

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun–Tiaret–  
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Présenté par :

- DEGHEMICHE Racha
- DIAB Rekia Ibtihel
- BAGHDACHE Esma

*Thème*

**Evaluation de la qualité hygiénique du lait cru,  
commercialisé dans la région de Tiaret :  
impact sur l'industrie laitière**

Soutenu publiquement le 22 /09/2021

**Jury:**

**Président:** Mme ADAMOUC DJARBAOUI MALIKA

**Encadrant:** Mme BOUSMAHA FATMA

**Examineur:** Mme BENGUIAR RACHIDA

**Grade**

« Professeur »

« MCA »

« MCB »

Année universitaire 2020-2021

# Remerciements

*Tous d'abord, nous remercions le bon **Dieu** tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.*

*Nous exprimons nos profondes gratitudee et respectueuses reconnaissances à notre encadrant Madame **FATMA BOUSMAHA** pour son encadrement, conseils, sacrifices et pour son suivi durant la période de préparation de notre mémoire de fin d'étude.*

*Nos remerciements vont aux membres du jury **Mme Adamou** et **M<sup>me</sup> Benguiar**, qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'évaluer notre travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi aux ingénieurs de laboratoires de microbiologie, pour leurs aides*

*Nous adressons nos sincère remerciements à tous les professeurs qui par leurs conseils et leurs efforts durant tous les années passées nous sommes là, vraiment un grand remerciement pour la qualité d'enseignement qui nous a été dispensé.*

## *D*édicace

Gras à dieu, qui m'a tracé la route, et m'a donné le pouvoir et le courage de continuer jusqu'à la fin.

Avec l'aide du bon dieu, tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie à mes plus chers êtres au monde :

A mes chères parents : mon père ben Aouda et ma mère Malika ; pour leurs amour, leurs tendresse, et pour leurs

Soutien durant toutes les étapes de ma vie. J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre.

Un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que Dieu leur prête tout le bonheur.

A mon chère frère AEK et ma sœur Hanane. Pour leurs encouragements et soutien moral et physique.

A mon amis : L. khaira, que Dieu lui donne tout le bonheur.

A mes collègues de la promo master Biotechnologie microbienne.

A mon binôme : Ibtihel et Esmâ.

A tous ce qui M'ont enseignée au long de ma vie scolaire .Pour toutes leurs assistance et leurs présence dans ma vie.

Merci de votre présence, soutien et de m'avoir encouragée à aller plus loin.

A toute personne que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.

A toute ma famille Deghmiche et Djeldjel qui ont étaient à mes côtés dans les bons et les mauvais moments de ma vie.

*Racha*

## *D*édicace

C'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents, que je remercie infiniment pour leurs aide , leur sacrifices,

Leurs amour et d'être toujours à mas cotés.

A mas très chère sœur IMAN et leur fils WASSIM ; qui m'encourage à chaque fois, et qui m'aide Toujours et à ma petite chère sœur ZEYNEB; je vous aime très fort et je vous souhaitent tout le succès , tout le bonheur.

A mes frères : ABDERRAHMEN , ABDELLAH

A ma cousine : FATIMA

Comme je dédie aussi ce travail A mes amis spécialement : NIHAD, MISS, INES, MAYA, SOUMIA, AICHA, ASSIA, HOUDA, SOUAD, FATIMA en témoignage de l'amitié sincères qui nous a réunis et des bons moments passés ensemble. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur de prospérité et beaucoup de succès.

AMIS pour toujours Insh'Allah

A tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom BAGHDACHE et DADAZ .

Je dédie ce travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite

*E*sma

## *D*édicace

*J*e dédie ce modeste travail

*A* ma chère mère qui m'a soutenu durant les périodes les plus difficiles de ma vie et pour son affection et son attention continue.

*A* mon cher père qui a été mon soutien Tout au long de mon parcours universitaire.

*S*ans oublier ma chère grand-mère (mima khiera ) et ma chère tante lalia .

Ma vie Mon bras droits ma belle soeur fadoua et son marie mohamed.

*A*mes frère imed ;hamidou et sife el dine .

*A*mes amis prouches kika ;khiera ; akila et zahia .

*E*n fin à tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

*A*tihel

## Liste des figures

<b>Figure n°01</b> : Protocole expérimental.....	7
<b>Figure n°02</b> : Taux de contamination de <i>Staphylococcus auréus</i> (ufc/ml) ferme d' Ain Bouchakif. ....	18
<b>Figure n°03</b> : Taux de contamination de Coliforme totaux (ufc/ml) ferme d' Ainbouchakif. ....	19
<b>Figure n°04</b> : Taux de contamination de <i>Escherichia Coli</i> (ufc/ml)ferme d' Ain Bouchakif. ....	20
<b>Figure n°05</b> : Taux de contamination de FMAT (ufc/ml) ferme d' Ain Bouchakif. ....	20
<b>Figure n°06</b> : Taux de contamination de <i>Staphylococcus auréus</i> (ufc/ml) ferme de Dahmouni. ..	21
<b>Figure n°07</b> : Taux de contamination de Coliforme totaux (ufc/ml) ferme de Dahmouni.....	22
<b>Figure n°08</b> : Taux de contamination de <i>Escherichia Coli</i> (ufc/ml) ferme de Dahmouni. ....	22
<b>Figure n°09</b> : Taux de contamination de FMAT (ufc/ml) ferme de Dahmouni. ....	23
<b>Figure n°10</b> : Taux de contamination de <i>Staphylococcus auréus</i> (ufc/ml) ferme d' Ain guesma...	24
<b>Figure n°11</b> : Taux de contamination de Coliforme totaux (ufc/ml) ferme d' Ain guesma. ....	24
<b>Figure n°12</b> : Taux de contamination de <i>Escherichia Coli</i> (ufc/ml) ferme d' Ain guesma. ....	25
<b>Figure n°13</b> : Taux de contamination de FMAT (ufc/ml) ferme d' Ain guesma.....	26
<b>Figure n°14</b> : Taux de contamination de <i>Staphylococcus auréus</i> (ufc/ml) ferme d'OuledBoughadou.....	27
<b>Figure n°15</b> : Taux de contamination de Coliforme totaux (ufc/ml) ferme d'OuledBoughadou.....	27
<b>Figure n°16</b> : Taux de contamination de <i>Escherichia Coli</i> (ufc/ml) ferme d'OuledBoughadou...	28
<b>Figure n°17</b> : Taux de contamination de FMAT(ufc/ml) ferme d'OuledBoughadou.....	29
<b>Figure n°18</b> :Comparaison des moyennes générale des germes recherchés.....	29

### **Liste des tableaux**

<b>Tableau n°01</b> :Matériel de laboratoire et milieux de culture.....	6
<b>Tableau n°02</b> :Conditions des cultures des groupes bactériens susceptible de se développement dans le lait .....	9

### **Listes des annexes**

**Annexe n°01** : Photos des résultats des tests de l'expérimentation

**Annexe n°02** : Composition des milieux de culture

**Annexe n°03** : Quelques appareillages du laboratoire utilisés

**Annexe n°04** : Norme microbiologique du lait (JORA).

## TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicace

Liste figures

Liste des tableaux

Introduction générale ..... 1

### ETUDE EXPERIMENTALE

#### Chapitre I

##### Matériel et méthodes

I.1. L'objectif du travail.....	5
I.2. Lieu et période de travail.....	5
I.3. Echantillons et germe recherchés.....	5
I.4. Analyse Bactériologique .....	5
I.5. Préparation de la suspension mère .....	5
I.6. Matériel de laboratoire et milieux de culture utilisées .....	5
I.7. Protocole expérimental.....	7
I.7.1. Prélèvement.....	8
I.7.2. Traitement des échantillons .....	8
I.7.3. Préparation des dilutions.....	8
I.7.4. Ensemencement et dénombrement des germes contaminants .....	8
I.7.4.1. Dénombrement de Staphylocoque aureus.....	9
I.7.4.2. Dénombrement de Coliforme totaux et coliforme fécaux .....	12
I.7.4.2.3 Recherche d' <i>Escherichia coli</i> .....	13
I.7.4.3. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) .....	15
I.7.4.4. Expression des résultats .....	15

#### Chapitre II

##### Résultats et discussion

II. Résultats et discussions

II. 1 selon les fermes

II. 1-1 Ferme d' ain bouchakif ..... 18

II. 1-2 Ferme de Dahmouni ..... 21

II. 1-3 Ferme d'Ain guesma.....	24
II. 1-4 Ferme d'Ouledboughadou.....	27
II. 2 Selon les germes .....	29
II. 2-1 Moyennes générale .....	32
Conclusion .....	34
Références bibliographiques.....	36
Annexes	
Résumé	



*Introduction*

## Introduction

---

Le lait est le premier aliment que nous consommons depuis notre naissances, il joue un rôle essentiel dans notre régime alimentaire journalier puisqu'il est consommé en grande quantité sous forme de lait de consommation, de produits laitiers variés ou sous forme cachée dans les préparations alimentaires diverses (conserves, crèmes glacée, plats cuisinés, sauces, potages, pâtisseries, confiseries **(Cayot et Lorient ,1998)**).

Le lait est considéré comme un milieu biologique complexe, est un excellent milieu de culture, de **pH = 6.5**, composé de toutes les molécules nécessaires au développement de microorganismes et sa qualité peut être affectée par nombreux facteurs tels que les contaminations au cours et après la traite et la présence d'infections des mammites **(Aggad et al. 2009)**.

La consommation du lait cru ; contaminé est responsable des zoonoses majeures graves comme par exemple la brucellose et la tuberculose. Il ne faut également pas sous-estimer les agents responsables de toxi-infections alimentaires, comme les salmonella et les souches d'E. Coli entéropathogènes, entraînant des diarrhées parfois mortelles ainsi que d'autres agents responsables d'intoxications sévères comme les staphylococcies et les mycotoxicooses **(Siousarran, 2003)**.

La qualité microbiologique du lait cru suscite l'intérêt des différents acteurs de la filière. D'un point de vue consommériste, la qualité hygiénique préoccupe le consommateur qui en devient de plus en plus exigeant. Le lait cru et les produits qui en découlent doivent apporter des garanties sanitaires car la consommation de ces derniers peut présenter un danger pour la santé publique. D'un point de vue technologique, la qualité et la typicité des produits laitiers sont à l'origine de la flore du lait cru **(Bouzidi ,2017)**.

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 portants sur la teneur en matière grasse, en microorganismes, en cellules somatiques et en antibiotiques. Pour certaines catégories de lait, les contrôles portent également sur l'hygiène des étables, l'état sanitaire des vaches, les conditions de la traite ainsi que les opérations de traitement du lait. Selon la réglementation algérienne, le lait doit être sain, pur et de bonne qualité, quel que soit 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 entre autres **(Mahouz ,2007)**.

En effet , selon l'Office National Interprofessionnel du lait en **2009** , la production de lait cru a permis de par son intégration dans le processus de transformation au niveau des

## Introduction

---

laiteries d'abaisser la facture d'importation de poudre de lait à environ **400 millions** de dollars, contre **750 millions** en **2008 (Bouziari, 2009)**. Cependant, la production du lait de vache, se heurte souvent au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs. Les conditions d'hygiène au niveau des fermes, le maintien de la chaîne du froid tout le long du circuit de la production jusqu'à l'arrivée du lait à la laiterie, comportent autant de sources de contaminations à maîtriser afin de préserver la qualité hygiénique du lait.

Dans ce contextes nous avons choisi le thème de notre travail, d'une part pour établir les conditions hygiéniques dans différentes fermes dans la région de Tiaret et leurs impacts sur l'industrie laitière et la variation de la qualité du lait cru.

Notre travail s'articule en quatre parties :

- Introduction
- Matériel et méthodes
- Résultats et discussions
- Conclusion

*Etude expérimentale*

---

Matériels et méthodes

## I. 1- Objectif du travail

L'objectif de notre travail est la mise en évidence de la qualité hygiénique du lait cru commercialisée dans la région de Tiaret.

Nous avons réalisé la recherche et le dénombrement des germes de contamination les Coliformes totaux et Coliformes fécaux (*E.coli*), les *Staphylococcus aureus*, et de la flore mésophile totale (FMAT) selon la norme citer par le journal officiel de la république Algérienne de 2017 n° 39 (JORA N°39).

L'ensemble de ces microorganismes qui donne une indication de l'état de fraîcheur ou altération du lait.

## I. 2- Lieu et période de travail

Notre étude s'est déroulée au niveau du laboratoire de Microbiologie, faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université **IBN KHALDOUNE-TIARET**, et **durant** le mois d'avril 2021.

## I. 3- Echantillons et germes recherchés

26 échantillons de lait cru, de 04 fermes ont fait objets d'une investigation pour la recherche des germes selon la norme citer par le journal officiel de la république Algérienne (JORA de 2017 n° 39) à citer : les coliformes totaux et fécaux, *staphylococcus aureus*, et la flore mésophile totale (FMAT).

Les quatre points de prélèvements sont :

1. Une ferme au niveau de la commune d'Ain Bouchakif (07 échantillons).
2. Une ferme au niveau de la commune de Dahmouni (07 échantillons).
3. Une ferme au niveau de la région d'ouled boughadou à Tiaret (06 échantillons).
4. Une ferme au niveau de la région d'Ain Guesma de à Tiaret (06 échantillons).

## I. 4- Analyses Bactériologique

Les analyses bactériologiques ont étaient réalisées dans des conditions d'asepsie, devant un bec bunsen qui fournit une zone stérile de 25 cm (**Guiraud, 1998**).

## I. 5- Préparation de la suspension mère

La suspension mère est représentée par l'échantillon de lait.

## I. 6- Matériel de laboratoire et milieux de culture utilisés

Le matériel et milieux de cultures utilisées sont cités dans le tableau n° 1

Tableau n° 01 : Matériel de laboratoire et milieux de culture

Appareillages	Verreries et autres	Produit et milieux de culture
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Glacière</li> <li>- Bec bunsen</li> <li>- Balance</li> <li>- Agitateur a plaque chauffante</li> <li>- Autoclave</li> <li>- Bain marie</li> <li>- Réfrigérateur</li> <li>- Four pasteur</li> <li>- Les étuves à 30°, 37°, 44° (incubateur)</li> <li>- Compteur de colonies</li> <li>- Microscope optique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pince en bois</li> <li>- Une anse de platine</li> <li>- Portoir</li> <li>- Eprouvettes</li> <li>- Bécher 250 et 500 ml</li> <li>- Flacons en verre stérile</li> <li>- Pipettes graduées 1 et 2 ml</li> <li>- Pipettes pasteur</li> <li>- Les boîtes de pétri stérile</li> <li>- Les tubes</li> <li>- Tubes à essai stérile</li> <li>- Lames stérile</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Eau(distillée, physiologie)</li> <li>- Urée indole</li> <li>- HCL</li> <li>- Violet de gentiane</li> <li>- Lugol</li> <li>- Alcool</li> <li>- Fushine</li> <li>- Plasma de sang</li> <li>-</li> <li>- Désinfectant</li> <li>- Emulsion de jaune d'œuf</li> <li>- Milieu Plate Count Agar (gélose PCA)</li> <li>- Milieu gélosé (VRBL)</li> <li>- Milieu Baird Parker</li> <li>- DNASE</li> <li>- TSI</li> </ul>

I. 7- Protocole expérimental :

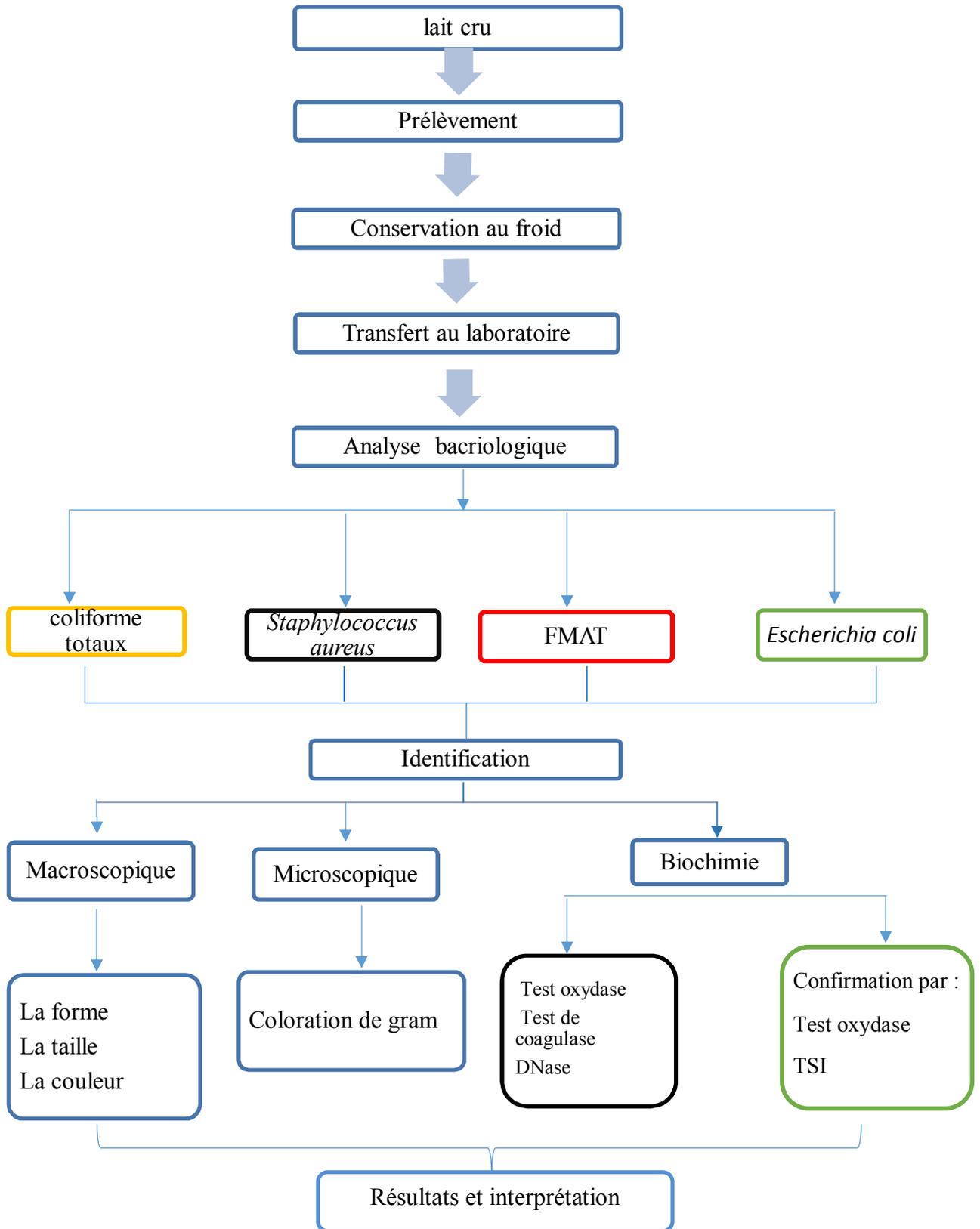


Figure n°01 : Protocole expérimental

**I. 7-1 Prélèvement**

Le prélèvement du lait cru est réalisé au niveau des fermes. Une fois prélevés, les échantillons sont acheminés au laboratoire sous froid, dans une glacière.

**I. 7-2 Traitement des échantillons**

Les échantillons sont traités au laboratoire, En aucun cas l'échantillon ne doit être congelé. Le contact direct avec l'échantillon se fait dans des conditions rigoureuses d'asepsie, ce qui implique l'utilisation d'un matériel stérile. **(ISO 7218 ,2003)**

Dans une zone stérile, devant un bec bunsen allumé 15 min avant le travail et sur une pailasse préalablement désinfectée par une solution d'eau de javel, les récipients des prélèvements sont préparés pour l'analyse microbiologique.

**I. 7-3 Préparation des dilutions**

Le lait contenu dans les récipients est simplement homogénéisé par agitation avant l'analyse. **(ISO8261, 2001).**

Dans le cas de produits liquide (lait), agiter soigneusement l'échantillon pour essai afin d'assurer une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes.

Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques. Leur mode préparation est minutieux. On prépare autant des tubes qu'il y a des dilutions à effectuer en prenant des tubes stériles dans lesquels on pipette aseptiquement **9 ml** de liquide diluant **(TSE)**.

Après l'Autoclavage à 121°C pendant 20 minutes et l'homogénéisation soigneuse des tubes, on prélève **1 ml** de la suspension de départ (solution mère-lait-) à l'aide d'une pipette de 1 ml et on le porte dans le premier tube de dilutions 1/10 ( $10^{-1}$ ). La pipette ne doit entrer en contact ni avec les parois des tubes, ni avec le liquide diluant. Flotté et fermer le tube, on homogénéise par agitation le contenu de ce tube et on ensemence le tube ( $10^{-2}$ ) par le même principe, en changeant à chaque fois la pipette pour ne pas perturber de dilutions.

Dans notre travail, à chaque prélèvement on prépare deux dilutions ( $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ ).

**I 7-4 Ensemencement et dénombrement des germes contaminants**

Cette technique permet en principe la numération des germes vivants. La culture est réalisée soit en milieu liquide (1 germe ou un groupe de germes donne après inoculation et incubation 1 culture positive) soit en milieu solide (1 germe ou un groupe de germes donne naissance à une colonie).

Dans ce dernier cas l'ensemencement peut se faire dans la masse de la gélose ou en surface

Dans notre expérience, on utilise :

#### Numération à partir d'un milieu solide UFC

- Cette méthodologie est le plus fréquemment réalisée dans des boîtes de Pétri. Elle repose sur le principe que toute bactérie vivante introduite dans la masse ou en surface d'un milieu gélosé favorable donne en principe naissance après incubation à une colonie macroscopique. Le nombre total de colonies correspond alors au nombre d'UFC présents dans l'inoculum. (Anaïs Oceania)

L'ensemencement est effectué selon le microorganisme recherché.

**Tableau n°02 :** Conditions des cultures des groupes bactériens susceptible de se développer dans le lait (Aissa et Bouheka , Hanet ,2018) .

Microorganisme recherché	Milieus de culture	Type d'ensemencement	Température et durée d'incubation
<i>Staphylococcus aureus</i>	Baird Parker	Surface	à 37° pendent 48h
Coliforme totaux	VRBL	Masse	à 37° pendent 48h
Coliforme fécaux	VRBL	Masse	à 44° pendent 48h
Flore mésophile aérobie totale	PCA	Masse	à 30° pendent 48h-72h

#### I 7-4-1 Dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Il s'effectue sur le milieu Baird Parker.

La présence des Staphylocoques dans le produit est un signe de contamination fécale. C'est une Cocci à gram positif, aéro-anaérobie facultatif. En général, cette espèce demeure l'agent le plus fréquent provoquant des intoxications alimentaires, qui produire éventuellement une entérotoxine protéique (Joffin, 1999).

##### I.7.4.1.1. But

La recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*, comme un test d'hygiène des procédés pour savoir si l'aliment présent des risques pour le consommateur.

#### I.7.4.1.2. Principe

La recherche de *Staphylococcus aureus* nécessite un isolement sur milieu solide sélectif. Utiliser surtout la gélose BAIRD PARKER (le milieu de choix en microbiologie alimentaire). et en a d'autre milieu Chapman qui contient une forte teneur en NaCl (7.5%), inhibe la croissance de nombreuses bactéries autre que les *Micrococcus* et *Staphylococcus*. (Guiraud, 1998)

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

#### I.7.4.1.3. Préparation du milieu

Au contenu d'une fiole 180ml de milieu de base fondu (BP) ajouter 5 ml de la solution de tellurite de potassium et Ajouter enfin 10 ml d'émulsion de jaune d'œuf. Mélanger en agitant doucement, puis distribuer en boîtes de Pétri, Le milieu est utilisé dans les 24 heures qui suivent sa préparation après que la surface été bien séchée (solidifier sur une surface horizontale).

A l'aide d'une pipette stérile, dépose 0.1 ml de l'échantillon de lait et des délutation ( $10^{-1}/10^{-2}$ ). Etaler le plus rapidement possible, avec l'étaleur (râteau préparé par une pipette pasteur), l'échantillon déposé à la surface du milieu de culture. Ne pas toucher les parois de la boîte avec le râteau. Utiliser un râteau stérile pour chaque boîte. Mettre les boîtes en incubation à 37°C pendant 24-48h. (Larpent, 1997)

Les *Staphylococcus aureus* donnent des colonies noires (réduction du tellurite en tellure), avec un halo clair dû à la protéolyse des protéines du jaune d'œuf, et éventuellement un liseré blanc opaque (précipitation des acides gras). leur taille est de 0.5 à 2mm (1 à 1.5 mm en 24h, 1.5 à 2.5 mm en 48h) avec un aspect brillant. Les colonies de *staphylococcus* non pathogènes sont souvent inhibées ou se développent de manière irrégulière. (Guiraud, 1998)

#### I.7.4.1.4. identification

Elle se fait par :

Coloration de Gram (+) et recherche de la catalase (+) et de la coagulase (+)

- **Aspect microscopique (coloration de gram)**

La coloration de Gram est la coloration différentielle microbiologique la plus importante et la plus largement utilisée. Elle Permet de différencier les bactéries selon 2 critères : leur forme et leur affinité pour les colorants. (microbiologie-clinique)

La coloration de gram est effectuée à partir des colonies cultivées sur gélose Baird Parker, présentant l'aspect caractéristique du staphylocoque.

Faire un frottis à partir d'une suspension bactérienne Fixation à la flamme 1 min de violet de gentiane Rincer à l'eau distillé 1 min de Lugol Rincer à l'eau distillé 15 seconde d'alcool Rincer à l'eau distillé 30 seconde de fuschine Rincer à l'eau du robinet et sécher Observation objectif x 100 à immersion.

Après coloration de Gram, les staphylocoques apparaissent comme des Cocci à Gram positif (**restent colorées en violet**). Ils peuvent être isolés, en diplocoques ou en amas. Les amas sont les plus caractéristiques du genre staphylocoque.

- **Identification biochimique**

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques. (Guiraud ; 1998 ; Freney et al, 2007)

- ▮ **Identification du genre**

- **Test de catalase / oxydase**

La catalase est un enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



Sur une lame et à l'aide d'une pissette dépose un goutte d'eau distillé, avec une anse de platine stérile on dépose une colonie bactérienne à laquelle on ajoute quelque gouttes de l'eau oxygénée (à 10 volumes).

Cette réaction est évidente par la formation rapide de bulles.

Oxydase : positif.

- ▮ **Identification de l'espèce**

- **Test de la coagulase en tube**

Le test de coagulase en tube est effectué en mélangeant des cellules bactériennes dans un plus grand volume de plasma dans un petit tube à essai.

Au fur et à mesure que les bactéries se multiplient dans le plasma, elles sécrètent de la **staphylocoagulase** qui réagit avec un facteur plasmatique de globuline (facteur de réaction de la coagulase) pour former la **staphylothrombine** (staphylocoagulase + prothrombine).

**La staphylothrombine** catalyse alors la dégradation du fibrinogène en fibrine insoluble qui forme alors **le caillot**.

Étiquetez le tube à essai avec le numéro de la souche à tester. Sélectionnez deux ou trois colonies isolées de bactéries par une anse stérile, Émulsionnez les bactéries dans le plasma et les placer dans l'incubateur à 37° pendent 4 à 24h.

Au bout de 24 heures, Toute formation de caillot est un résultat positif.  
**(microbiologie-clinique)**

#### – Test Désoxyribonucléase (DNase)

Utilisé pour déterminer la capacité d'un organisme à hydrolyser l'ADN et à l'utiliser comme source de carbone et d'énergie pour la croissance.

Utilisé principalement pour différencier le *Staphylococcus aureus* des autres *Staphylocoques*.

**Réactif :** Acide chlorhydrique (1mol/L) uniquement lorsque la gélose DNase sans indicateur.

Prendre une colonie de l'organisme à tester avec une anse et inoculez-la sur une petite zone de la plaque de gélose test DNase, au milieu de l'une des sections marquées pour former une plaque épaisse de croissance de 5 à 10 mm de diamètre après incubation.

Incuber la plaque à 37°C pendant 18-24h.

Inonder la plaque avec de l'acide chlorhydrique 1N. Laisser la plaque au repos pendant quelques minutes pour permettre au réactif d'absorber dans la plaque. Décanter l'excès d'acide chlorhydrique puis examiner la plaque dans les 5 minutes sur fond sombre. Observer une zone claire autour des colonies.

**Positif :** Développement d'un halo clair autour de la colonie. **(Microbeonline)**

### I.7.4.2 Dénombrement des Coliformes totaux et fécaux

La gélose VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre), utilisé pour la recherche des coliformes dans les aliments et les produits laitiers.

Les Coliformes sont des entérobactéries appartenant à différents genres : citrobacter, Entirobacter, Escherichia,... que l'on trouve fréquemment dans l'environnement, ainsi que dans l'intestin des mammifères, dont l'homme. (biotech.spip)

Toutes les colonies rouges (lactose+) d'un diamètre de 0,5 mm minimum apparues sont considérées comme étant des coliformes. (Joffin, 2010)

Les coliformes sont des micro-organismes d'altération. Leur présence indique une faute hygiénique relevant d'une mauvaise qualité du lait. (Larpent, 1997)

Parmi ces différentes bactéries, E. coli est très intéressante car elle est le seul coliforme totalement spécifique de l'intestin : donc c'est un témoin de contamination fécale.

En industrie laitière, leur présence est un indice d'une pollution d'origine fécale, ou d'une contamination par défaillance technologique ou hygiénique. (I.S.O, 1981)

#### I.7.4.2.1 But

L'intérêt de cette manipulation est de déterminer si le produit testé a subi une contamination fécale. (Joffin, 1999)

Le dénombrement des coliformes fécaux surtout *E. coli* est des bon indicateurs sanitaire, et dans des nombreux cas un assez bon indice de contamination fécale à partir de l'homme et des animaux.

La présence de ces germes permet de soupçonner la présence de germes pathogènes.

La recherche des coliformes dans un lait cru est donc un critère important permettant de vérifier que celui –ci a été prélevé et stocké dans des bonnes conditions d'hygiène. (biotech.spip)

- Coli. Totaux - et E. coli + = contamination fécale
- Coli. Totaux + et E. coli - = contamination par le matériel, les mauvaises procédures de lavage...

#### I.7.4.2.2. Principe

Le dénombrement des coliformes s'effectue sue le milieu gélose au cristal violet, au rouge neutre, à la bile et au lactose (VRBL), les délutions s'effectue comme pour la technique précédent.

Introduire au fond d'une boîte de pétri à l'aide d'une pipette stérile 1 ml de produit ou de chaque dilution, verser environ de milieu en surfusion, mélanger sous forme de 8 et laisser prendre en masse (solidifier) sur une surface froide et horizontale.

Retourner les boîtes (couvercle en dessous) et les incuber dans l'étuve réglée à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durant  $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$  pour les coliformes totaux at à  $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  pour les coliformes fécaux (thermo tolérants).

#### I.7.4.2.3. Identification d'E. Coli

- **Aspect macroscopique**

Consiste à étudier la croissance, la forme, l'aspect, le contour et la couleur des colonies.

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

Les coliformes sont des bacilles Gram (-), non sporulés, oxydase négative, aéro-anaérobies facultatifs, capables de se multiplier en présence de sels biliaires ou d'autres agents ayant des propriétés équivalentes et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48h à une température de  $35 - 37^{\circ}\text{C}$ . (ISO)

- **Aspect macroscopique**

*Escherichia coli* font partie de la famille des coliformes.

Les Escherichia coli forment un groupe de bacilles mobiles ou immobiles, à Gram négatif, de la famille des Enterobacteriaceae. Ils peuvent se multiplier à des températures comprises entre 4°C et 46°C, avec un optimum de croissance à 37 °C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5.

- **Aspect microscopique : (coloration de gram)**

Après toutes les étapes des colorations de gram, observe :

Des bacilles, qui se présentent sous la forme de bâtonnets allongés, coloré en rose.

**Gram** : négatif.

- **Identification biochimique**

- **Test oxydase**

Sur une lame et à l'aide d'une pissette dépose un goutte d'eau distillé, avec une anse de platine stérile on dépose une colonie bactérienne à laquelle on ajoute quelques gouttes de l'eau oxygénée (à 10 volumes).

Cette réaction est évidente par la formation rapide de bulles.

**Oxydase** : positif.

- **Test TSI**

- **Principe**

Le milieu Triple-Sugar-Iron est un milieu d'identification rapide pour les entérobactéries, permet de mettre en évidence la fermentation du glucose (avec ou sans dégagement gazeux), du lactose, du saccharose et la production de H<sub>2</sub>S.

- **Technique**

Elle consiste à ensemencer à l'aide d'une anse de platine stérile des colonies en la pente de la gélose puis par piqûre centrale le culot, la lecture se fait après 24 h d'incubation à 37°C.

- **Lecture**

- la fermentation du glucose se traduit par le virage au jaune du culot, et la production de gaz se traduit par la formation de bulles de gaz dans la gélose ou le décollement de celle-ci.

- la fermentation du lactose et/ou du saccharose se traduit par le virage au jaune de la pente. - Production de H<sub>2</sub>S se traduit par noircissement du milieu.

Ce test est : positif.

- **Test urée indole**

- **Principe**

Le milieu urée-tryptophane appelé improprement milieu urée-indole c'est un milieu complexe qui fournit un ensemble de résultats utiles pour la différenciation des entérobactéries.

- **Technique**

L'ensemencement se fait au moyen d'une anse stérile par l'ajout de quelques colonies bactérienne dans un tube qui contient l'urée indole, la lecture se fait après 24 h d'incubation à 37°C.

- **Lecture**

Après l'incubation on ajoutant deux gouttes du réactif de Kovacs, le dimethyl-amino-4-benzaldéhyde qui est un composant du réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit de l'activité de la tryptophanase, et forme un anneau coloré en rouge, ce qui signifie que la bactérie et indole positif.

### **I.7.4.3 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)**

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air à une température moyenne, plus précisément dans une température optimale de croissance située entre 25 et 40°C. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération.

Réalisé en milieu solide PCA (Plate Count Agar).

C'est un bon indicateur de la qualité générale du lait. **(Guiraud, 1998)**. Le nombre des germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition du produit. Dans certains cas constituer un indicateur de la qualité sanitaire. **(Guiraud, 2012)**

#### **I.7.4.3.1. But**

Cette méthode consiste à la recherche et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale présente dans le lait cru de vache.

#### **I.7.4.3.2. Principe**

Prendre deux (2) boîtes de Pétri stériles. Au moyen d'une pipette stérile chaque fois, transférer dans chaque boîte, 1 ml de chaque dilution préparé, Verser dans chaque boîte de Pétri, environ 12 ml à 15 ml de gélose (PCA), Mélanger soigneusement et laisser le mélange se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface horizontale et froide. Retourner les boîtes ainsi préparées et les placer dans l'étuve réglée à  $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ . Incuber pendant 48 à 72

#### **I.7.4.4.Expression des résultats**

Pour celles des boites qui contiennent 300 colonies au maximum, pour deux dilutions à l'aide du compteur des colonies.

Pour les staphylocoques à coagulase positif Calculer le nombre N de en tant que moyenne pondérée à partir des deux dilutions successives à l'aide de l'équation suivante : **(JORA)**

$$N = \frac{\sum c}{V(n1 + 0,1 n2) d} \text{UFC/ml}$$

Ou :

$\sum c$  : Somme des colonies de staphylocoques sur l'ensemble des boites retenues ;

$V$  : Volume de l'inoculum appliqué à chaque boite, en millilitres (ml) ;

$n1$  : Nombre de boites retenues à la première dilution ;

$n2$  : Nombre de boites retenues à la seconde dilution ;

$d$  : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (la suspension mère est une dilution).

## *Résultats et discussions*

---

## Résultats et discussions

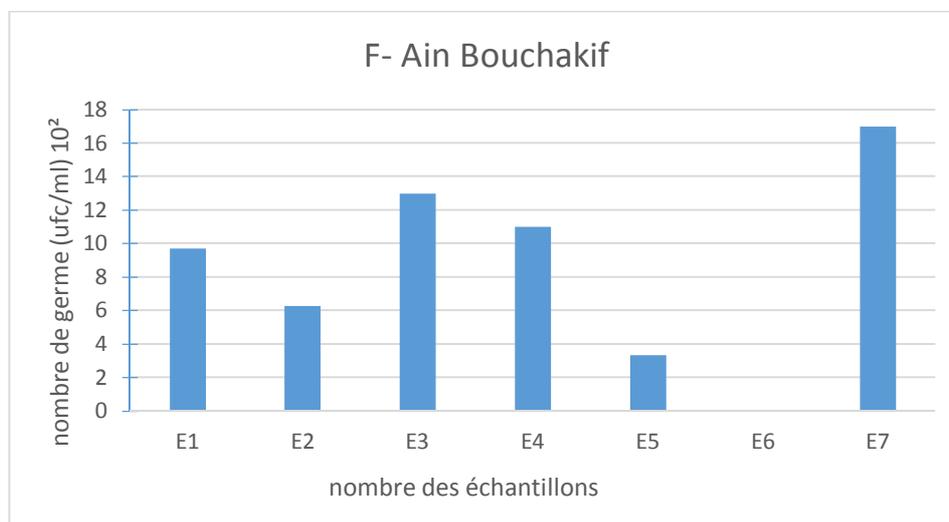
Le présent travail repose sur l'analyse de 26 échantillons de lait cru de 04 fermes différentes à citer la ferme de la commune d'Ain Bouchakif, ferme de la commune de Dahmouni, ferme de la commune d'Ouled Boughadou et une ferme de la région de Ain guesma. Les germes concernés étaient : *Staphylococcus aureus*, coliforme totaux, *Escherichia Coli*, flore mésophile aérobie totale.

### II. 1- Selon les fermes

#### II. 1-1 Ferme d'Ain Bouchakif

##### Pour les *Staphylococcus aureus*

La figure n°02 représente les résultats de recherche des *Staphylococcus aureus* au niveau de la Ferme d'Ain Bouchakif.

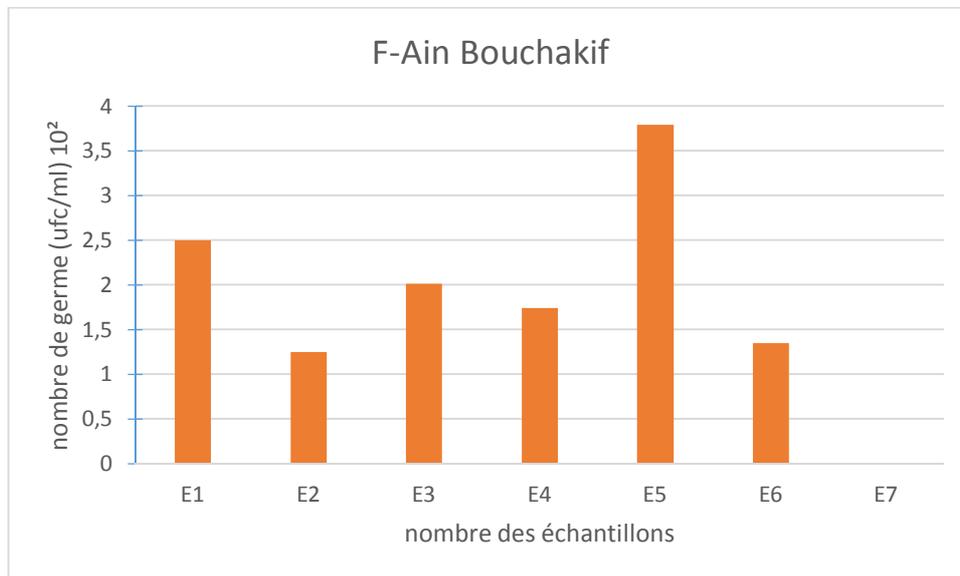


**Figure N°02 :** Taux de contamination de *Staphylococcus aureus* (ufc/ml) ferme d'Ain Bouchakif.

Selon le journal officiel, la norme est limitée à une valeur entre **10<sup>2</sup> à 10<sup>3</sup>ufc/ml** dans le lait cru. Une moyenne de contamination de **8,59.10<sup>2</sup>ufc/ml** a été constatée au niveau de cette ferme qui est inférieure aux normes bactériologiques du JORA N°39 donc ces résultats sont satisfaisants.

**Coliforme totaux**

La figure n°03 représente les résultats de recherche des Coliformes totaux au niveau de la Ferme d'Ain Bouchakif.

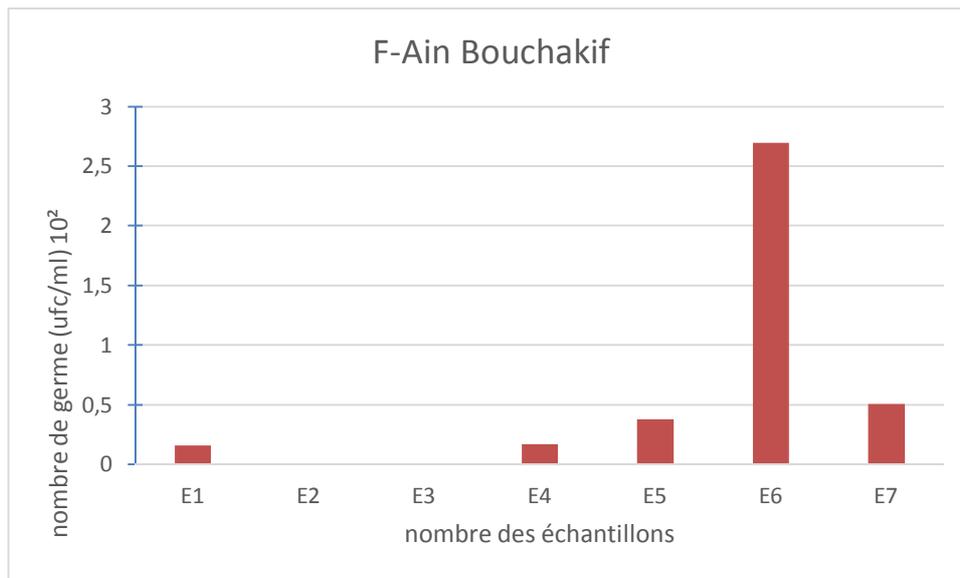


**Figure n°03** : Taux de contamination de Coliforme totaux (ufc/ml) ferme d'Ain bouchakif.

D'après les résultats de figure n°03, nous avons noté une contamination par ce germe dans la plus part des échantillons prélevé avec des valeurs entre **1,25 et 3,79.10<sup>2</sup> ufc/ml**. Avec une moyenne de **2,21.10<sup>2</sup> ufc/ml**.

**Escherichia Coli**

La figure n°04 représente les résultats de recherche des *Escherichia Coli* au niveau de la Ferme d'Ain Bouchakif.

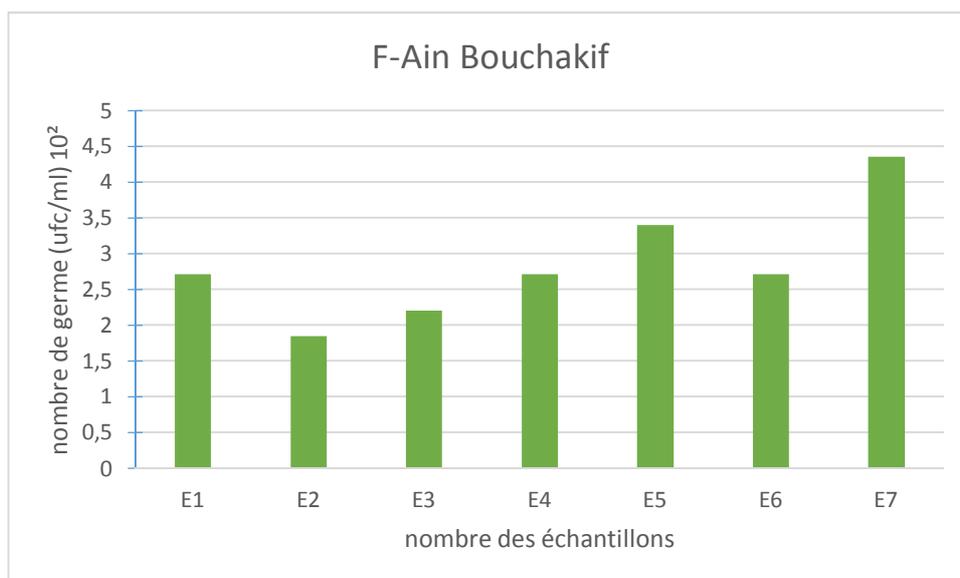


**Figure n°04** : Taux de contamination de *Escherichia Coli* (ufc/ml) ferme d'Ain Bouchakif.

La plus part des échantillons sont contaminés par ce germe avec une valeur entre **0,16** à  **$2,7 \cdot 10^2$  ufc/ml**. Avec une moyenne de  **$0,96 \cdot 10^2$  ufc/ml**. Tous les résultats sont conformes à la norme de journal officiel de 2017 n°39 ( **$5 \cdot 10^2$  –  $5 \cdot 10^3$  ufc/ml**).

#### Flore mésophile aérobie totale

La figure n°05 représente les résultats de recherche des FMAT au niveau de la Ferme d'Ain Bouchakif.



**Figure n°05** : Taux de contamination de FMAT (ufc/ml) ferme d'Ain Bouchakif.

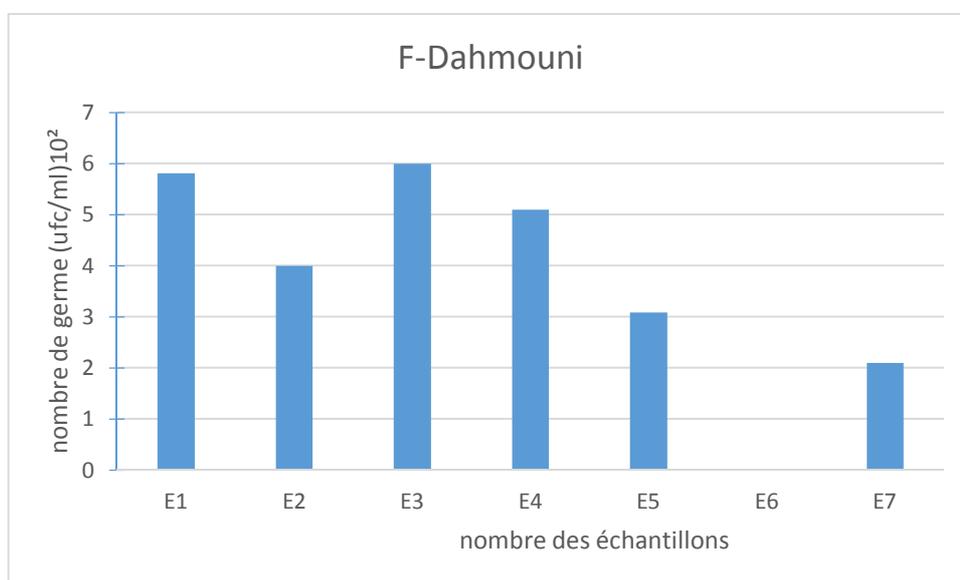
D'après la figure n° 05, on note la présence de ce germe FMAT dans tous les échantillons avec des valeurs qui varient entre **1,85 à 4,35.10<sup>2</sup> ufc/ml**, et une moyenne de **2,90.10<sup>2</sup> ufc/ml**. Ces résultats sont inférieurs à la norme du JORA N°39 qui limite la contamination par ce germe à **3.10<sup>2</sup> - 3.10<sup>3</sup> ufc/ml**.

Donc on peut dire que le lait de cette ferme est de qualité satisfaisante selon les résultats constaté.

## II. 1-2 Ferme de Dahmouni

### 1-2-1 *Staphylococcus aureus*

La figure n°06 représente les résultats de recherche des *Staphylococcus aureus* au niveau de la Ferme de Dahmouni.

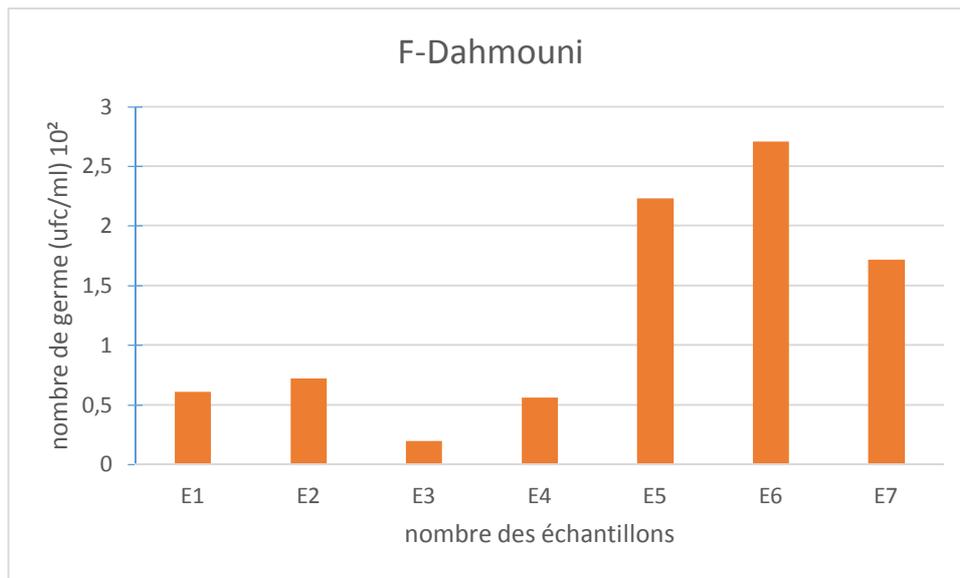


**Figure N°06 :** Taux de contamination de *Staphylococcus auréus* (ufc/ml) ferme de Dahmouni.

D'après les résultats, nous avons noté une contamination dans la plus part des échantillons par *Staphylococcus aureus* avec une valeur entre **2.1 à 6 .10<sup>2</sup> ufc/ml**, avec une moyenne de **4,58.10<sup>2</sup> ufc/ml**. Ces résultats sont inférieurs aux normes citées par le journal officiel de 2017N°39 (**10<sup>2</sup> à 10<sup>3</sup> ufc/ml**).

### 1-2-2 Coliforme totaux

La figure n°07 représente les résultats de recherche des coliformes totaux au niveau de la Ferme de Dahmouni.

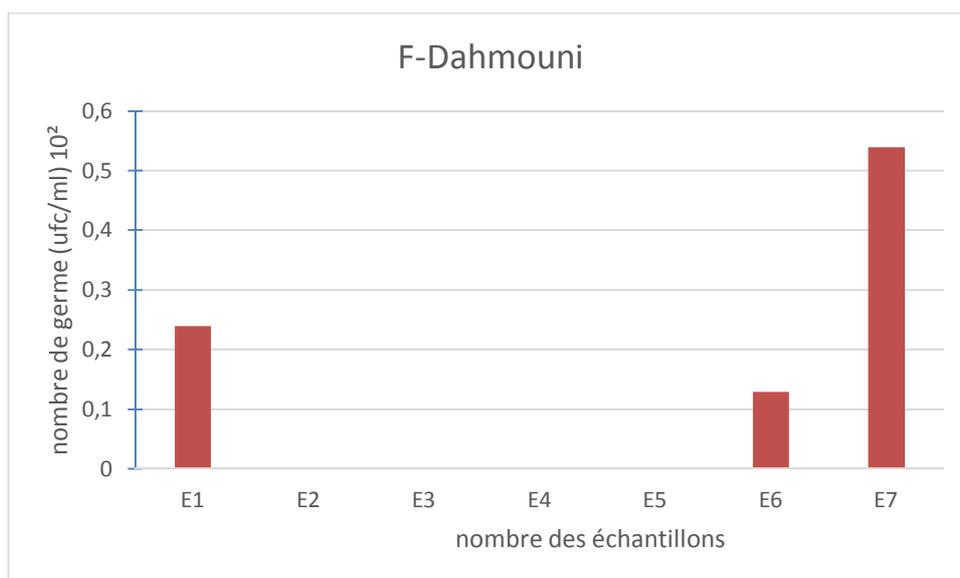


**Figure n°07 :** Taux de contamination de Coliforme totaux (ufc/ml) la ferme de Dahmouni.

D'après les résultats de figure n°07, nous avons noté une contamination par ce germe dans la plus part des échantillons prélevé avec des valeurs entre **0,2 et 2,71.10<sup>2</sup>ufc/ml**. Avec une moyenne de **1.29.10<sup>2</sup> ufc/ml**.

### 1-2-3 *Escherichia Coli*

La figure n°08 représente les résultats de recherche des *Escherichia Coli* au niveau de la Ferme de Dahmouni.

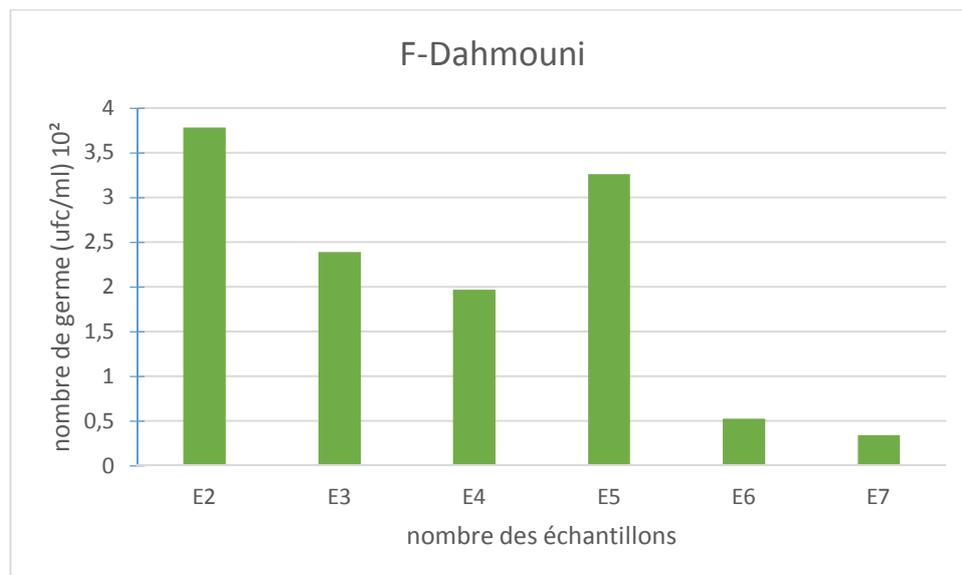


**Figure n°08 :** Taux de contamination de *Escherichia Coli* (ufc/ml) ferme de Dahmouni.

Selon le journal officiel, la norme est limitée à une valeur entre  $5.10^2$  à  $5.10^3$  ufc/ml ; alors que nous avons notés une moyenne de contamination de  $0,18.10^2$  ufc/ml de 03 échantillons contaminés qui variée entre  $0,13$  à  $0,54.10^2$  ufc/ml.

#### 1-2-4 Flore mésophile aérobie totale

La figure n°09 représente les résultats de recherche des FMAT au niveau de la ferme de Dahmouni.



**Figure n°09** : Taux de contamination de FMAT (ufc/ml) ferme de Dahmouni.

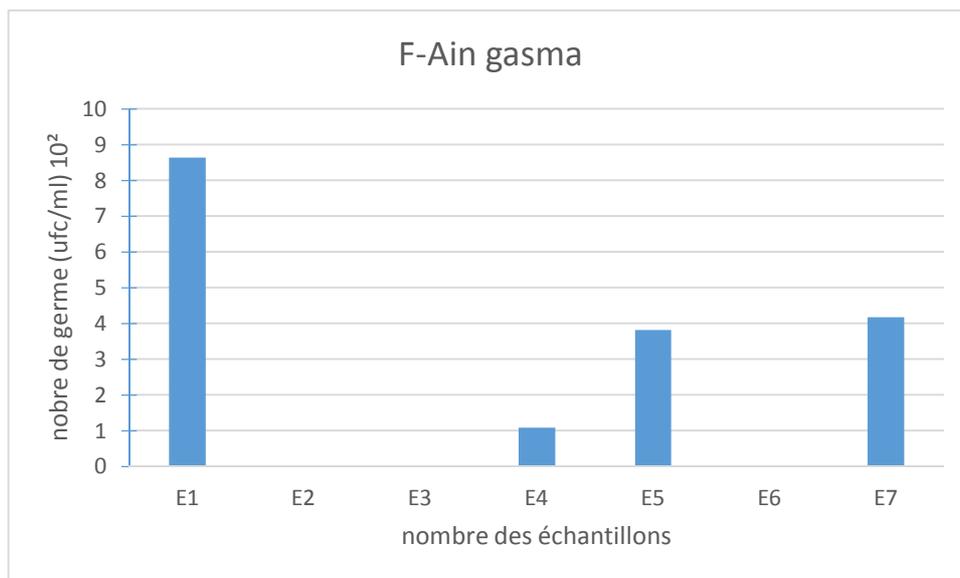
D'après la figure n°09, on a noté la présence de ce germe dans tous les échantillons, qui variait entre  $0,34$  à  $3,78.10^2$  ufc/ml, avec une moyenne de  $2,04.10^2$  ufc/ml, qui est inférieur à la norme citer par le JORA N°39.

Donc on peut dire que le lait de cette ferme est de qualité satisfaisante selon les résultats constaté.

#### 1-3 Ferme d'Ain guesma

##### 1-3-1 *Staphylococcus aureus*

La figure n°10 représente les résultats de recherche des *Staphylococcus aureus* au niveau de la Ferme de D'Ain Guesma.

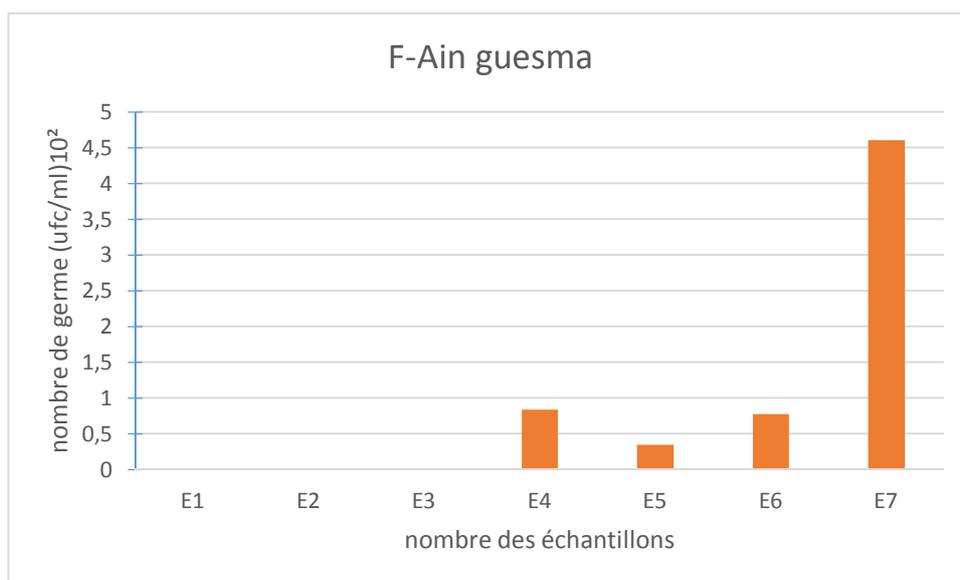


**Figure n°10 :** Taux de contamination de *Staphylococcus aureus* (ufc/ml) ferme d’Ain Guesma.

Les échantillons analysés ont montré des valeurs de contamination entre **1,09** et **3,63.10<sup>2</sup>ufc/ml**, avec une moyenne de **4,57.10<sup>2</sup>ufc/ml** de quatre échantillons contaminés, qui est inférieur à la norme du journal officiel de 2017 N°39 (**10<sup>2</sup>-10<sup>3</sup>ufc/ml**).

### 1-3-2 Coliforme totaux

La figure n°11 représente les résultats de recherche des Coliformes totaux au niveau de la Ferme de D’Ain Guesma.

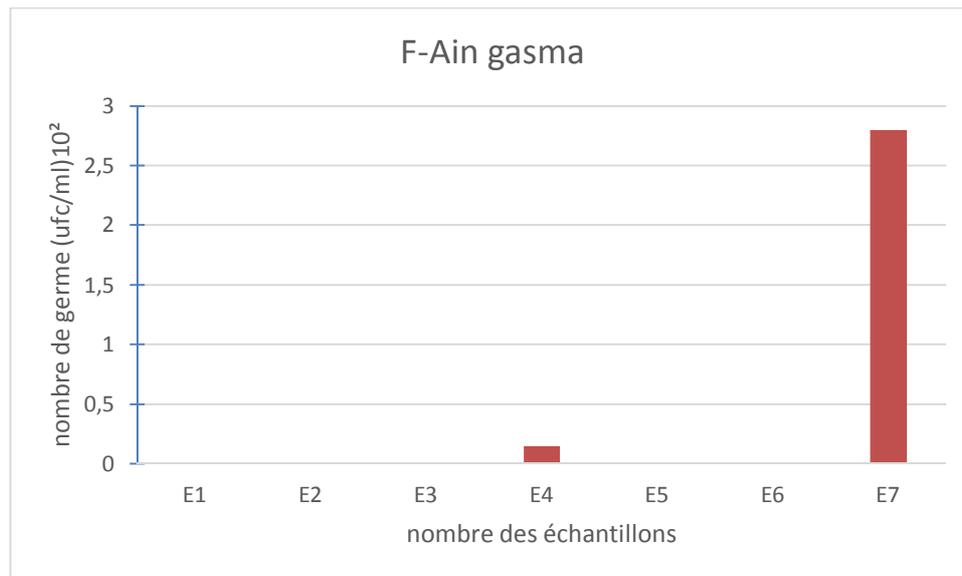


**Figure n°11 :** Taux de contamination de Coliforme totaux (ufc/ml) ferme d’Ain Guesma.

D'après les résultats de figure n°11, nous avons noté une contamination par ce germe dans quatre échantillons prélevés avec des valeurs entre **0,35 à 4,6.10<sup>2</sup>ufc/ml** et une moyenne de **1,39.10<sup>2</sup>ufc/ml**.

### 1-3-3 *Escherichia Coli*

La figure n°12 représente les résultats de recherche des *Escherichia Coli* au niveau de la Ferme de D'Ain Guesma.

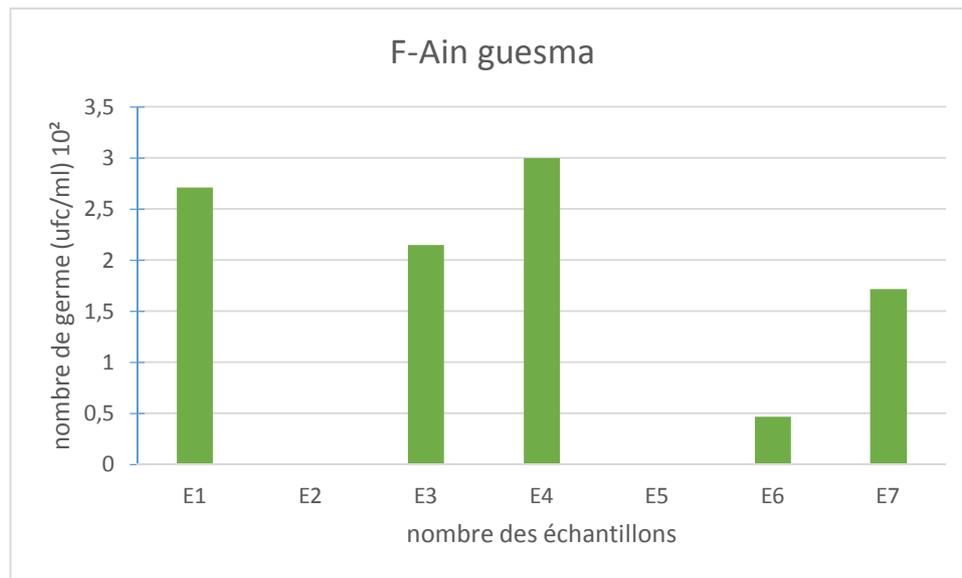


**Figure n°12 :** Taux de contamination de *Escherichia Coli* (ufc/ml) ferme d'Ain Guesma.

Les résultats indiquent que deux échantillons E4 et E7 sont contaminés par ce germe avec une valeur de **0,15.10<sup>2</sup>ufc/ml** pour l'échantillon n°04 et une valeur de **0,8.10<sup>2</sup>ufc/ml** pour l'échantillon n°07. La moyenne était **0,82.10<sup>2</sup>ufc/ml**, qui est inférieure à la norme du journal officiel de 2017 n°39 (**5.10<sup>2</sup>-5.10<sup>3</sup>**).

### 1-3-4 Flore mésophile aérobie totale

La figure n°13 représente les résultats de recherche des FMAT au niveau de la Ferme de D'Ain Guesma.



**Figure n° 13 :** Taux de contamination de FMAT (ufc/ml ferme d'Ain Guesma).

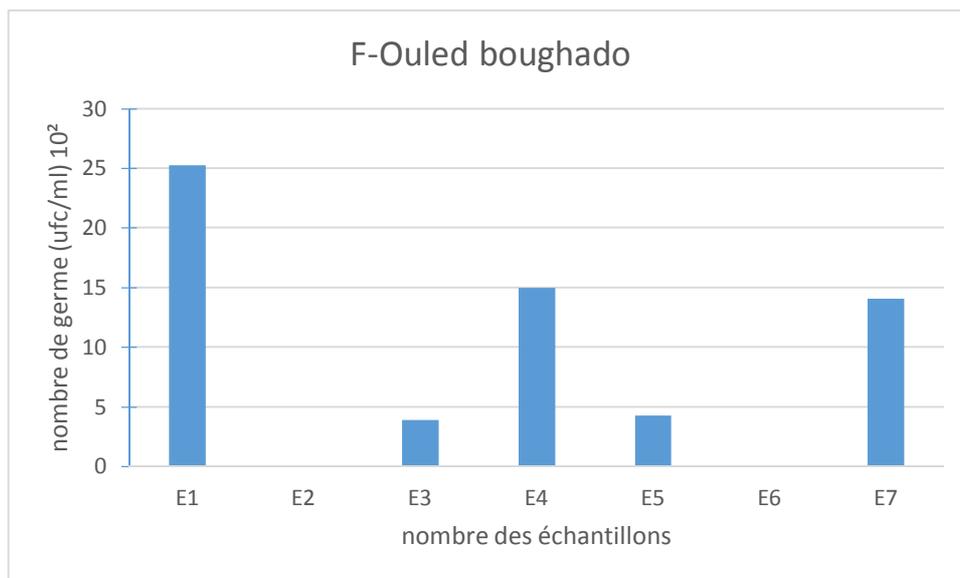
Dans cette ferme la plus part des échantillons ont montrés la présence d'un taux élevée de germe FMAT avec des valeurs entre **0,47 et 3.10<sup>2</sup>ufc/ml**, et une moyenne de **1,93.10<sup>2</sup>ufc/ml**. Ces résultats ne dépassent pas la norme citée par le journal officiel de 2017 n° 39 qui limite ce taux entre **3.10 et 3.10ufc/ml**.

Donc on peut dire que le lait de cette ferme est de qualité satisfaisante selon les résultats constaté.

## II. 1-4 Ferme d'Ouled Boughadou

### 1-4-1 *Staphylococcus aureus*

La figure n°14 représente les résultats de recherche des *Staphylococcus aureus* au niveau de la Ferme de D'Ouled Boughado.

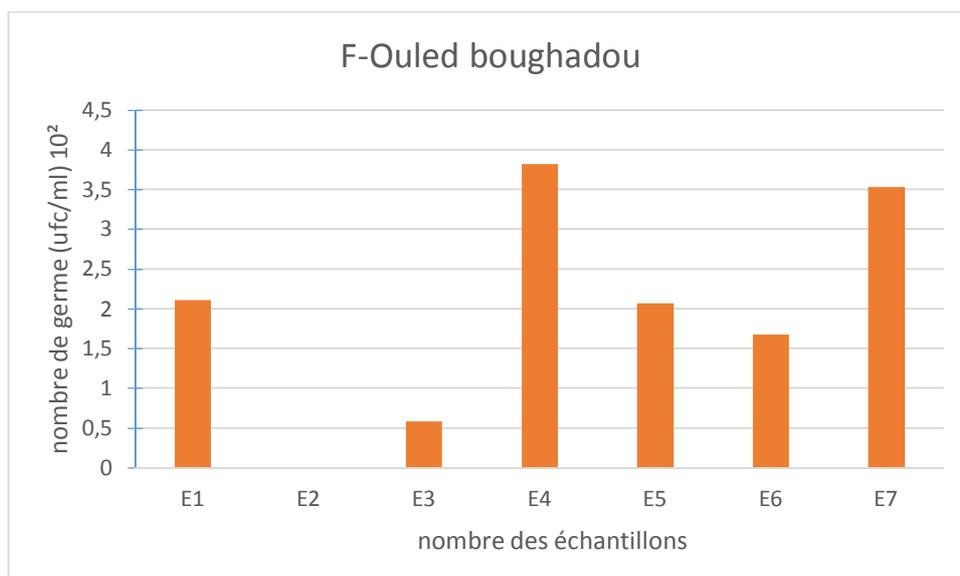


**Figure N°14 :** Taux de contamination de *Staphylococcus aureus* (ufc/ml) ferme d'Ouled Boughadou.

On constate d'après les résultats que la plus part des échantillons sont contaminé avec ce germe *S. aureus* avec des valeurs entre 3.9 et 25,27.10<sup>2</sup>ufc/ml, Avec une moyenne de 13,1.10<sup>2</sup>ufc/ml. Nos résultats sont inférieurs aux normes bactériologiques du journal officiel de 2017N°39.

#### 1-4-2 Coliforme totaux

La figure n°15 représente les résultats de recherche des Coliformes totaux au niveau de la Ferme de D'Ouled Boughadou.

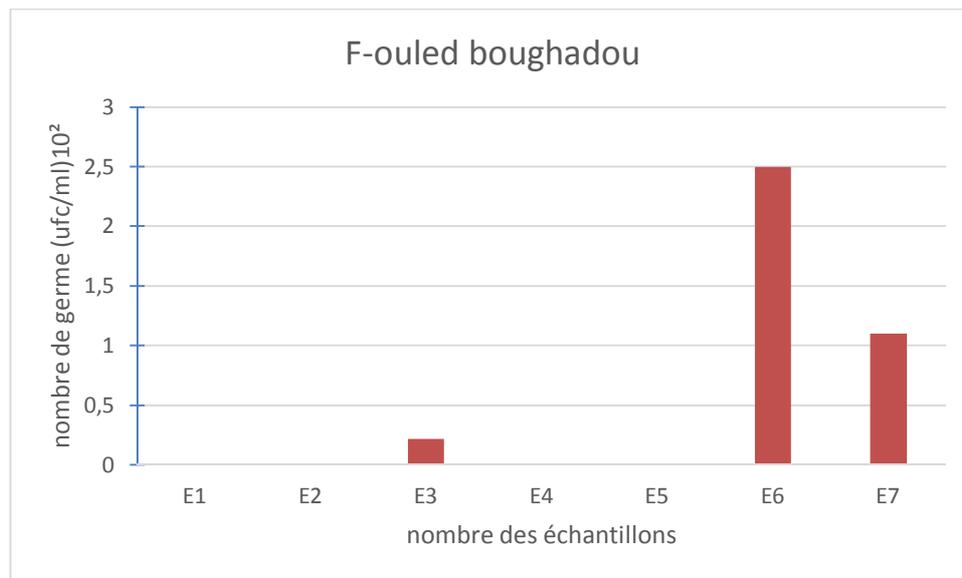


**Figure n°15 :** Taux de contamination de Coliforme totaux (ufc/ml) ferme d'Ouled Boughadou.

Nos échantillons sont en totalité contaminé par ce germe sauf l'échantillon n°02, avec des valeurs variait entre **0,59 et 3,82.10<sup>2</sup>ufc/ml** et une moyenne de **2,27.10<sup>2</sup>ufc/ml**.

### 1-4-3 *Escherichia Coli*

La figure n°16 représente les résultats de recherche des *Escherichia Coli* au niveau de la Ferme de D'Ouled Boughado.

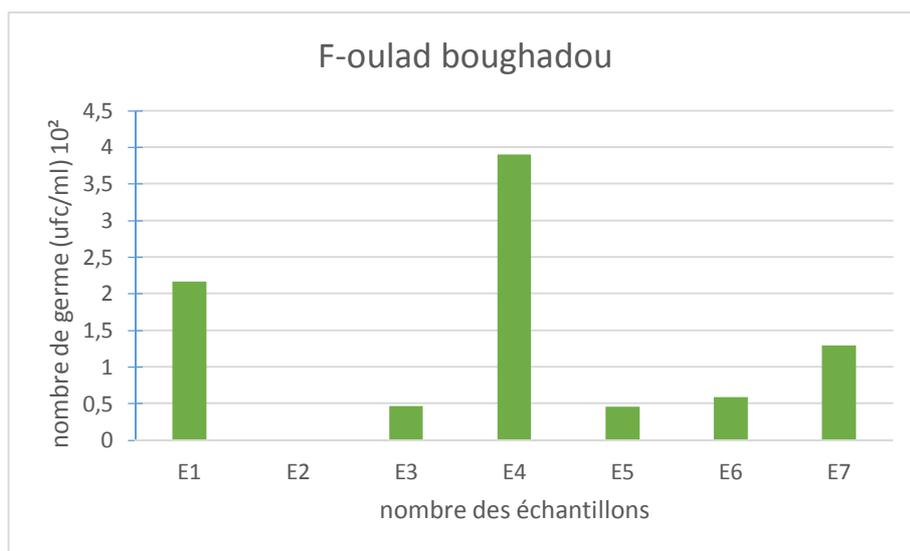


**Figure n°16 :** Taux de contamination de *Escherichia Coli* (ufc/ml) ferme d'Ouled Boughadou.

03 échantillons E3, E6, E7 ont étaient contaminer par *E.coli* avec des valeurs qui variaient entre **0.22 et 2,5.10<sup>2</sup>ufc/ml**, avec une moyenne de **1,05.10<sup>2</sup>ufc/ml**. Ces valeurs qui sont inférieurs à la norme cité par le journal officiel de 2017 n°39 (**5.10<sup>2</sup> à 5.10<sup>3</sup>ufc/ml**).

### 1-4-4 Flore mésophile aérobie totale

La figure n°17 représente les résultats de recherche des FMAT au niveau de la Ferme de D'Ouled Boughado.



**Figure n°17 :** Taux de contamination de FMAT (ufc/ml) ferme d'Ouled Boughadou.

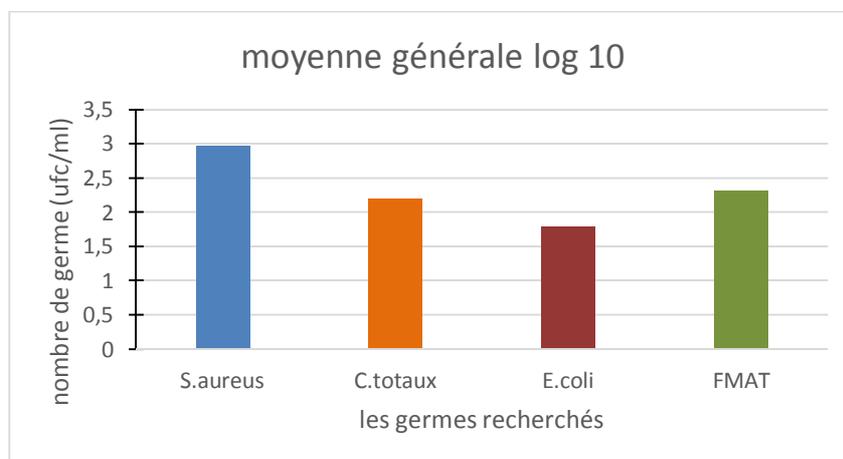
D'après la figure n°17, on a noté la présence de ce germe la plus parts des échantillons sauf l'échantillon n° 02 et qui variait entre **0.46 à  $3,9 \cdot 10^2$  ufc/ml** avec une moyenne de  **$1,65 \cdot 10^2$  ufc/ml**. Qui est inférieur à la norme citer par le journal officiel de 2017 n°39 ( **$3 \cdot 10^5$  -  $3 \cdot 10^6$  ufc/ml**).

Donc on peut dire que le lait de cette ferme est de qualité satisfaisante selon les résultats constaté.

Selon les normes citées par le journal officiel de 2017 n°39, les échantillons des 04 fermes de la wilaya de Tiaret sont de qualités satisfaisantes.

## 2- Selon les germes recherchés

La figure n°18, représente la comparaison des moyennes générale des germes recherchés dans tous les fermes.



**Figure n°18 :** Comparaison des moyennes générale des germes recherchés.

## II. 2-1 *Staphylocoque aureus*

Selon le journal officiel, la norme est limitée la valeur entre **3.10<sup>2</sup> à 3.10<sup>3</sup>** de ce germe dans le lait cru. Les échantillons des 04 fermes sont contaminés par les *Staphylococcus aureus* avec une valeur moyenne de **2.97 log 10 ufc/ml**. Nos résultats sont conformes aux normes bactériologiques du journal officiel de 2017N°39, ces laits sont de qualités satisfaisantes.

*Staphylococcus aureus* fait partie de la flore de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. Parasite habituellement inoffensif, il peut provoquer des infections (abcès cutanés ; mammites). La contamination du lait peut survenir par l'intermédiaire de porteurs sains ou infectés, ou par l'environnement.

Ils provenaient essentiellement de l'eau utilisée dans les différentes étapes de la traite, des mains des trayeurs et des mamelles.

*S.aureus* constitue la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections latentes et les mammites subcliniques ou chroniques. Les mammites étant difficiles à éradiquer, elles représentent la principale source de contamination des laits crus par *S.aureus*. L'excrétion de *S.aureus* dans le lait de quartier varie de **0 à 10<sup>10</sup> -10<sup>10</sup>** bactéries/ml en cas de mammite subclinique et jusqu'à **10<sup>10</sup>** bactéries/ml en cas de mammite clinique. (Asperger, 1994)

Dans notre travail, le taux de contamination du lait montre que la prévalence des mammites subcliniques dans les élevages de la wilaya de Tiaret est élevée.

Chez l'homme, *S.aureus* est disséminé sur la peau et les mains de façon temporaire ou permanente. L'homme est considéré comme le vecteur principal de contamination ou cours de manipulation intervenant tout au long de la chaîne alimentaire.

Cependant dans le lait cru, les souches de biotype humain restent minoritaires par rapport aux souches de biotype bovin. (De buyser et Lapeyre, 1994)

Les mammites subcliniques et/ou la mauvaise hygiène sont à l'origine de la présence des germes pathogènes dans nos échantillons.

Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Mahouz en **2007** dans la wilaya de Tiaret avec une moyenne de **2.77 log 10 ufc/ml**, et inférieures à ceux de **Bouzidi (2017)** dans la région de Ain Dehab avec une moyenne de **3.46 log 10 ufc/ml**. Alors que une étude faite à Bouira par Bouricha (2018) et Boumerdes par Ainouche et Bouslah en 2016, non relevée aucune contamination par ce germe.

## II. 2-2 Coliformes totaux

D'après les résultats, nous avons noté une contamination dans la plus part des échantillons des 04 fermes par les coliformes totaux avec une valeur moyenne de **2.20 log 10 ufc/ml**.

Nos résultats sont supérieurs à ceux avancés par Mahouz (2007) dans la région de Tiaret qui a noté une absence totale de ces germes dans les échantillons prélevés, alors qu'elles sont inférieures à ceux Bouricha (2018) et Ainouche et Bouslah(2016) dans les régions de Bouira et Boumerdes ou la valeur moyenne entre les deux régions était de **2.92 log 10 ufc/ml**.

Selon Guiraud et Rosee, (2004), la contamination par ce germe peut provoquer des intoxications alimentaires.

## II. 2-3 *Escherichia Coli*

Les 26 échantillons analysés ont montré une valeur moyenne de contamination de **1.80 log 10 ufc/ml**, Cette valeur est inférieure à la norme du journal officiel de 2017 N°39 (**5.10<sup>2</sup> - 5.10<sup>3</sup> ufc/ml**), qui Indique que les échantillons sont de qualité hygiénique satisfaisante.

Selon Bouchibi et Boulame (1997), les coliformes fécaux sont des *Escherichia coli* dans 95 à 99% des cas. Mocquot et Guittonneau 1939 ont démontré que les coliformes du genre *Escherichia coli* sont les plus fréquents dans les excréments des vaches laitières.

Selon Aggad et al 2009, l'abondance des coliformes fécaux dans le lait cru reflète une non-observance des dispositions sanitaires requises au cours de la traite et de la récolte du lait, une contamination au cours du transport ou d'un stockage défectueux.

Les principaux vecteurs sont la peau des trayons souillée par les fèces et le matériel de traite mal conçu et mal nettoyé. Et peut être due à l'excrétion mammaire en cas d'infection à *E. coli* ou à une contamination de l'eau utilisée pour les différentes opérations de nettoyage (Aggad et al 2009)

Selon Taybi et al 2014 une contamination fécale élevée, témoigne une pollution fécale des cultures fourragères servant à l'alimentation des vaches laitières. Alors que Srairi et Hamama, 2006 au Maroc, ont cité que la traite manuelle sale (sans nettoyage et sans lavage des mamelles) et l'usage des seaux en plastique ; sont celle qui montre la plus forte contamination du lait en coliforme fécaux.

Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Mahouz (2007) dans la wilaya de Tiaret avec une moyenne de **1.02 log 10 ufc/ml**. Alors qu'elles sont inférieures à ceux des deux études des régions de Bouira et Boumerdes où la valeur moyenne en Coliforme Fécaux du lait analysée était de **2.64 log 10 ufc/ml**.

Nos résultats sont supérieurs à ceux avancés par Bouzidi (2017) dans la région de Tiaret qui a noté une absence totale de ces germes dans les échantillons prélevés. La présence de ces germes, Ils peuvent éventuellement entraîner des toxi-infections alimentaires (Aggad et al 2009).

## II. 2-4 La flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Les échantillons analysés ont montré une valeur moyenne de **2.32log ufc/ml**.

Nos échantillons sont en totalité conforme à la norme fixée par le journal officiel algérien de 2017 N°39 qui limite le taux de présence entre **3.10<sup>-1</sup> - 3.10<sup>-2</sup> ufc/ml**.

Selon Ghazi et Niar 2011, la contamination importante en flore totale est un signe de mauvaises conditions d'hygiène entre le moment de la traite et celui de la réception des échantillons au laboratoire.

Selon Kouamé-Sina et al 2010, les causes pouvant être à l'origine sont : Les ustensiles, l'environnement de la ferme, l'eau utilisée pour les différentes étapes de la traite, les mains de trayeur et les pis des vaches.

Selon Faye et Loiseau 2002, définissent le lait restant à température ambiante durant 4 à 5 heures en pleine journée comme des conditions particulièrement favorable au développement rapide des bactéries. En effet, le refroidissement du lait est important pour éviter la dégradation de sa qualité. Et les bactéries sont bloquées en phase de latence ou la croissance est quasiment nulle.

Nos résultats sont inférieurs à l'étude de Bouzidi 2017 dans la région d'Ain Deheb avec une valeur moyenne de **3.44 log 10 ufc/ml**. Mahouz 2007 dans la région de Tiaret a signalé une valeur moyenne de **5.51 ufc/ml**, qui supérieure à la nôtre et qui dépasse la norme fixé par le journal officiel.

## II. 3- La moyenne générale

Les 26 échantillons analysés sont contaminé par les germes recherchés dans cette étude *les Staphylocoques aureus* avec une charge plus importante que les autre ; d'une moyenne de **2.97 log<sub>10</sub> ufc/ml**, suivie par la flore mésophile aérobie totale avec une moyenne de **2.32log<sub>10</sub> ufc/ml**, alors que les Coliformes totaux présentés une moyenne de **2.20log<sub>10</sub> ufc/ml** et pour finir les *E.coli* avec une moyenne plus faible de **1.80log<sub>10</sub> ufc/ml**.

 *Conclusion*

## Conclusion

---

Notre étude est basée sur la recherche des principaux contaminants bactériologiques du lait cru selon le journal officiel algérien de 2017 n°39.

Pour cela nous avons choisi 04 ferme de la région de Tiaret ; à citer la ferme de Ain Bouchekif, la ferme de Dahmouni, la ferme de ain Guesma et celle de ouled Boughadou ; les germes rechercher était :

Les *Staphylococcus auréus* dont la moyenne de contamination était de 2.97 log<sub>10</sub> ufc /ml ;

Les Coliformes totaux avec une moyenne de 2.20 log<sub>10</sub> ufc /ml ;

*Escherichia Coli* avec une moyenne de 1.80 log<sub>10</sub> ufc ml/ ;

Tandis que pour la flore mésophile totale la moyenne était de 2. 32 log<sub>10</sub> ufc /ml.

Selon les normes du le journal officiel algérien n 39.ces résultats sont inférieurs aux normes indiqués, et le lait est de qualités satisfaisantes.

Le lait de la ferme de ouled Boughadou était le lait le plus contaminer pour les trois germes ; les *Staphylococcus auréus* avec une moyenne 2.99 log<sub>10</sub> ufc /ml, les coliformes totaux avec une moyenne de 2.36 log<sub>10</sub> ufc /ml et les *Escherichia Coli* avec une 1.99 log<sub>10</sub> ufc /ml alors que la ferme d'Ain Bouchakif était la plus contaminer par la flore mésophile totale avec une moyenne 2.45 log<sub>10</sub> ufc /m.

La présence de germes pathogènes dans le lait peut provoquer un danger pour le consommateur qui peut être incriminée dans des toxi-infections alimentaire collectives, et d'un autres coté économique, ces des laits difficile à accepter pour la transformation aux niveaux des industries laitière vue leurs charges bactérienne.



*Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

---

**Aggad et al. 2009** : Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien Revue Méd.Vét ,160 ,12 ,590-595.

**Ainouche et Bouslah en 2016** : Etude Wilaya de Boumerdes ,**Bouricha 2018** : Etude de Wilaya de Bouira : Evaluation de la contamination de lait cru de vache vendu dans la daïra d'Ain Kermes et la commune de Medrissa. (2020, THM2-1497)

**Aissa et Bouheka , Hanet ,2018** : Recherche des principaux contaminants bactériologiques du lait impliqués dans les TIAC.

**Anais Oceania** : Principales méthodes de recherche et de numération des enté

**Asperger, 1994** : Staphylococcus aureus in the significance of pathogenic microorganisms in raw milk .Monographie ,document n°9405, Fédération internationale de laiterie ,Bruxelles ,24-42.

**Biotech.spip** : [http://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/pdf/AT\\_lait\\_cru.pdf](http://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/pdf/AT_lait_cru.pdf)

**Bouchibi et Boulame (1997)**, : Contribution à l'étude des infections intra mammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat en pathologie de la reproduction. Département des Sciences Vétérinaires. Université de Constantine. Pp : 161-188.

**Buyser et lapeyre, 1994** : Contribution à l'évaluation de la qualité sanitaire et hygiénique du lait cru et pasturisé dans la région de Tiaret.

**Bouziani,2009** : Citer dans le mémoire : Evaluation de la contamination de lait cru de vache vendu dans la daïra d'Ain Kermes et la commune de Medrissa. (2020, THM2-

**Cayot et Lorient ,1998** : Structure et techno-fonction des protéines du lait Cd : Tech et Doc, Lavoisier .Paris : 3-22.

1497)

**Bouzidi, 2017** : Contribution à l'évaluation de la qualité sanitaire et hygiénique du lait cru et pasteurisé dans la région de Tiaret

**Faye et Loiseau 2002**, : Sources de contamination dans les filières laitières et Exemple de démarches qualité. Editions : CIRAD-FAO.Montpellier .5P

**Ghazi et Niar 2011** : Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie)

**Guiraud, 1998** : Microbiologie alimentaire, microbiologie des principaux produits alimentaires .Edition DUNOD,Paris :651.

**Guiraud, 2012** : Microbiologie alimentaire. Dunod , Paris , 2012

**Guiraud,et Rosse 2004** pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR 2003.

**(ISO)** : Organisation internationale de normalisation

## Références bibliographiques

---

**I.S.O. 1981** : Lait et produits laitiers transformés

**ISO 7218 ,2003** : Microbiologie des animaux : Règles générales pour les examens Microbiologiques .pp 6.

**ISO8261, 2001** : Lait et produits laitiers \_ Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essais , de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologie .pp 4.

**Joffin, 1999** : Microbiologie alimentaire 5<sup>ème</sup> édition collection Biologie Technique : 211.

**Joffin, 1999** : Microbiologie alimentaire 5<sup>ème</sup> édition collection Biologie Technique : 211.

**Joffin, 2010** : Microbiologie alimentaire. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine 2010 , France.

**JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne

**Journal Officiel de la République algérienne** n° 39, 08 chaoual 1938 2 juillet 2017

**Kouamé-Sina et al 2010** : Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Cote d'Ivoire)

**Larpent, 1997** : Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire TEC&DOC

**Mahouz,2007** : Suivi et évaluation de la qualité hygiénique du lait cru vache dans la région de Tiaret

**Marchal et Bourdon, 1973** : Milieux de cultures et identification biochimique des bactéries. Doin édition .Paris.

**Mocquot et Guittonneau 1939** : Recherche sur la pasteurisation des laits de consommation : Choix d'un milieu de culture pour la numération des germes microbiens.

**Siousarran, 2003** : l'hygiène du lait cru en zone urbaine et périurbaine de Niamey ,Niger

**Srairi,M.T ; Hasni ,A. I ; Hamam ,A et Faye, B. (2005)**: Relation entre pratiques d'élevage et qualité globale du lait de vache en étables suburbaines au Maroc. Revue Méd. Vet : 156 - 162 .

**Taybi et al 2014** : Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru dans la région du Gharb ,Maroc. International Journal of Innovation and Scientific Research ISSN 2351-8014 Vol ,9 No. 2 Sep . 2014 .



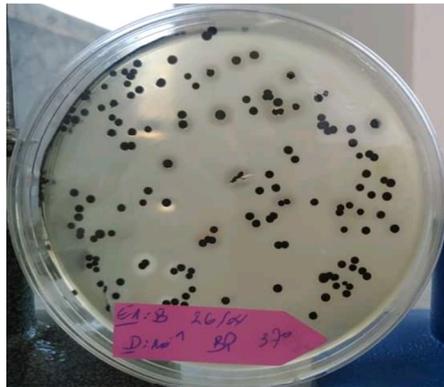
## *Annexes*

## ANNEXE N°01

Photos des résultats des tests de l'expérimentation



**Photos n°01** : Préparation de jaune d'œuf.



**Photo n° 02** : Résultat des recherches de *Staphylococcus aureus*.



**Photo n°03** : Observation microscopique de *Staphylococcus aureus* (coloration de gram).



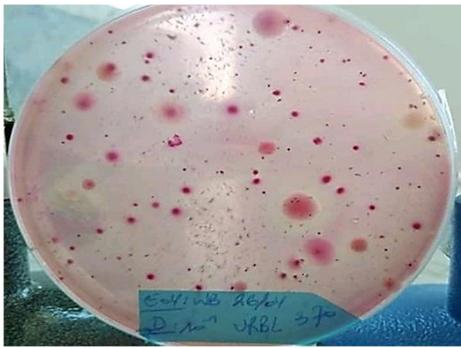
**Photo n°04** : Test oxydase de *S. aureus*.



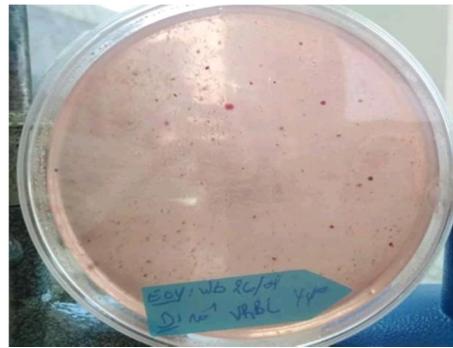
**Photo n°05 :** Test de coagulase  
confirmation de *Staphylococcus aureus*.



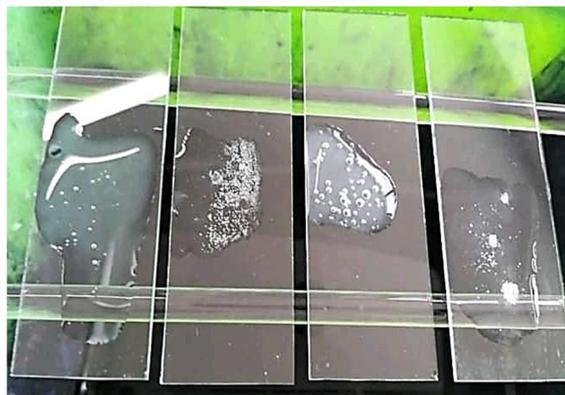
**Photo n°06:** Test DNase de *S.aureus*.



**Photo n°07 :** Résultat des recherches  
des Coliformes totaux.



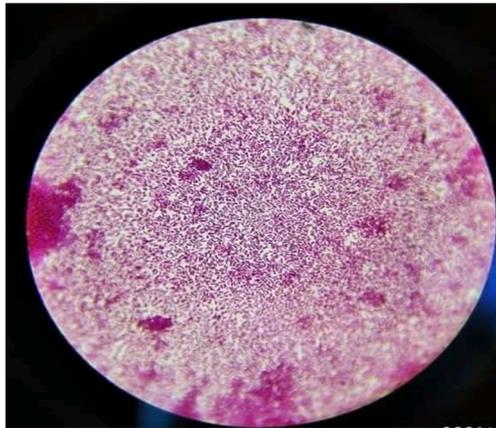
**Photo n°08:** Résultat des recherches  
de Coliforme fécaux.



**Photo n°09:** Test d'oxydase des *Escherichia Coli*



**Photos n°10:** Test TSI d'*Escherichia Coli*.



**Photo n°11 :** Observation microscopique de *Escherichia Coli* (coloration de gram).



**Photos n°12 :** Test urée indole pour la confirmation d'*Escherichia Coli*.



**Photo n°13 :** Résultat des recherches de FMAT.

## ANNEXE N °02

### Composition des milieux de culture

- **Milieu de dilution T.S.E (g/l) (Larpent ,1997)**

NaCl .....	8,5g
Tryptone .....	1g
Eau distillée .....	1000ml

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

Stériliser à une température 120 °C pendant 20 min.

- **Milieu Baird Parker (Marchal et Bourdon, 1973)**

Tryptone .....	10g
Extrait de viande.....	5g
Extrait de levure.....	1g
Chlorure de lithium.....	5g
Gélose.....	20g
Solution de glyocolle.....	6ml
Solution de tellurite.....	1ml
Solution pyruvate.....	5ml
Emulsion de jaune d'œuf.....	5ml
Eau distillé.....	1000ml

PH=7,2

### 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 min.
- 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 %

- **Préparation de jaune d'œuf**

Le jaune d'œuf peut être préparé au laboratoire en suivant le protocole :

- Nettoyer les œufs avec une brosse à l'aide d'un détergent liquide.
- Les rincer à l'eau courante puis désinfecter les coquilles , en les pulvérisant d'alcool suivi de flambage .
- En opérant de façon aseptique , casser chaque œuf et séparer le jaune du blanc .

- Placer les jaunes dans un flacon stérile et ajouter quatre fois leur volume d'eau stérile.
- Mélanger vigoureusement.
- Chauffer le mélange dans le bain marie régler à 47°C pendant 2 h.
- Entreposer le mélange à +3°C ± 2°C pendant 24 h pour laisser se former un précipité.
- Recueillir aseptiquement le liquide surnageant dans un flacon récemment stérilisé pour l'utilisation.

• **Milieu VRBL : (Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge neutre)**

Composition

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

• **Milieu PCA : (Plate Count Agar)**

La gélose standard pour dénombrement est préparée selon la norme français N.F.04-505 et les recommandation de « 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 .

Composition

Tryptone .....	5g
Extrait de levure .....	2,5g
Glucose .....	4g
Gélose (Agar) .....	9g
Eau distillée .....	1000ml

Préparation

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

Attendre 5 min , puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène .

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

## ANNEXE N° 03

### Quelques appareillages du laboratoire utilisés



**Photo n°01 :** Agitateur à plaque chauffante.



**Photo n°02 :** Incubateur.



**Photo n°03 :** Compteur de colonies .



**Photo n°04 :** Bain-marie.



**Photo n°05 :** Autoclave .

ANNEXE N°04

Norme microbiologique du lait (JORA)

8 Chaoual 1438 2 juillet 2017						JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39						13	
ANNEXE I													
Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires													
I- Lait et produits laitiers													
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1/g ou ufc/ml))									
		n	c	m	M								
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10 <sup>5</sup>	3.10 <sup>6</sup>								
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>								
	Coliformes thermotolérants	5	2	5.10 <sup>2</sup>	5.10 <sup>3</sup>								
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml									
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml									
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100									
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>								
	Enterobacteriaceae	5	0	10									
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml									
Lait UHT et lait stérilisé	Germes aérobies à 30 °C	5	0	100.1ml									
Lait en poudre et lactosérum en poudre	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 <sup>2</sup>								
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 <sup>2</sup>								
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g									
Fromages au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>								
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>								
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g									
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100									
Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>								
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>								
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g									
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100									
Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>								
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 <sup>2</sup>								
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g									
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100									
Crème au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>								
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>								
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g									
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100									

## Résumé

Dans la présente étude de 26 échantillons de lait de vache cru de 4 fermes différentes à citer : la ferme de Ain Bouchekif , la ferme Dahmouni , la ferme de Ain Guesma et celle de Ouled Boughadou , ont fait l'objets d'une recherche bactériologique, afin d'évalué leurs qualités hygiénique. Les résultats étaient comme Suits :

Le lait de la ferme de Ouled Boughadou était le lait le plus contaminer pour les trois germes : les *Staphylococcus aureus* , les Coliformes totaux et les *E.coli* , alors que la ferme de Ain Bouchekif était la plus contaminer par la flore mésophile totale .

La moyenne générale de contamination par *staphylococcus aureus* était de 2.97 log<sub>10</sub> ufc /ml, pour les coliformes totaux elle était de 2.20 log<sub>10</sub> ufc /ml, *E.coli* elle était de 1.80 log<sub>10</sub> ufc/ml, tandis que pour la flore mésophile totale elle était de 2. 32 log<sub>10</sub> ufc /ml. Ces résultats restes satisfaisants selon le journal officiel n 39.

Des laits de cette qualité bactériologiques restent non acceptables, pour l'industrie laitière, pour une éventuelle utilisation ou transformation

**Mots clé :** Lait cru, Qualité hygiénique ,Qualité Bactériologique

## الملخص

في هذه الدراسة المكونة من 26 عينة من حليب البقر النقي من 4 مزارع مختلفة منها: مزرعة عين بوشقيف، مزرعة الدحموني، مزرعة عين قاسمة، ومزرعة ولاد بوغدو وتم خضعهم لبحوث بكتيريولوجية لتقييم صفتهم الصحية، النتائج: موضحة كالاتي:

كان حليب مزرعة أولاد بوغدو هو الحليب الأكثر تلوثا بالنسبة للجراثيم الثلاثة: المكورات العنقودية الذهبية، مجموع ، القولونيات والإشريكية القولونية .

بينما كانت مزرعة عين بوشقيف الأكثر تلوثا بالبكتيريا الهوائية .

المعدل العام للتلوث بالمكورات العنقودية الذهبية 2,97 log<sub>10</sub>UFC/ml ، وبالنسبة لمجموع القولونيات كان 2,20log<sub>10</sub>UFC/ml والإشريكية القولونية كان 1,8log<sub>10</sub>UFC/ml

تظل هذه النتائج مرضية وفقا للجريدة الرسمية رقم 39.

يظل الحليب بهذه الجودة البكتيريولوجية غير مقبول لصناعة الألبان ،عدم إمكانية إستخدامها أو تحويلها.

الكلمات المفتاحية : الحليب النقي , صفتهم الصحية , الجودة البكتيريولوجية .