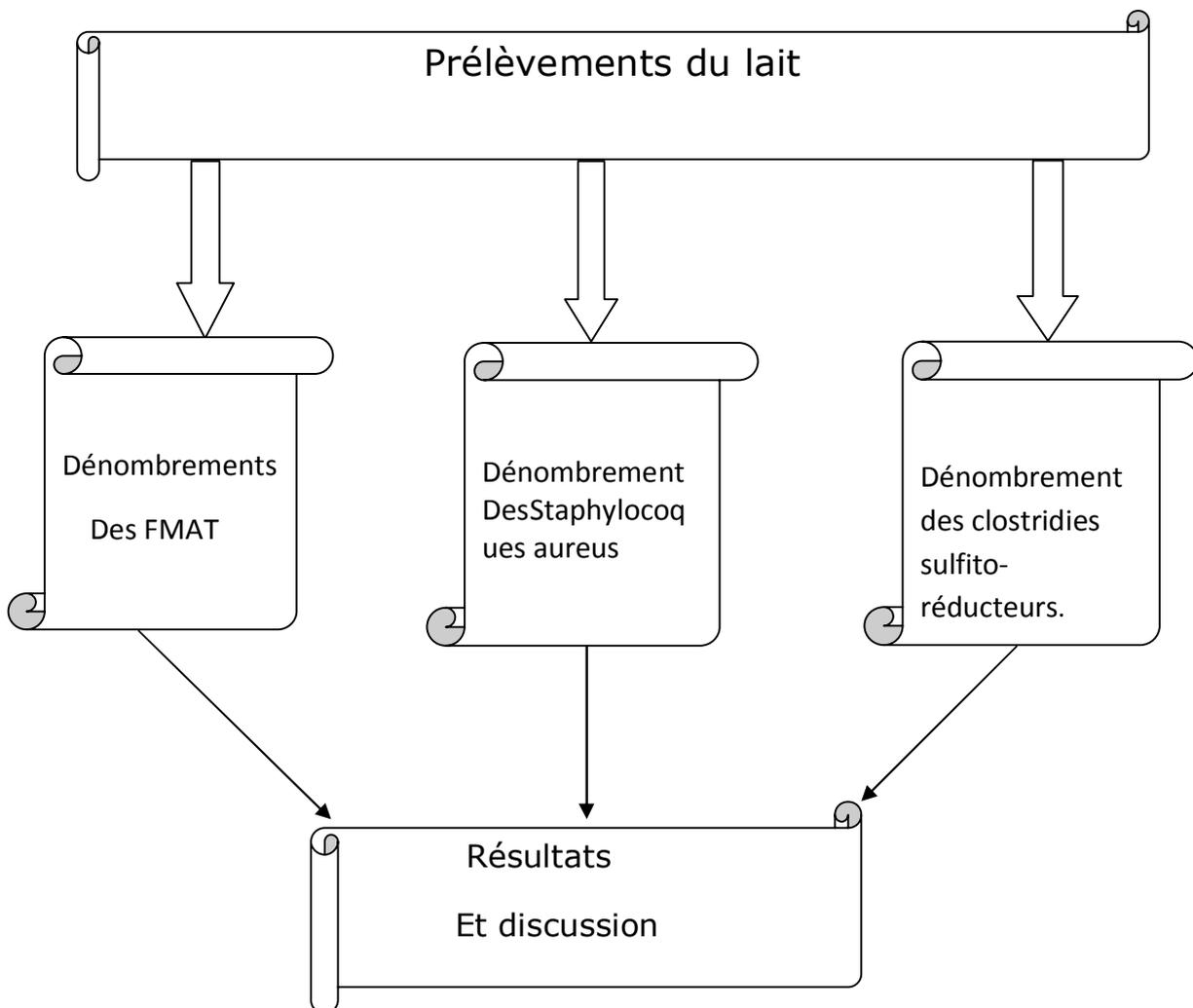
Notre études a été réalisée sur le lait cru de vache afin de :

- Evaluer la qualité physico-chimique du lait cru de vache

2. Protocole expérimentale :

La figure ci-dessous représente les déférentes étapes d'analyses effectuées dans notre étude expérimentale :

Figure n°003 : les déférentes étapes d'analyses :



3. Matérielles utilisés :

3.1. Matérielles utilisés pour les analyses bactériologiques :

Le tableau suivant récapitule le matérielles le plus utilisées :

- Appareillage et verrerie :

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

TABLEAU N° 07: les matérielles utilisées :

Appareillage	Agitateur: " MOTOR ".autoclave (LGA Geprüfte Sicherheit) Bain marie (Mammert VB7.Nr :1295,0876 Nenn temps : 95°C) Etuve (Mammert a 30°C, 37°C) Balance électrique Microscope optique Loupe grossissement de 1,5au maximum Boite de pétri (90mm de diamètre) Tubes à essai (des tubes à essai stériles de 20*200mm)
Verrerie	éprouvettes flacon (250ml) lames pipettes graduées et seringue de (5ml_10ml)

3.2. Appareille utilisée pour les stérilisations :

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.

- Soit au four, en le maintenant à une température de 170°C À 175°C pendant 1 heure.
- Soit à l'autoclave, en le maintenant à une température de 121°C à une pression de 1 bar, pendant 15 minutes.

3.3 produits utilisés pour les analyses bactériologiques :

- Milieu PCA : utilisé pour le dénombrement des germes totaux
- Milieu VF : utilisé pour le dénombrement des clostridies sulfite-réducteurs.
- Milieu Baird Parker : milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus*.
- Emulsion de jaune d'œuf.
- Tellurite de potassium.
- HCl.
- Peptone
- NaCl
- La soude NaOH (N/9)
- Solutions tampons (pH4, pH7)
- L'eau distillée stérilisée
- Huile d'émulsion

4. analyses effectuées :

Analyse bactériologique :

Notre analyse bactériologique du lait cru comporte la recherche des :

- Germes aérobies à 30°C.
-
- *Staphylococcus aureus*.
-
- Clostridium sulfite-réducteurs.

4.1.échantillonnages :

4.1.1. Lieu et période de travail :

L'étude a été menée durant la période étalant de 14/04/2017 pour se terminer le 23 /04/2017 au niveau du laboratoire hygiène et pathologie animal (institut des sciences vétérinaire Tiaret).

4.2.1. Les prélèvements :

Les 10 prélèvements de lait cru provenant de vache différentes issue de l'exploitation de l'institut vétérinaires Tiaret.la collecte s'est déroulée le matin entre 8h et 12h

Le lait a été récolté dans des tubes à essais stériles et les échantillons de lait ont été transportés dans une glacière (entre 4 et 8°C).

4.1.3. Conditions de prélèvements :

Les prélèvements de lait cru de vache pour des analyses microbiologiques s'effectuent à partir :

- Trayons de la vache propre et désinfectés
- Main propre et gants à usage unique
- Désinfection de l'extrémité du trayon à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 70°.
- Élimination du premier jet de lait.
- Des tubes à essais stériles faciles à manipuler
- Prélèvements rapides d'une quantité de lait (20ml).
- Réfrigération immédiate (transportés dans une glacière dans une température comprise entre 4°C et 8°C)

Les constatations relevées au cours de nos visites dans les fermes sont les suivantes :

- Lavage des mamelles avait lieu avant la traite avec de l'eau polluée.
- Traite mécanique sans respect d'hygiène.

- Absence de nettoyage du matériel de traite ou nettoyage de la machine à traire directement à l'eau chaude ce qui occasionnait la formation de grumeaux de lait à l'intérieur des tuyaux
- Lavage collectif (utilisation des lavettes communes à plusieurs vaches).

Méthodes d'analyses :

Analyse bactériologique

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

Dilutions :

a- Technique :

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 pipette aseptiquement 9 ml de liquide diluant. Après l'autoclavage et l'homogénéisation soigneuse des tubes, on prélève 1 ml de 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 le liquide diluant. Avec une nouvelle pipette de 1 ml, on homogénéise par aspiration et soufflage le contenu de ce tube et onensemence le tube (10^{-2}) et ainsi de suite en changeant à chaque fois de pipette pour ne pas perturber de dilutions.

b- Liquide de dilution :

Solution peptone - sel (**JORA N°70, 2004**).

Composition

Eau.....	100 ml
Peptone	1,0 g
Chlorure de sodium (NaCl).....	8,5 g

-Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale :

- But :

Dénombrer la flore totale, c'est tenter de compter tous les micro-organismes présents, afin d'apprécier la pollution microbienne du produit. Ce dénombrement dépend des conditions de températures (en général 30°C) et permet donc de dénombrer trois grands types de flore :

- flore thermophile.....t° optimale supérieure à 45°C ;
- flore mésophile.....t° optimale entre 20 et 40°C ;
- flore psychrophile..... t° optimale inférieure à 20°C.

On ne peut pas dénombrer à la fois les micro-organismes aérobies et anaérobies stricts. Il est donc préférable d'utiliser la terminologie « micro-organisme aérobies totaux à 30°C » plutôt que le terme « flore totale » dans le cas d'un dénombrement à 30°C en aérobiose (**Joffin, 1999**).

Principe :

Inoculation :

Introduire dans une boîte de Pétri un ml de dilution puis couler le milieu gélosé fondu au préalable au bain d'eau à l'ébullition et maintenu à 45-46°C au maximum trois heures.

Incubation :

Placer les boîtes de pétri retournées, dans l'étuve à 30 ± 1°C pendant 72 heures.

Résultats :

Compter à l'œil nu toutes les colonies qui se sont développées quelle que soit leur taille.

Expression des résultats :

Retenir pour comptage ,les boîtes de Pétri contenant un nombre de colonies comprises entre 15 et 300. Utiliser, si nécessaire une loupe d'un grossissement de 1,5 au maximum.

Mode de calcul :

Calculer le nombre de micro-organismes par millilitre de lait à l'aide de la formule suivante:

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

Où :

Σc : Somme totale des colonies comptées.

n_1 : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n_2 : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

d:Facteur de dilution à partir duquelles premiers comptages ont été obtenus.

-Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* :

-But :

La recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*, les seuls à produire éventuellement une entérotoxine protéique cause d'intoxications 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 numération directe :

- Le milieu Chapman mannite contient une forte teneur en NaCl (7,5%) et inhibe la croissance de nombreuses bactéries autres que les *Microoccus* 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 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 aux tellurates de potassium à 1%.

Après étalement de l'inoculum (0,1ml de la solution mère) et incubation durant une période de 24 à 36 heures à 37°C.

Les *Staphylococcus aureus* donnent des colonies noires (réduction de tellurate 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 lécithinases 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).

- Recherche du caractère pathogène :

Examen microscopique :

Epreuve à la catalase (à l'aide de l'eau oxygénée).

La recherche de la désoxyribonucléase.

- Examen microscopique :

Coloration de Gram sur les colonies isolées.

Les Staphylocoques se présentent sous forme de cocci Gram positifs groupés en grappes.

-Epreuve à la catalase :

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée, elle est mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes. Une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame et un peu de culture en milieu solide y est répartie : un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase :



- La recherche de la désoxyribonucléase :

La désoxyribonucléase est une DNase (enzyme hydrolysant l'ADN), cette enzyme est relativement spécifique de *Staphylococcus aureus* (Joffin, 1999).

- Principe :

Après culture sur gélose à l'ADN, on recherche la dégradation de l'ADN grâce à un réactif révélateur, HCl ou bleu de toluidine.

Autour des cultures DNase positive, l'ADN dépolymérisé n'est plus précipitable par l'HCl.

- Technique :

Ensemencer les souches à étudier en stries épaisses de 2 cm de long. Incuber jusqu'à obtention d'une culture suffisante, en général 24 à 48 heures à 37°C.

Inonder la surface du milieu avec quelques millilitres d'HCl N, respirer l'excès éventuel. Attendre 5 à 10 minutes. L'HCl doit opacifier le milieu, sauf dans les zones où l'ADN a été hydrolysé.

- Lecture :

Réaction DNase positive : zone transparente autour de la culture, le reste de la boîte étant opaque (Marchal et al, 1987).

RESULTATS ET DISCUSSION

Les prélèvements provenant de la ferme expérimentale, ont été analysés pour leur qualité physico-chimique, et hygiénique

I- Analyses bactériologiques :

-Flore mésophile aérobie totale :

La charge microbienne totale d'un lait cru ou traité indique son degré de contamination.

Les microorganismes du lait sont, les levures, les moisissures et les bactéries. Les bactéries du lait peuvent être classées d'une manière plus fonctionnelle en trois catégories

Germes d'altérations provoquent l'autolyse des aliments. Ils ne sont pas dangereux pour le consommateur parce que leur présence en grande quantité est visible par l'état du produit (odeur, aspect, etc.).

Germes indicateurs renseignent sur l'état microbiologique du lait. Leur dénombrement donne une idée du niveau global de contamination du lait. Parmi ces germes citons, les bactéries aérobies mésophiles indicateurs de la qualité globale du produit et la flore coliforme qui témoigne d'une contamination fécale.

Germes pathogènes dont la présence n'est pas tolérable (*Salmonella typhi* à l'origine de diarrhées violentes et de fièvre; *Clostridium botulinum* à l'origine de toxi-infection alimentaire, diarrhées et *Mycobacterium bovis tuberculosis*, *Brucella abortus*) ou des germes courants mais dangereux s'ils sont présents en grande quantité (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*)(**Maurice, 1996**).

Le nombre des germes totaux dans ces échantillons variait entre 1.10^3 et 3.10^6 ufc/ml, avec une moyenne de $2,2.10^5$ ufc/ml en présentant un écart type de $3,2.10^5$.

Cette valeur était inférieure à celle constatée sur les laits réceptionnés, ce qui reviendrait à dire que la contamination pourrait être due aux opérations de manutention ou à la mauvaise hygiène des citernes de collecte.

Une étude menée par **Bamouh (2006)**, rapportait que tous les échantillons de laits étaient qualifiés de mauvaise qualité car ils dépassaient de loin la norme internationale maximale de 10^5 ufc/ml, ils témoignaient aussi d'une maîtrise insuffisante de l'hygiène lors de la traite principalement mais aussi dans l'environnement global des bâtiments d'élevage.

L'eau servant à l'abreuvement des bêtes et au rinçage de la vaisselle de la laiterie pourrait être le véhicule de nombreux germes d'infection aussi bien pour la santé des animaux que pour la qualité du lait.

D'autre part, la traite étant malheureusement effectuée trop souvent dans des conditions de propreté insuffisantes, le lait contenait alors à côté de nombreux microbes et des impuretés macroscopiques diverses (Veisseyre, 1975).

Pour limiter les risques de contamination il faut agir sur l'hygiène de l'environnement (litière, matières fécales, peau de l'animal) et de la traite (lavage des mamelles et des mains du trayeur). Or, ces mesures élémentaires d'hygiène ne sont pas prises systématiquement dans les fermes visitées.

-Staphylococcus aureus :

La contamination du lait par les staphylocoques était très importante. Il peut s'agir des staphylocoques présents sur la mamelle et qui rejoignent le lait lors de la traite (plaies, pis non lavés avant la traite), ou de staphylocoques portés par le trayeur (sphère bucco-nasale, peau, plaies). La contamination serait due à une mauvaise hygiène du trayeur et à des mauvaises pratiques de traite comme le trempage des doigts dans le lait pour lubrifier la mamelle, mauvaises conditions de stockage, de conditionnement, et d'exposition à la vente.

Sur gélose Baird-Parker, *Staphylococcus aureus* se développe sous formes de colonies noires ou légèrement grises bordées d'un liseré blanc, entourées d'un halo éclaircissant le milieu (Photo N°).



Figure N°04 : *Staphylococcus aureus*

-Clostridies sulfito-réducteurs

La présence des clostridies dans les produits laitiers est à l'origine des intoxications alimentaires.

Sur gélose viande-foie, ces derniers apparaissent sous forme de colonies entourées d'un halo noir, si le produit est fortement contaminé on observe un

noircissement du milieu (tube 01 photo N°02). D'autre part des espèces aérobies anaérobies facultatives peuvent également se développer (tube 02 photo N°02).

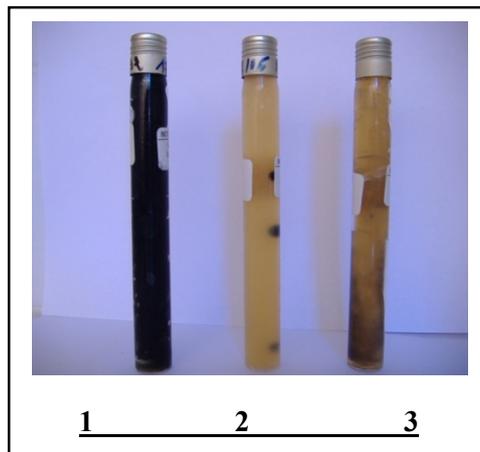


Figure N°05: Clostridies sulfito-réducteurs

Conclusion

Le lait constitue donc un aliment de grande valeur nutritive, il est issu de la traite des vaches, sa récolte peut se faire par des techniques manuelles ancestrales ou mécanisées voir automatisées.

Cependant il peut devenir un réservoir très dangereux de germes pathogènes lorsqu'il est manipulé dans de mauvaises conditions ou lorsqu'il provient de vaches malades, atteintes de mammites par exemple.

Ce thème avait pour but de déterminer l'effet de différents facteurs hygiéniques, sanitaires, et physiques sur la qualité hygiénique du lait de vache.

Le suivi de la qualité confirmait que les paramètres du lait étaient très variables et dans l'ensemble peu satisfaisants.

Concernant le lait cru, les analyses ont montrés la présence de germes pathogènes (*S. aureus*), ce qui tendrait à suspecter des infections de la mamelle, contaminations par les porteurs humains lors de la traite ou le long de la filière d'acheminement de ces laits vers l'usine.

La mise en évidence des différents types et les moments des contaminations permettrait la mise en œuvre de contrôles efficaces, se soldant par une meilleure qualité hygiénique du lait.

Les éleveurs doivent être sensibilisés sur les pratiques des règles d'hygiène et quant à l'utilisation anarchique des antibiotiques et sur les conséquences du non respect des délais d'attente.

Le traitement des vaches laitières au moment de leur tarissement comme moyen de prévention des mammites.

La gestion de la qualité par l'analyse des risques potentiels liés à un produit ou à un procédé (approche HACCP), doit alors être appliquée à l'ensemble de la filière de la vache au consommateur.

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.

Pour que le lait devient consommable il doit être sain, pur et de bonne qualité, bactériologique ou hygiénique. Cependant cet aliment 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 entre autres.

Il est nécessaire et avant consommation de cet aliment d'appliquer un contrôle initial de qualité microbiologique et physicochimique afin d'assurer et de garantir une certaine sécurité hygiénique et un niveau de qualité organoleptique.

Listes des références

ALAIS, C. (1983) : Science du lait, principe de technique laitière .4eme édition SEPAIC : 327-502.

Auclair. (1979) : influence des méthodes de réfrigération et de collecte du lait sur sa qualité bactériologique.

Auclair et Lenoir j. (1980) : influence de la réfrigération a la ferme sur la transformation ultérieure du lait et la qualité des produits fabriques. Génie Rurale N°.pp :11-15.

BOURGEOIS. C. M et CLERET J. T. 1996 :

Principes de base du contrôle microbiologique

Industriel et de son exploitation. In BOURGEOIS C. M, LEVEAU J. Y. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires , le contrôle microbiologique. Vol 3. Édition technique et documentation. Paris. P3.

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 st techniques agro-alimentaires : P 360

BOURGEOIS, CM ; MESCLE, J.F ET ZUCEA, J. (1996) : Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Edition sciences et techniques agroalimentaires : 360. Bremer, P. J ; Fletcher, G.C et Osborne, C. (2004) : Staphylocoques aureus. New Zealand Institute For Crop& Food Research Limited: 8

BORGOISE, 1996:

Facteur influençant la consommation des laits par les spores. REV. 350P.

FAO.1990. L'organisation pour l'alimentation et l'agriculture.

BENDIB, 1997 : La brucellose, diagnostic et traitement, la lettre de la prévention. Ministère de la santé et de la population. Alger : 1.

BERNARD A, 1992 : Arome et lipides : Les lipides alimentaires. Séminaire du 23-24 septembre.

BROUTIN, C. ; DIEDHIOU, Y ET DIENG, M. (2005):

Maitrise de la qualité dans la transformation laitière. Guide de bonnes pratiques d'hygiène. Fédération nationale des acteurs de la filière lait du Sénégal. Fédération des éleveurs indépendants et transformateurs laitier du Sénégal. Version validée lors de l'atelier national du 15 novembre 2005 :105.

Charron G(1986) : les produits laitiers vol1 les bases de la production. Édition Tec et Doc.347p

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

CODEX ALIMENTARIUS :

(2004) : Code d'usage en matière d'hygiène pour le lait et les Produits laitiers. Cac/r

Crapelet C. (1973) : la vache laitière reproduction génétique alimentation, habitat, grandes maladies. Édition Vigot paris. Pp :114-116.

• **Derache, R (1986)**: Toxicologie et sécurité des aliments, édition Tec et Doc (lavoisier), paris : 26.

FAYE, B. et LOISEAU, G. 2002 : Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarche qualité, gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO : P 5

FREDOT. 2007 : Connaissance des aliments « bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique ». Ed ; Tec et Doc Lavoisier.pp38, 43/424.

FREDOT. 2007 : Connaissance des aliments « bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique ». Ed ; Tec et Doc Lavoisier. Paris. PP 9-22 .P 397.

GALAZY et GUIRAUD J.P. 1980 :L'analyse microbiologique dans les industries alimentaire. Edition de l'usine

GRAY. C. 1986 : Les productions laitières. Volume 1. Les bases de la production. Technique et documentation. Lavoisier. P118

Goursaud, J. (1985) : Coagulation enzymatique du lait. In : biotechnologie, 1 vol Lavoisier édition, Paris : 301-339.

GUIRAUD. J. P. 1998 :

Microbiologie alimentaire, microbiologie des principaux produits alimentaires. Édition Dunod. Paris. P625. P651.

La conservation des aliments (les techniques).

Jakob E Winker H, Scharaeren W, Amrein R, et GeinozM (2011): la qualité du lait cru un défi permanent. Édition agros coopé lie Benfeld-pesteux. Forum N°78f. Pp. :5-17

JEAN. L. ROUX. 1994 : Conservation des aliments. Édition Tec et Doc. Lavoisier. Paris. P33.

JOFFIN. C. et JOFFIN T.N. 2000 : Microbiologie alimentaire 5^{ème} édition. France centre régional de documentation pédologique d'aquitaine. P208.

JOFFIN, C et JOFFIN, J.N 1999 : Microbiologie alimentaire 5^{ème} édition collection Biologie Technique : 211p Alimentation en Islam. Edition Forém, Alger. P257.

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne N° 69 du 27 Octobre 1993.L'arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspond au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. P16

LARPENT. J. P. 1997 : Microbiologie alimentaire. Technique de laboratoire. Édition technique et documentation. Lavoisier. Paris. P1037. Scier. P397.P 261.

Ledrerer, J. (1986) : Encyclopédie modern de l'hygiène alimentaire VI édition: nouolait : 29.

MATHIEU. J. 1998.Initiation de la physico-chimie du lait. Édition technique et documentation. Lavoisier. Paris. P220

RAUSSE .J. P. 1990 : L'indispensable en nutrition. Édition I prédis. France. P18

ROUX. J. L. 1994 :
Conserver les aliments, comparaison des méthodes et de technologies. Édition

ROMAIN J THOMAS C ; MICHEL M ; PIERRE S ; GERARD B ; 2008.
Les produits laitiers 2^{ème}Ed ; Tec et Doc Lavoisier. P185

VIGNOLA. C, 2002 : Science et technologie du lait Transformation du lait. Ed Ecole polytechnique de Montréal PP 154-175.

VEISSEYRE.R.1979. Technologie du lait construction, récolte. Traitement et transformation 3^{ème}Édition. La Maison Rustique. Paris. P714

WOLTER. R. 1997 : Alimentation de la vache laitière.3^{ème} édition. France Agricole.

Les Annexes :

Milieux et réactifs utilisés :

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 health association ». Elle est utilisée pour le dénombrement des aérobies totaux dans les eaux, le lait, les viandes et 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 23,5 g de poudre dans un litre d'eau distillée.

Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à 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).

T.S.E:(liquide de dilution)

Tryptone.....	1g
NaCl	8.5g
Eau	1dm ³

PH : 7

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

Stériliser à 121°C pendant 152 minutes.

Milieu Baird Parker :

Formule (en grammes 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.....	14

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'œuf au tellurite de potassium à 1%

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

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, 0.5ml 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).