

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoune -TIARET-



Institut Des Sciences Vétérinaires

Mémoire En Vue De L'obtention Du Diplôme De Magister En Sciences
Vétérinaires

Option : Microbiologie Appliquée

THEME

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

 Présenté par :

Bouzidi Saïd

Soutenu le : 12/06/2017

Devant les membres du jury :

<u>Président :</u>	Mr Aggad Hebib	Professeur -Université de Tiaret -
<u>Rapporteur :</u>	Mme Ghazi Keira	MCA -Université de Tiaret -
<u>Examineur :</u>	Mr Hammoudi Abdelhamid	Professeur -Université de Tiaret -
<u>Examineur :</u>	Mr Guemour Djillali	MCA -Université de Tiaret -

Année Universitaire : 2016/2017

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À;

ALLAH le tout-puissant à qui je dois tout.

À mes Chers Parents;

*Pour leur amour, leurs encouragements et soutien sans failles,
Je les remercie de m'avoir accompagné tout au long de mon parcours*

À mes sœurs;

Hanane, Nacera, Malika, Sara et mon frère Bachir

*Qui ont beaucoup apporté à sa réalisation et sans lesquelles je ne serais pas
La personne que je suis aujourd'hui. De faire de cette thèse ce qu'elle est: un moment
de ma vie, gravé dans mon cœur. Merci pour votre amour. Je ne serais pas là sans
vous.*

À toute ma Famille.

À tous mes camarades de promotion: Ismail, Mohamed, Taha, Saïd et Halima.

Remerciements

En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu, tout-puissant de m'avoir donné la force pour réaliser ce modeste travail.

*Mes plus vifs remerciements vont à madame, Ghazi Keira maitre de conférences à l'institut des sciences vétérinaires-université **IBN KHALDOUN -TIARET-** pour m'avoir proposé ce sujet, et de m'avoir fait confiance.*

Sa gentillesse, sa disponibilité dans les moments difficiles, et ses conseils judicieux ont été pour moi l'unique repère, puisse-t-elle trouver dans ce travail le témoignage de ma profonde gratitude.

Je témoigne ma reconnaissance à Mr ; Aggad Hebib professeur à l'institut des sciences vétérinaires –université de Tiaret- pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury.

Je remercie vivement Mr ; Hammoudi Abdelhamid professeur à l'institut des sciences vétérinaires –université de Tiaret- pour avoir accepté de juger ce travail.

Un grand hommage à : Mr Guemour Djilali maitre de conférences -université de Tiaret - pour avoir accepté en toute modestie d'examiner ce travail.

Mes respectueuses gratitude vont à notre chef d'option Monsieur Boukraa laid professeur à l'institut des sciences vétérinaires –Université de Tiaret - pour son aide et accompagnement depuis la première inscription de ce magister jusqu'à son aboutissement.

Je remercie énormément ;

*Boumezrag Assia et Benbelkacem Idir maitres assistants à l'institut des sciences vétérinaires –**Tiaret-** pour leur aide et leur soutien.*

Je tiens également à exprimer ma gratitude à monsieur Zidane Khaled directeur du laboratoire de reproduction animale à l'institut des sciences vétérinaires -Tiaret- pour m'avoir accueilli dans son laboratoire afin de réaliser la partie expérimentale sans oublier le laborantin Doucene Radouane pour son aide.

Un merci particulier à Professeur Maatoug M'hamed pour son aide dans le traitement statistique de ce travail. Je vous exprime ma profonde gratitude et un immense respect.

*Je ne saurais oublier tout le personnel du laboratoire d'hygiène et pathologie animales de l'institut des sciences vétérinaires – **Université de Tiaret-**.*

Je tiens également à remercier tous le personnel de la laiterie sidi Khaled à Tiaret pour leur aide et leurs encouragements.

Enfin à toute personne qui a participé de loin ou de près à l'élaboration de ce projet.

Sommaire :

Pages

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction.....01

Partie I : Synthèse Bibliographique :

Chapitre I: généralités sur le lait.

I.1. définitions02

I.2.composition du lait :

I.2.1. Eau.....05

I.2.2. Matière grasse.....05

I.2.3.Les protéines.....06

I.2.4.Lactose.....09

I.2.5. Matière minérale.....09

I.2.6. Vitamines.....10

I.2.7. Enzymes.....11

I-3 Variations dans la composition du lait:

I.3.1.Facteurs intrinsèques.....14

I.3.2.Facteurs extrinsèques.....15

I.4. Qualité organoleptique du lait:

I.4.1. La couleur.....15

I.4.2. L'odeur.....16

I.4.3. La saveur.....16

I.4.4. La viscosité.....16

I.5.Propriétés physico-chimiques du lait:

I.5.1. Masse volumique.....17

I.5.2. Le point de congélation.....17

I.5.3. L'acidité de titration ou acidité Dornic.....18

I.5.4.Point d'ébullition.....18

I.5.5. Le pH.....18

Chapitre II: Microbiologie du lait cru

II.1. Classification des principaux microorganismes du lait selon leur importance:

II.1.1 Flore indigène ou originelle	19
II.1.2. Flore contaminante.....	20

II.1.2.1 Contaminations du lait cru au stade de la production:

a- Contamination par l'animal.....	23
b- Contamination au cours de la traite.....	25
c- Contamination au cours du transport.....	25

II.2. Principales activités microbiennes dans le lait :

II.2.1. Acidification.....	26
II.2.2. Production de gaz	27
II.2.3. Production d'alcool.....	27
II.2.4. Production de polysaccharides ou de polypeptides	27
II.2.5. Protéolyse.....	28
II.2.6. Lipolyse.....	28

II.3. Altération du lait.....

II.4. Hygiène de la traite.....

II.5. Conservation du lait a la ferme

Chapitre III: Les laits commercialisés et contrôle de qualité :

III.1-Lait pasteurisé.....	33
III.2. Lait stérilisé.....	34
III.3-Lait concentré sucré.....	34
III.4-Lait aromatisé.....	34
III.5-Lait fermenté.....	35
III.6-Lait en poudre.....	35

III.7-Contrôle de qualité :

III.7.1. Définitions:

-Contrôle.....	37
-Qualité	37
-Conformité.....	37

III.7.2. But de contrôle de la qualité:

-Contrôle physico- chimique.....	37
-Contrôle microbiologique	37

III.7.3. Les composantes de la qualité.....

III.7.4. La maîtrise de la qualité.....

III.7.5. L'assurance qualité.....

III.7.6. Système qualité.....

III.7.7. Management qualité	43
--	-----------

Partie II : Matériel et Méthodes:

1. Rappels sur les objectifs	44
2. Durée et lieu de l'étude	44
3. Nature des échantillons et germes concernés par l'analyse	44
4. Matériel utilisé	44
5. Méthodologie :	
5.1. Méthode de prélèvement :	
5.1.1. Lait cru de mélange	45
5.1.2. Lait cru individuel	45
5.1.3. Lait de vache pasteurisé	46
5.2. Transport et conservation des échantillons	46
5.3. Traitement des échantillons	46
5.4. Préparation des échantillons	46
5.4.1. Prise d'essai, et dilutions	46
5.4.2-Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale	47
5.4.3-Le dénombrement des coliformes totaux et fécaux	48
5.4.4-Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	48
5.4.5-Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	49
5.4.5.4 .Recherche du caractère pathogène:	
* Aspect microscopique (Coloration de Gram).....	50
* Purification des souches	50
* Test de la catalase	51
* Recherche de la staphylo-coagulase.....	51
* Antibiogramme.....	53
5.4.6- Recherche des spores des anaérobies Sulfito-réducteurs	54
6. Analyses statistiques des données	55

Partie III : Résultats et Discussion :

1. Prélèvement	56
I. Analyses microbiologiques:	
I.1. La flore mésophile aérobie totale	56
I.2. Coliformes fécaux	60
I.3. Coliformes totaux	63
I.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	64
I.4.4. Identification de <i>S. aureus</i>	68

I.4.5. Antibiogrammes:

I.4.5.1. Souches de <i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méticilline	72
I.4.5.2. Résistance des SARM aux autres antibiotiques.....	73
I.4.5.3. Souches de <i>Staphylococcus aureus</i> sensibles à la méticilline	75
I.4.5.4. Résistance des SASM aux autres antibiotiques.....	75
I.5. Streptocoques fécaux	77
I.6. Clostridies sulfite réducteurs	79
Conclusion générale	80
Références bibliographiques	83

Annexes

Liste des abréviations

AA : acide aminé.

AFNOR : association française de normalisation.

CHU : centre hospitalier universitaire.

CIPC: Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles.

CMT: California Mastitis Test.

CO: oxyde de carbone.

CT : coliformes totaux.

D.O : densité optique.

e⁻: électron.

FAO: Food and agriculture organization.

H : heure.

H⁺: hydrogène.

H₂O₂: peroxyde d'hydrogène.

H₂S: sulfure d'hydrogène.

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point.

I : intermédiaire.

IgA : immunoglobuline classe A.

IgG : immunoglobuline classe G.

IgM : immunoglobuline classe M.

ISO: international standard organisation.

J.O: journal officiel.

Log: logarithme.

mec A : gène de résistance a la méticilline.

MF : MacFarland.

µg : microgramme.

NA : norme algérienne.

NaCl : Le chlorure de sodium.

PCA : plate count agar.

pH : potentiel d'hydrogène.

PLP_{2a}: Protéine de liaison à la pénicilline.

R : résistant.

S : sensible.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline.

SASM : *Staphylococcus aureus* Sensible à la Méthicilline.

TSE : tryptone sel eau.

UFC : unité formant colonie.

UHT: Ultra Haute Température.

VRBL : Violet Red Bile Lactose.

Liste des tableaux

	<u>Pages</u>
Tableau N° 01: Composition moyenne du lait entier.....	03
Tableau N° 02: Composition moyenne du lait de vache.....	04
Tableau N° 03: Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre.....	05
Tableau N° 04: Classification des protéines.....	08
Tableau N° 05: composition du lait en minéraux.....	10
Tableau N° 06: Composition vitaminique moyenne du lait cru.....	11
Tableau N° 07: Caractéristiques des principaux enzymes du lait.....	13
Tableau N° 08: Caractères physiques du lait cru.....	17
Tableau N° 09: Flore originelle du lait cru.....	20
Tableau N° 10: Germes contaminant le lait cru.....	22
Tableau N° 11: Sources et niveaux de contamination du lait.....	26
Tableau N° 12: Tableau récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite.....	32
Tableau N° 13: Composition des laits en poudre (% m/m).....	36
Tableau N° 14: résultats des dénombrements de la flore mésophile totale.....	57
Tableau N°15: résultats des dénombrements des coliformes fécaux	61
Tableau N°16: résultats des dénombrements des coliformes totaux	63
Tableau N°17: résultats des dénombrements de <i>Staphylococcus aureus</i>	65
Tableau N°18: Sensibilité des isolats de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques (n=60).....	70
Tableau N°19: fréquence de résistance des SARM aux antibiotiques.....	73
Tableau N°20: fréquence de résistance des SASM aux antibiotiques.....	75
Tableau N°21: résultats de dénombrement des streptocoques fécaux.....	78

Liste des figures

	<u>Pages</u>
Figure N° 1 : Composition de la matière grasse du lait.....	06
Figure N°2 : Représentation de la micelle de caséine avec sous-unités selon le modèle de Schmidt (1989).....	07
Figure N°03 : Evaluation de la propreté des vaches	24
Figure N°04 : Organigramme de l'identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	52
Figure N°05 : répartition globale des prélèvements selon leur origine.....	56
Figure N°06 : Aspect macroscopique de la flore mésophile aérobie totale sur gélose PCA.....	57
Figure N° 07 : Aspect macroscopique des coliformes fécaux sur le milieu VRBL.....	61
Figure N° 08 : Aspect macroscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> sur le milieu Baird Parker.....	64
Figure N°09 : Résultat du test de la catalase.....	68
Figure N°10 : Aspect microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> Gr x100.....	68
Figure N°11 : Aspect macroscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> sur le milieu Chapman.....	68
Figure N°12 : Illustration de la production d'une Coagulase.....	68
Figure N°13 : pourcentage des souches de staphylocoque isolées.....	69
Figure N°14 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques de <i>Staphylococcus aureus</i>	71
Figure N° 15 : une souche SASM	75
Figure N° 16 : une souche SASM présentant une multi résistance.....	76
Figure N° 17 : Aspect macroscopique des streptocoques fécaux sur le milieu BEA.....	77

Résumé

Le lait est un produit hautement nutritif pour l'homme. La connaissance de sa qualité est donc essentielle pour la protection du consommateur et la prise des mesures zootechniques judicieuses pour améliorer l'élevage des bovins laitiers. La présente étude porte sur l'appréciation sanitaire et hygiénique du lait cru et pasteurisé dans la région de Tiaret et l'évaluation de l'antibiorésistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées. Au total, **90** échantillons de lait cru et pasteurisé ont fait objet d'analyses microbiologiques.

L'analyse a montré une présence de bactéries en trop grand nombre dans tous les échantillons de lait cru de mélange. La contamination moyenne est de **$1,5.10^6$ ufc/ml** pour la **FMAT** contre **9.10^3 ufc/ml** pour les Staphylocoques, **$3,9.10^3$ ufc/ml** pour les coliformes fécaux et **$1,74.10^2$ ufc/ml** pour les Streptocoques fécaux.

Au niveau du pasteurisateur, les échantillons analysés étaient conformes à la norme, par contre ils étaient contaminés au niveau du Tank de stockage et après conditionnement. La présence des germes dans le lait pasteurisé est due à une contamination post-pasteurisation, point critique au niveau de la laiterie.

L'étude des profils de sensibilité aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* a montré une prévalence élevée de **SARM (13.33 %)** isolées essentiellement du lait cru. Ces **SARM** ont présenté une multi-résistance allant des bêta-lactamines, aminosides à l'exception de la gentamicine, cyclines et macrolides. Les **SASM** ont également présenté une résistance vis-à-vis des bêta-lactamines, de la kanamycine, de la tétracycline et de l'érythromycine. Ces résultats témoignent du risque que représentent la consommation de lait et la nécessité de mettre en œuvre un programme de vulgarisation des bonnes pratiques d'hygiène et un encadrement zootechnique de tous les acteurs de la filière afin d'assurer la salubrité durant toute la chaîne de production du lait. La prévalence élevée et la multirésistance des *S. aureus* nécessitent la mise en œuvre d'une stratégie active, efficace où la sécurité microbiologique des aliments doit être garantie afin d'éviter la propagation de résistance aux antimicrobiens par ces micro-organismes.

Mots clés : qualité hygiénique, lait cru, lait pasteurisé, **SARM**, multi-résistance, sécurité microbiologique.

ملخص

يعتبر الحليب منتوج ذو قيمة غذائية عالية للإنسان. معرفة نوعيته أمر ضروري لحماية المستهلك واتخاذ تدابير معقولة لتحسين و تطوير تربية الأبقار الحلوب. تهدف هاته الدراسة إلى تقييم الجودة الصحية للحليب الطازج والمبستر في منطقة تيارت و كذا تقييم مقاومة سلالات المكورات العنقودية الذهبية المعزولة اتجاه المضادات الحيوية. تم تحليل 90 عينة من الحليب الطازج والمبستر. أظهر التحليل وجود عدد كبير جدا من البكتيريا في جميع عينات الحليب الطازج على مستوى الخليط . متوسط التلوث قدر ب $1,5.10^6$ ufc/ml بالنسبة ل FMAT , 9.10^3 ufc/ml للمكورات العنقودية الذهبية $3,9.10^3$ ufc/ml للقولونيات البرازية و $1,74.10^2$ ufc/ml للعقديات البرازية. على مستوى المبستر ، كانت العينات التي تم تحليلها متوافقة مع المعايير المحددة ، أما على مستوى الخزان و بعد التعبئة و التغليف فقد لاحظنا تلوث الحليب . وجود الجراثيم في الحليب المبستر يرجع إلى التلوث بعد البسترة، و هذا ما يشكل نقطة حرجة في الملبنة.

أظهرت دراسة أنماط حساسية المكورات العنقودية الذهبية للمضادات الحيوية ارتفاع معدل انتشار السلالات المقاومة للمنتسولين (13.33%) و المعزولة من الحليب الطازج أساسا كما أظهرت أيضا هذه الجرثومة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية بدءا من عائلة البيتا لاكتامات ، الأمينوغليكوزيد باستثناء جنتاميسين، التتراسكلين و الماكروليدات. أظهرت السلالات الحساسة للمنتسولين أيضا مقاومة اتجاه بيتا لاكتامات ، كاناميسين، التتراسيكلين والإريثروميسين. تعكس هذه النتائج خطر استهلاك الحليب وضرورة تنفيذ برنامج توعية للممارسات الصحية الجيدة والإشراف على تربية الحيوانات من جميع أصحاب المصلحة في القطاع لضمان سلامة الأغذية على امتداد سلسلة إنتاج الحليب. ارتفاع معدل الانتشار و المقاومة المتعددة للمكورات العنقودية الذهبية امر يتطلب تنفيذ استراتيجيات نشطة وفعالة اين يجب ان تكون سلامة الغذاء الميكروبيولوجية مضمونة لتفادي انتشار مقاومة المضادات الحيوية .

الكلمات المفتاحية: الجودة الصحية , الحليب الطازج , الحليب المبستر , المقاومة المتعددة , السلامة الميكروبيولوجية

.SARM

Abstract

Milk is a highly nutritious product for humans. Knowledge of its quality is therefore essential for the protection of the consumer and the taking of the appropriate zootechnical measures to improve the breeding of dairy cattle. The present study concerns the sanitary and hygienic assessment of raw and pasteurized milk in Tiaret district and the assessment of antimicrobial resistance of isolated strains of *Staphylococcus aureus*. A total of **90** samples of raw and pasteurized milk was subjected to microbiological analyses. The analysis showed a presence of too many bacteria in all raw milk mix samples. The mean contamination was **$1,5 \cdot 10^6$ cfu / ml** for TAMF against **$9 \cdot 10^3$ cfu / ml** for Staphylococci, **$3,9 \cdot 10^3$ cfu / ml** for faecal Coliforms and **$1,74 \cdot 10^2$ cfu / ml** for faecal Streptococci.

At the level of the pasteurizer, the samples analysed were in accordance with the standard; on the other hand, they were contaminated at the level of the storage tank and after conditioning. The presence of germs in pasteurized milk is due to post-pasteurization contamination, a critical point in the dairy.

The study of the profiles of sensitivity to antibiotics of *Staphylococcus aureus* showed a high prevalence of **MRSA (13.33%)** isolated mainly from raw milk. These **MRSA** showed a multi-resistance ranging from beta-lactams, aminoglycosides with the exception of gentamicin, cyclins and macrolides. **SASMs** also exhibited resistance to betalactamins, kanamycin, tetracycline and erythromycin. These results demonstrate the risk posed by milk consumption and the need to implement a program of popularization of good hygiene practices and zootechnical supervision of all the actors in the sector in order to ensure the safety throughout the chain production of milk. The high prevalence and multi-resistance of *S. aureus* requires the implementation of an active, effective strategy in which the microbiological safety of food must be ensured in order to prevent the spread of antimicrobial resistance by these microorganisms.

Key words : hygienic quality , raw milk , pasteurized milk, MRSA , multi-resistance , the microbiological safety .

Introduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de **3 milliards** de litres par an. Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière lait connaît une croissance annuelle de **8%**. Avec un taux de collecte inférieur à **15%**, cette filière reste, cependant, fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (**Silait, 2008**).

Le problème du lait est un problème national de par son importance économique, sociale et politique. La flambée des prix de cette matière première sur le marché international a conduit les pouvoirs publics à mettre en œuvre un programme quinquennal (**2009-2010**) d'intensification des productions agricoles, à l'effet d'augmenter la production de lait de vache et de l'intégrer dans les circuits de la production (**Ministère de l'agriculture et du développement rural, 2009**).

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 laiteries d'abaisser la facture d'importation de poudre de lait à environ **400 millions** de dollars, contre **750 millions** en **2008** (**Bouziati, 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

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.

C'est dans cette perspective que s'inscrit notre travail qui a pour objectif :

1. La mise en évidence de la qualité hygiénique et sanitaire du lait dans la région de Tiaret avant et après pasteurisation par des tests bactériologiques.
2. Evaluation de l'antibiorésistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées.

Partie I :
Synthèse bibliographique

I-1-Définitions:

Le lait était défini en **1908** au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum » (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

Selon **Aboutayeb (2009)**, le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes.

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les **24h (Fredot, 2006)**.

Jeantet et al (2008) rapportent que le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenté tout la garantie sanitaire. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation.

Selon la réglementation Algérienne, 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 en traitement thermique. 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. Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire (**J. O, 1993**)

I.2. Composition du lait :

Franworth et Mainville (2010) évoquent que le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes. Les laits sont les seuls aliments naturels complets qui existent, chacun d'eux étant adapté à la race qu'il permet de développer (**Mittaine, 1980**).

Sa composition générale est représentée aux tableaux **N°01,02**. Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite.

Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (**Roudaut et Lefrancq, 2005**). Les principaux constituants du lait par ordre décroissant selon **Pougheon et Goursaud (2001)** sont :

- L'eau très majoritaire.
- Les glucides principalement représentés par le lactose.
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras.
- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire. Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles.
- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

Fredot (2006) rappelle que le lait est constitué de quatre phases :

- Une émulsion de matières grasses ou phase grasse constituée de globules gras et de vitamines liposolubles (A, D).
- Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle.
- Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles, lactose, vitamines B et C, sels minéraux, azote non protéique).
- Une phase gazeuse composée d'O₂, d'azote et de CO₂ dissous qui représentent environ 5% du volume du lait

Tableau N° 01 : Composition moyenne du lait entier (Fredot, 2006)

Composants:	Teneurs (g/100g):
Eau	89.5
Dérivés azotés	3.44
Protéines	3.27
Caséine	2.71
Protéines solubles	0.56
Azote non protéique	0.17
Matières grasses	3.5
Lipides neutres	3.4
Lipides complexes	<0.05
Composés liposolubles	<0.05
Glucides	4.8
Lactose	4.7
Gaz dissous	5% du volume du lait
Extrait sec total	12.8g

Tableau N°2 : Composition moyenne du lait de vache (Alais *et al.*, 2008).

	Composition (g/L)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7%)
Glucides (lactose)	49	Solution
Lipides		
Matière grasse proprement dite	35	Emulsion des globules gras (3 à 5 µm)
Lécithine (phospholipides)	34	
Insaponifiable (stéroïdes, carotènes, tocophérol)	0,5	
	0,5	
Protides		
Caséine	34	Suspension micellaire
Protéines solubles (globulines, albumines)	27	phosphocaséinate de calcium (0,08 à 0,12 µm)
Substances azotées non protéiques	2,5	Solution (colloïdale)
	1,5	Solution (vraie)
Sels		
De l'acide citrique (en acide)	9	Solution ou état colloïdale
De l'acide phosphorique (P ₂ O ₃)	2	
Du chlorure de sodium (NaCl)	2,6	
	1,7	
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

Le tableau N°03 donne la composition moyenne en % pour différentes espèces.

Tableau N°3 : Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre
(Jensen, 1995)

Composants	Vache	Femme	Brebis	Chèvre
Protéines	3.4	1.0	2.9	5.5
Caséines	2.8	0.4	2.5	4.6
Lipides	3.7	3.8	4.5	7.4
Lactose	4.6	7.0	4.1	4.8
Minéraux	0.7	0.2	0.8	1.0

I.2.1. Eau :

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. Elle représente environ 80% du lait (**Goursaud et Boudier, 1985**). La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides. (**Amiot et al., 2002**)

I.2.2. Matière grasse : la matière grasse ou taux butyreux représente **25 à 45** g par litre (**Luquet, 1985**). Elle est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de $0,1$ à 10×10^{-6} m et est essentiellement constituée de triglycérides (98%), de phospholipides (1%) et d'une fraction insaponifiable (1%) [Cholestérol et de β carotène] (**Kuzdzal, 1987**). La matière grasse représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acide gras saturé et de 35% d'acide gras insaturé. Parmi ceux-ci, la proportion d'acide gras polyinsaturés (**vignola, 2002**).

a-Les Phospholipides: du lait, classés comme lipides complexe. Dans le lait, on distingue trois types de phospholipides : les lécithines, les céphalines et les sphingomyelines (**Cayot et Lorient, 1998**).

La caractéristique la plus importante des phospholipides est leur propriété émulsifiante. Cette dernière est due à leur capacité amphipolaire caractérisée par une présence d'une partie hydrophile, qui s'associe à l'eau, et d'une partie lipophile qui s'associe aux constituants du globule de matière grasse (**Ratray et al., 1997**)

b-Les Triglycérides: sont des esters du glycérol, c'est-à-dire qu'ils sont formés par condensation de trois molécules d'acides gras sur une molécule de glycérol (**Walstra 1999**)

c-Fractions insaponifiables: l'insaponifiable groupe l'ensemble des constituants de la matière grasse qui ne réagissent pas avec la soude ou la potasse pour donner des savons, et qui après saponification, sont insolubles dans l'eau en milieu alcalin mais reste solubles dans des solvants organique non miscibles à l'eau. On retrouve principalement dans les fractions insaponifiables des stérols, les caroténoïdes les xanthophylles et les vitamines A, D, E et K. Le plus important des stérols est le cholestérol (**Peereboom, 1969**).

La consommation de la matière grasse laitière est indispensable dans l'alimentation et elle est source des vitamines A, D et E (**Champagne et al., 1984**)

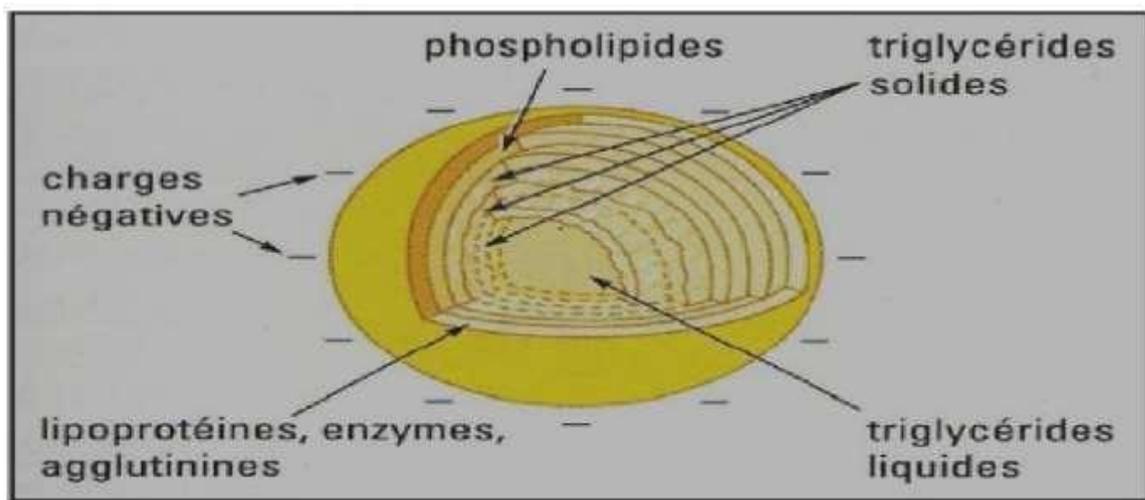


Figure N° 1 : Composition de la matière grasse du lait (**Bylund, 1995**).

I.2.3. Les protéines:

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes et elles constituent une partie importante du lait et des produits laitiers (**Amiot et al., 2002**). On les classe en deux catégories d'après leur solubilité dans l'eau et leur stabilité, d'une part, les différentes caséines qui sont en suspension colloïdale, qui se regroupent sous forme de micelles et qui précipitent sous l'action de la présure ou lors de l'acidification à un pH d'environ 4,6 d'autre part, les protéines du sérum qui sont en solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur (**Whitney et al., 1976**).

a- Les caséines: forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait; Leur point isoélectrique moyen est de 4,65. L'élucidation de la structure tridimensionnelle permet d'affirmer que les caséines se regroupent sous forme sphérique appelée micelle (**Vignola, 2002**).

La taille des micelles se situe entre 100 et 500 nm ; avec un diamètre moyen près de 180 nm et elle varie principalement selon l'espèce animale, la saison, le stade de lactation (**Lenoir, 1985**).

Les micelles de protéine sont constituées de 92% de protéine et de 8% de minéraux. (**Vignola, 2002**). Il semble clair que les micelles sont formées de sous-micelles reliées ensemble par des ponts phosphate de calcium. (**Mc Mahon et Brown, 1984**).

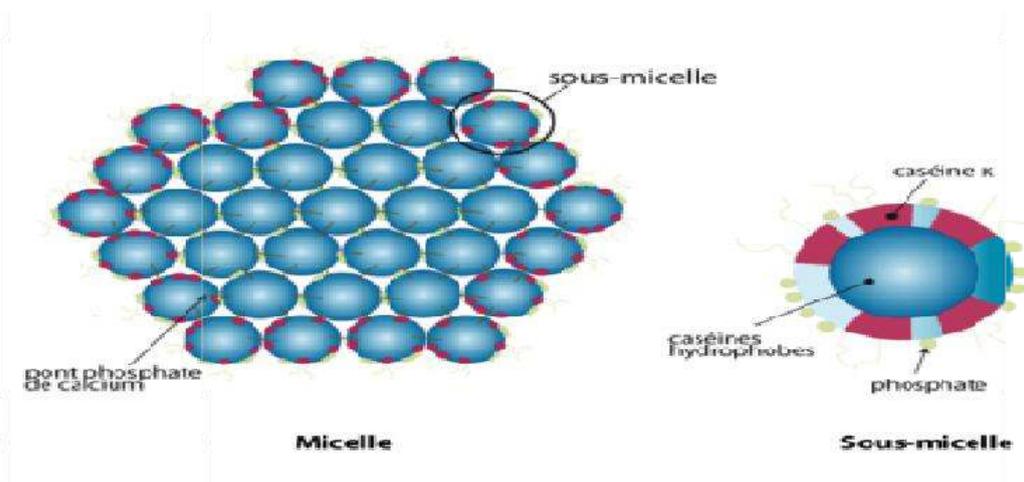


Figure N°2 : Représentation de la micelle de caséine avec sous-unités selon le modèle de **Schmidt (1989)**

b. Les protéines du sérum:

Les protéines de sérum, qui représentent environ **20%** des protéines totales, se retrouvent sous forme de solution colloïdale. Les deux principales sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine; les autres protéines du sérum sont les immunoglobulines, le sérum albumine bovine (SBA) et la lactoferrine. (**Vignola, 2002**).

La β -lactoglobuline:

La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est 5,1. La β -lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés comportant 7 variantes génétiques (A, B, C, D, E, F, G).

Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une β -lactoglobuline se fasse également par un pont disulfure (**Debry, 2001**).

L' α -lactalbumine:

L' α -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés comportant trois variantes génétiques (A, B, C). Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22% des protéines du sérum (Vignola, 2002). Elle joue un rôle dans la biosynthèse du lactose (Linden, 1987).

Le sérum-albumine:

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés. Comptant un seul variant génétique A est identique au sérum albumine sanguin (Vignola, 2002).

Les immunoglobulines: Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines: IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (Thapon, 2005).

La lactoferine : Représente environ 4% des protéines du sérum. Comme son nom l'indique, cette protéine est porteuse de fer, sous forme d'ions ferrique (Fe^{3+}). Il est important de noter que cette protéine est la seule protéine capable d'être stable en présence d'ions ferrique. (Pien, 1975).

Protéoses-peptones:

Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4.6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine β (Debry, 2001).

Tableau N°04: Classification des protéines (Pougheon, 2001)

<i>NOMS</i>	<i>% des protéines</i>	<i>Nombre d'AA</i>
<i>CASEINES</i>	75-85	
Caséine α S1	39-46	199
Caséine α S2	8-11	207
Caséine	25-35	209
Caséine k	8-15	169
Caséine g	3-7	
<i>PROTEINES DU LACTOSERUM</i>	15-22	
-Lactoglobuline	7-12	162
-Lactalbumine	2-5	123
Sérum-albumine	0.7-1.3	582
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	1.9-3.3	-
Protéoses-peptones	2-4	-

I.2.4-Lactose:

Mathieu (1999) évoque que le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin. Celui-ci est en grande partie produit par le foie.

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache. Cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait (**Hoden et Coulon, 1991**).

Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (**Morrissey, 1995**).

- **Fermentation lactique** : due aux bactéries lactiques naturelles ou ajoutées (ferments lactiques) qui utilisent le lactose en le transformant en acide lactique. Cette fermentation lactique est souvent accompagnée d'une production plus au moins grande de substances secondaires (ex. diacétyle) responsables de l'arôme des produits laitiers (**Gordon et Loisel, 1991**).
- **Fermentation propionique** : due aux bactéries propioniques qui transforment le lactose en acide propionique et en acide acétique responsables de la flaveur des fromages à pâte cuite et en gaz carbonique induisant l'ouverture de ces fromages (**Luquet, 1985**).
- **Fermentation butyrique** : par des bactéries du genre *Clostridium* qui utilisent l'acide lactique déjà produit en le transformant en acide butyrique, responsable d'odeurs putrides et de goût piquant, et en gaz carbonique et hydrogène. Ces substances induisent le gonflement tardif des fromages, en particulier à pâte cuite.
- **Fermentation alcoolique**: due à des levures qui hydrolysent le lactose en glucose et galactose et qui transforment ensuite le glucose en alcool éthylique. Cette fermentation est utilisée en particulier dans la fabrication du kéfir, boisson issue de la fermentation du lait, contenant peu d'alcool et légèrement gazeuse.

A température élevée, le lactose participe avec les protéines à des réactions de brunissement non enzymatique pouvant altérer la couleur des laits stérilisés (**Alais, 1975**).

I.2.5.Matière minérale: La matière minérale du lait (7g à 7,5g/l) est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique. Les minéraux ont un rôle structural et fonctionnel: ils sont souvent impliqués dans le mécanisme physiologiques (régulation nerveuse ou enzymatique, contraction musculaire (**Brule, 1987**)).

Il est possible de doser les matières minérales ou cendres du lait par une méthode de calcination à 550°C (**Luquet, 1985**)

La quantité des minéraux contenus dans le lait après incinération varie de 0,60 à 0,90%. Ils prennent plusieurs formes ; ce sont le plus souvent des sels, des bases, des acides (**Juillard et al., 1996**).

Les minéraux du lait se trouvent sous deux formes principales, surtout sous forme de sels ionisés et solubles dans le sérum et sous forme micellaire insoluble. Les éléments basiques majeurs comme le calcium, le potassium, le magnésium et le sodium forment des sels avec les constituants acides que sont les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures. En outre, le calcium, le magnésium, les citrates et les phosphates se trouvent sous forme colloïdale dans les micelles de caséines (**Juillard et al., 1996**).

À cette liste s'ajoutent certains éléments, comme le soufre présent dans les protéines et les oligo-éléments suivants, qui sont présents à de faibles concentrations ou à l'état de trace : manganèse, bore, fluor, silicium, brome, molybdène, cobalt, baryum, titane, lithium et probablement certains autres. Cette composition est sujette à d'importantes variations selon les saisons et l'alimentation des vaches. Ainsi, un lait provenant de vaches en pâturage sera plus stable lors des traitements thermiques puisque sa teneur en citrate sera plus élevée ; ce composé fixe le calcium qui peut avoir un effet déstabilisant.

Il est important de noter que la composition en minéraux d'un lait mammiteux tendra à se rapprocher de la composition du sang ; c'est pourquoi il sera plus riche en chlorures et en sodium, mais moins riche en calcium, magnésium, potassium et phosphore (**Juillard et al., 1996**).

Tableau N°05: composition du lait en minéraux (**Juillard et al., 1996**).

Minéraux	Teneur (mg/kg)	Minéraux	Teneur (mg/kg)
Sodium (Na)	445	Calcium (Ca)	1180
Magnésium (Mg)	105	Fer (Fe)	0,50
Phosphore (P)	896	Cuivre (Cu)	0,10
Chlore (Cl)	958	Zinc (Zn)	3,80
Potassium (K)	1500	Iode (I)	0,28

I.2.6. Vitamines:

Selon **Vignola (2002)**, les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires.

L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser. On les retrouve en très petite quantité dans les aliments.

On répartit les vitamines en deux classes selon leur solubilité, soit les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B, vit C, vit H, acide folique, niacine et niacinamide, acide pantothénique), se retrouvent en plus grande concentration dans le sérum, et les vitamines liposolubles (vit A, vit D, vit E, vit K) qui sont associées à la matière grasse, par conséquent l'écémage du lait diminuera considérablement leurs concentrations. Par contre elles sont en plus grande concentration dans les produits comme la crème et le beurre. Les différentes vitamines peuvent ressentir l'effet de la chaleur et de la lumière (Adrian, 1987).

Tableau N°06 : Composition vitaminique moyenne du lait cru (Amiot *et al.*, 2002)

<i>Vitamines</i>	<i>Teneur moyenne</i>
<i>Vitamines liposolubles</i>	
Vitamine A (+carotènes)	40µg/100ml
Vitamine D	2.4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	5µg/100ml
<i>Vitamines hydrosolubles</i>	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B12 cyanocobalamine)	0.45µg/100ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350µg/100ml
Acide folique	5.5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3.5µg/100ml

I.2.7. Enzymes:

Pougheon (2001) définit les enzymes comme des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des

globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile

Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température. (**Kitchen et al., 1970**)

a- Les lipases sont des estérases qui catalysent l'hydrolyse des triglycérides à l'échelle des liaisons entre les acides gras et le glycérol. Cette réaction, nommé lipolyse, forme des acides gras libres et différents glycérides, mono- glycérides ou di-glycérides, et à la limite du glycérol si l'hydrolyse est complète. La production d'acide butyrique pour cette réaction est responsable du goût rance du lait (**Got, 1971**).

Les lipases présentes dans le lait sont d'origines naturelle et d'origine microbienne. Les premières sont détruites par la pasteurisation, tandis que les lipases microbiennes sont plus résistantes (**Got, 1971**).

b- Les phosphatases catalysent l'hydrolyse des esters phosphoriques. La phosphatase alcaline est une glycoprotéine présente dans le lait. Elle est active à un pH alcalin, entre 9 et 10, et nécessite la présence d'ions magnésium et zinc. La dénaturation de cet enzyme peut se faire par un chauffage à 60C° pendant une heure, à 70C° pendant une minute, à 72C° pendant trente secondes ou à 78C° pendant deux secondes (**Got, 1971**).

c- Les protéases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des liens peptidiques des protéines et qui produisent des protéases, des peptones, des peptides ou même des acides aminés selon le degré d'hydrolyse. Les deux principales protéases du lait sont le lysozyme et la plasmine. Le lysozyme possède des propriétés antibactériennes puisqu'il hydrolyse les protéines des parois cellulaires des bactéries. La plasmine joue un rôle important dans le lait, car elle hydrolyse les caséines β , α_1 et α_2 , ce qui libère des peptides de différentes longueurs; ce sont eux qui amènent les goûts particuliers de certains fromages comme le gouda ou des fromages de type suisse. Cet enzyme est thermorésistant puisqu'il faut dès à 70C° pendant quarante minutes ou à 90C° (**Got, 1971**).

d- Les déshydrogénases, ou oxydases, sont des enzymes qui catalysent les réactions d'oxydation. Les deux principales oxydases présentes dans le lait sont la sulfhydryle oxydase et la xanthine oxydase. La première est une metalloglycoprotéine qui permet la formation des ponts désulfure présents dans la structure tertiaire de certaines protéines du lait. Cette réaction d'oxydation forme du H₂O₂ qui sera éliminé par la catalase ; par contre la seconde (xanthine oxydase) est un enzyme dont le rôle est moins bien défini dans le lait.

On sait toutefois que cette enzyme participe à la formation de l'acide urique lors de la décomposition de s bases puriques telles que l'adénosine et la guanine, qui sont présents dans les acides ribonucléiques (ARN) et désoxyribonucléiques (ADN) (Got, 1971).

e-La lactoperoxydase est une glycoprotéine qui catalyse l'oxydation, par le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ de certains composés réducteurs tels que les phénols. Sa présence est appréciable dans le lait et son pH d'activité maximale est près de la neutralité, soit 6,8. Sa dénaturation est totale par une pasteurisation à 72C° pendant 15 secondes. En raison de cette caractéristique, on évalue de plus en plus l'activité de cette enzyme pour vérifier l'efficacité de la pasteurisation (Got, 1971).

Tableau N°07: Caractéristiques des principaux enzymes du lait (Vignola, 2002)

Groupe d'enzyme	Classes d'enzymes	pH	Température		Substrats
<i>Hydrolases</i>	<i>Estérases</i>				
	Lipases	Phosphatase	8.5	37	Triglycérides
	alkaline		9-10	37	Esters phosphoriques
	Phosphatase acide		4.0-5.2	37	Esters phosphoriques
	<i>Protéases</i>				
	Lysozyme	Plasmine	7.5	37	Parois cellulaire
			8	37	microbienne Caséines
<i>Déshydrogénases ou oxydases</i>	Sulfhydrile oxydase		7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydase		8.3	37	Bases puriques
<i>Oxygénases</i>	Lactoperoxydase		6.8	20	Composés
	Catalase		7	20	réducteurs+H ₂ O ₂ H ₂ O ₂

I-3. Variations dans la composition du lait:

Le lait qui arrive à l'usine, constitue une matière première dont la composition n'est pas fixe. Ce caractère rend donc l'utilisation de cette matière première assez difficile, diminue les rendements et modifie les caractères organoleptiques des produits finis. Deux grands types de variation existent, au stade de l'animal et au stade du traitement du lait. La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs (Stoll, 2003). Ces principaux facteurs de variation sont bien connus. Ils sont soit

intrinsèques liés à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire, etc.), soit extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation).

Cependant, si les effets propres de ces facteurs ont été largement étudiés, leurs répercussions pratiques sont parfois plus difficiles à interpréter compte tenu de leurs interrelations (Wolter, 1988).

I.3.1. Facteurs intrinsèques :

1/ Facteurs génétiques : On observe des variations importantes de la composition du lait entre les différentes races laitières et entre les individus d'une même race. D'une manière générale, on remarque que les fortes productrices donnent un lait plus pauvre en matières azotées et en matière grasse. Ces dernières sont les plus instables par rapport au lactose (Veisseyre, 1979).

Jakob et Hänni en 2004, notent l'existence de variants génétiques A et B issus des mutations ponctuelles. Ces derniers donnent des protéines différentes qui ne se distinguent que par l'échange d'un ou deux acides aminés. Les variants génétiques des protéines du lait, notamment ceux de la caséine κ (κ -Cn) et de la β -lactoglobuline (β -Lg), influencent la composition du lait et certains critères de productivité des vaches.

2/ Stade de lactation :

Au cours de la lactation, les quantités de matière grasse, de matières azotées et de caséines évoluent de façon inversement proportionnelle à la quantité de lait produite. Les taux de matière grasse et de matières azotées, élevés au vêlage, diminuent au cours du premier mois et se maintiennent à un niveau minimal pendant le deuxième mois. Ils amorcent ensuite une remontée jusqu'au tarissement. L'amplitude de variation est généralement plus importante pour le taux butyreux que pour le taux protéique. Les laits de fin de lactation présentent les mêmes caractéristiques des laits sécrétés par les animaux âgés. En outre, les deux taux, protéique et butyreux, ont tendance à diminuer au cours des lactations successives (Meyer et Denis, 1999).

3/ Age et nombre de vêlage:

Veisseyre en 1979, montre que la quantité de lait augmente généralement du 1^{er} vêlage au 5^{ème}. Puis diminue sensiblement et assez vite à partir du 7^{ème}. Le vieillissement des vaches provoque un appauvrissement de leur lait, ainsi la richesse du lait en matière sèche tend à diminuer. Ces variations dans la composition sont attribuées à la dégradation de l'état sanitaire de la mamelle ; en fonction de l'âge, le nombre de mammites croît et la proportion de protéines solubles augmente en particulier celles provenant du sang (Mahieu, 1985).

4/ Etat sanitaire: Lors d'infection, il y a un appel leucocytaire important qui se caractérise par une augmentation de comptage cellulaire induisant des modifications considérables dans la composition du lait (**Badinand, 1994**).

Les mammites sont les infections les plus fréquentes dans les élevages laitiers. Elles sont à l'origine d'une modification des composants du lait avec pour conséquence, une altération de l'aptitude à la coagulation des laits et du rendement fromager (**Toureau et al., 2004**).

I.3.2. Facteurs extrinsèques:

1. Alimentation :

L'alimentation joue un rôle important ; elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse et de protéines.

En effet, selon **Coulon et Hoden en (1991)**, le taux protéique varie dans le même sens que les apports énergétiques, il peut aussi être amélioré par des apports spécifiques en acides aminés (lysine et méthionine). Quant au taux butyreux, il dépend à la fois de la part d'aliment concentré dans la ration, de son mode de présentation et de distribution (finesse de hachage, nombre de repas, mélange des aliments). Dans les conditions pratiques l'ensilage de maïs permet de produire un lait plus riche en matières grasses (de **3 à 4g par kg**) et en protéines (de **1 à 2g par kg**).

2. Saison et climat:

L'effet propre de la saison sur les performances des vaches laitières est difficile à mettre en évidence compte tenu de l'effet conjoint du stade physiologique et des facteurs alimentaires (**Coulon et al., 1991**). A partir des travaux réalisés par Spike et Freeman en (**1967**) cité par **Coulon et al., en (1991)**, il a été montré que la production laitière est maximale au mois de juin et minimale en décembre. A l'inverse, les taux butyreux et protéique du lait sont les plus faibles en été et les plus élevés en hiver. Chez des vaches de type pie noire, ils atteignent **30g/Kg** pour le taux butyreux et près de **20g/Kg** pour le taux protéique.

I.4. Qualité organoleptique du lait:

Vierling (2003) rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

I.4.1. La couleur: 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 B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (**Fredot, 2005**)).

Reumont (2009) explique que dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement

qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche.

I.4.2. L'odeur:

Selon **Vierling (2003)**, l'odeur du lait est caractéristique du fait que la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

I.4.3. La saveur:

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante.

Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est en parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**Vierling 2003**).

I.4.4. La viscosité:

Rheotest (2010) a montré que la viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques.

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. Ainsi, un consommateur d'Europe centrale évalue de manière très positive le lait concentré à forte consistance (filandreux). Il associe la teneur élevée des composants du lait à la viscosité élevée.

Tableau N°08 : Caractères physiques du lait cru (Larpen, 1997)

	Caractère normal	Caractère anormal
Couleur	Blanc mat Blanc jaunâtre Lait riche en crème	Gris jaunâtre: lait de mammite Bleu, jaune ; lait coloré par des substances chimiques ou des pigments bactériens.
Odeur	Odeur faible	Odeur de putréfaction, de moisissure, de rance.
Saveur	Saveur agréable	Saveur salée : lait de mammite Goût amer: lait très pollué par des bactéries.
Consistance	homogène	Grumeleuse: mammite. Visqueuse ou coagulée : pollution bactérienne.

I.5. Propriétés physico-chimiques du lait:

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Amiot *et al.*, 2002).

I.5.1. Masse volumique:

Selon Pointurier (2003), la masse volumique d'un liquide est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de ce liquide divisée par son volume. Elle est habituellement notée ρ et s'exprime en Kg.m^{-3} dans le système métrique. Comme la masse volumique dépend étroitement de la température, il est nécessaire de préciser à quelle température (T) elle est déterminée.

I.5.2. Le point de congélation:

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre $-0,54\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $-0,55\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Mathieu, 1998). La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ $0,0055\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Goursaud, 1985).

On constate de légères fluctuations dues aux saisons, à la race de la vache, à la région de production. On a par exemple signalé des variations normales de $-0,530$ à $-0,575\text{ }^{\circ}\text{C}$. Le mouillage élève le point de congélation vers $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, puisque le nombre de molécules, autres que celles d'eau, et d'ions par litre diminue. D'une manière générale tous les traitements du lait ou les modifications de sa composition qui font varier leurs quantités entraînent un changement du point de congélation (Mathieu, 1999).

I.5. 3. L'acidité de titration ou acidité Dornic :

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (**Mathieu, 1998**). 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 du lactose en acide lactique par divers microorganismes (**CIPC lait, 2011**). On exprime couramment l'acidité d'un lait en degré Dornic ; ce dernier étant le nombre du dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer **10** millilitres de lait en présence de phénolphthaléine. Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités titrables différentes et inversement. C'est dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration (**Dieng, 2001**).

Un lait cru au ramassage doit avoir une acidité ≤ 21 °D. Un lait dont l'acidité est ≥ 27 °D coagule au chauffage ; un lait dont l'acidité est ≥ 70 °D coagule à froid. (**Jean et Dijo, 1993**)

I.5.4. Point d'ébullition:

D'après **Amiot et al (2002)**, on définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit **100, 5°C**.

I.5.5. Le pH:

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6, 7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH, car: $pH = \log 1/[H_3O^+]$ a la différence avec l'acidité titrable qu'elle mesure tous les ions H^+ disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait. (**CIPC lait, 2011**)

Un lait mammitique, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un $pH > 7$ et le colostrum un pH voisin de 6 (**Luquet, 1985**).

Chapitre II: Microbiologie Du Lait Cru:

Les microorganismes jouent un rôle important dans le monde vivant, ils peuvent avoir des effets bénéfiques ou nuisibles en fonction des domaines considérés (biotechnologie, environnement, santéect) (Larpen, 1997)

Le lait est 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).

Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. (Institut de l'élevage, 2009). Néanmoins le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (<5.10³ par ml de germes saprophytes du pis et des canaux galactophres; microcoques, streptocoques lactiques et lactobacillus et <1 coliformes par ml) (Larpen, 1997)

Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologies chez l'homme (Institut de l'élevage, 2009).

L'importance et la nature des bactéries contaminant le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (Agabriel *et al.*, 1995), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (Robinson, 2002). Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml (Ramet, 1985). Dans cette microflore contaminante, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première (Adda *et al.*, 1982)

II.1. Classification des principaux microorganismes du lait selon leur importance

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

II.1.1 Flore indigène ou originelle:

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10³ germes/ml).

A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (Cuq, 2007). La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (Vignola, 2002). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles.

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Varnam et Sutherland, 2001). Le tableau N°09 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau N°09 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

<i>Microorganismes</i>	<i>Pourcentage (%)</i>
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus ou Lactococcus</i>	< 10
<i>Gram négatif</i>	<10

II.1.2. Flore contaminante:

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002). On considère comme flore contaminante d'altération et pathogène du lait l'ensemble des microorganismes qui s'ajoutent au lait extrait du pis de la vache. Il semble que la contamination à l'étable soit la plus importante (Andelot, 1983).

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement: entérobactéries, Pseudomonas, Flavobacterium, microcoques, corynébactéries, Bacillus, etc., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière (Tableau N°10).

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes: *Salmonella*, *Yersinia*.

Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (**Leyral et Vierling, 2007**). D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade.

Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis: *Streptococcus pyogenes*, *Corynebactérium pyogenes*, *staphylocoques*, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : *Salmonella*, *Brucella* ;agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*; agent de la listériose , *Mycobacterium bovis* et *tuberculosis*; agents de la tuberculose , *Bacillus anthracis*; agent du charbon , *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, et quelques virus.

Tableau N°10: Germes contaminant le lait cru (Jakob *et al.*, 2009).

Sources de contamination		Psychrotrophes
Germes Gram positifs		
-Germes sporulés aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
-Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
-Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
-Staphylocoques	Peau, muqueuses	Non
-Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
-Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
-Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
-Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
Germes Gram négatifs		
-Colibactéries (<i>E. coli</i>)	Fèces, eaux usées	Non
-Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
- <i>Pseudomonas</i>	Eau, sol (très répandu)	Oui
- <i>Alcaligenes</i> , <i>Flavobacterium</i> , etc.	Eau, sol (très répandu)	Oui
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	Oui

Hormis les maladies de la mamelle, le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (**Tableau N°11**) (**FAO, 1995**).

II.1.2.1 Contaminations du lait cru au stade de la production:

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de **10°C** le plus rapidement possible, au mieux dans l'heure qui suit la traite. Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelques jours) (**Guiraud et Galzy, 1980**).

a. Contamination par l'animal:

Le lait renferme, lorsque l'animal est sous médication, des résidus d'antibiotiques qui sont à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation tels que les yaourt, fromages et autres laits fermentés (**Ben Mahdi et Ouslimani, 2009**). Ces laits anormaux doivent être séparés du lait sain et ne pas être utilisés pour la transformation.

Le canal du trayon est toujours contaminé, même chez un animal sain; de ce fait, les premiers jets de lait obtenus lors de la traite doivent être éliminés. L'extérieur de la mamelle est toujours chargé en germes ; l'importance de la charge, qui est liée aux conditions de propreté de la stabulation, représente une source de contamination majeure du lait.

Un nettoyage correct de la mamelle effectué avant la traite est donc indispensable pour obtenir un lait de bonne qualité microbiologique. Deux méthodes peuvent être conseillées pour y parvenir:

- ✓ La première consiste à réaliser un nettoyage à sec du pis à l'aide de serviettes en papier ou en polyester et à usage unique;
- ✓ La seconde méthode consiste à laver la mamelle avec une solution désinfectante tiède (chlore: **500 mg/l** - iode: **75 mg/l**), puis à la sécher avec une serviette propre à usage multiple ou mieux à usage unique (**Boudier et Luquet, 1978**).

La propreté des vaches a un impact significatif sur la santé du pis et en particulier sur le taux de mammites environnementales. Le maintien de la propreté du pis et des membres des vaches permet de diminuer la propagation d'agents pathogènes de l'environnement vers le canal du trayon. Selon la zone de l'animal qui est souillée, on peut déterminer que les lieux dans l'étable où le niveau de propreté est inadéquat et ainsi apporter les correctifs nécessaires (Figure N°03) (Levesque, 2004).

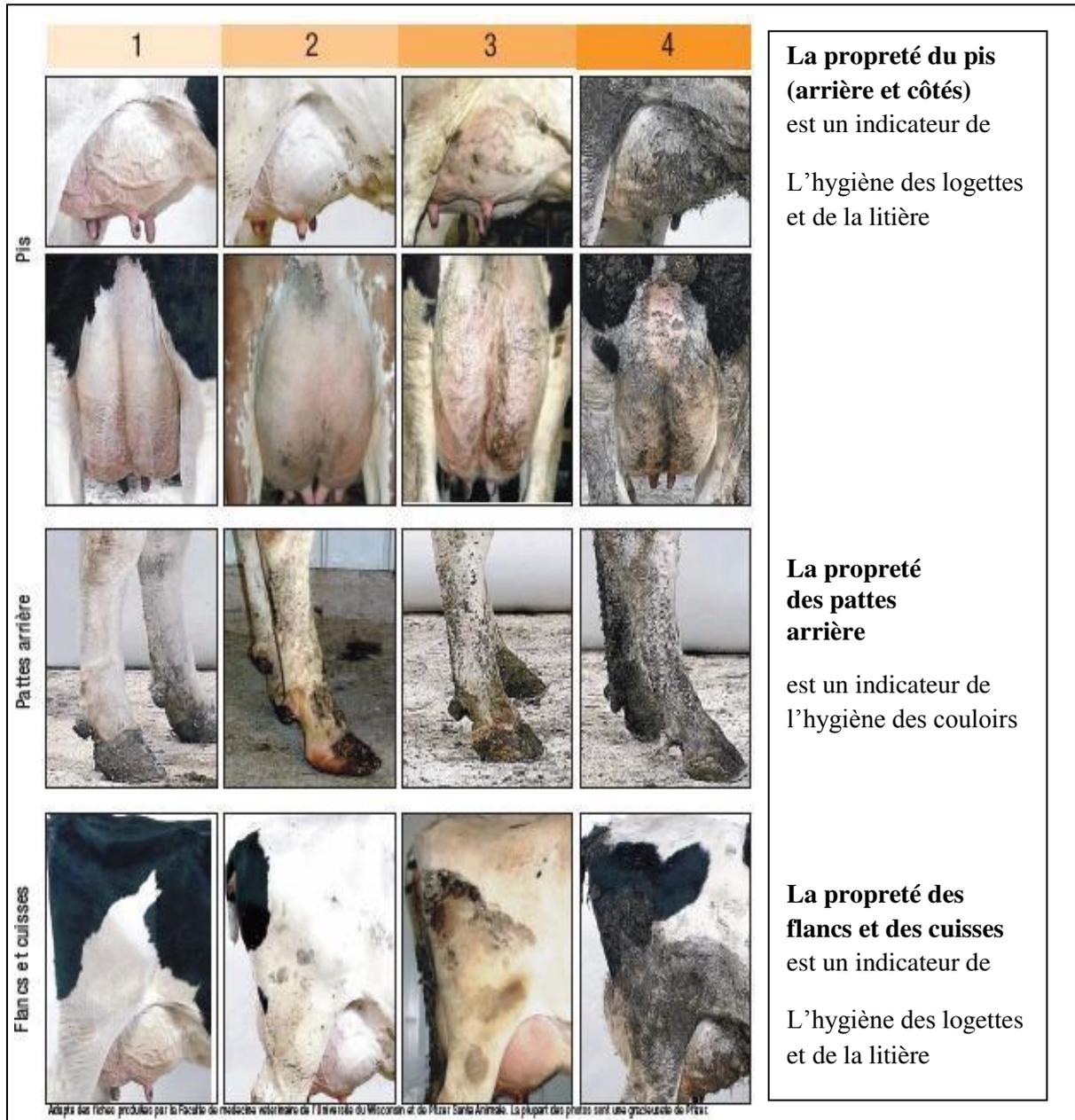


Figure N°03: Evaluation de la propreté des vaches (Levesque, 2004). (Etat1 propre ; 2 relativement propre ; 3 souillé; 4 très souillé)

b. Contamination au cours de la traite:

C'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de groupes microbiens: une douzaine de groupes microbiens parmi les flores utiles, flores d'altération et pathogène sont systématiquement détectés. Les groupes microbiens utiles (bactéries lactiques) sont fortement dominants, leurs niveaux étant au moins 100 fois supérieurs à ceux des groupes d'altération ou pathogènes (staphylocoques à coagulase positive).

Dans le lactoduc et l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque que seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents.

Les niveaux des flores d'altération sont alors du même ordre de grandeur que ceux des groupes utiles.

Pour un même réservoir, des différences de niveaux et de composition microbienne existent et sont liées à la saison ; ainsi, en été, les surfaces des trayons abritent des niveaux moindres de tous les groupes microbiens ; par contre, dans les lactoducs, en été, on extrait des niveaux plus importants de *Pseudomonas* (germes d'altération). Pour une même saison, des différences de composition microbienne de ces réservoirs existent entre les exploitations: elles sont alors associées aux pratiques mises en œuvre.

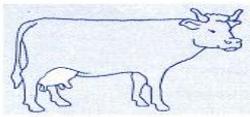
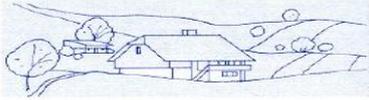
Ainsi, en hiver, le niveau et la composition de la charge microbienne présente en surface des trayons sont en lien avec la nature des litières et le confinement de l'ambiance (**Lemire, 2007**).

C. Contamination au cours du transport:

La collecte et le transport se font grâce à des camions-citernes réfrigérés qui récoltent régulièrement le lait dans les fermes. Ils doivent respecter un certain nombre de règles légales afin de livrer un lait de bonne qualité, notamment par le maintien du lait au froid qui a pour but 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 et al., 2011**).

Tableau N°11: Sources et niveaux de contamination du lait (Crema, 2003)

	Normal	Anormal	
Pis	< 100 germes par millilitre	100'000 et plus par millilitre	
Environnement	1'000 – 5'000 germes par millilitre	10'000 et plus par millilitre	
Ustensiles à lait	1'000 - 30'000 germes par millilitre	100'000 et plus par millilitre	
Refroidissement et durée de stockage	pas d'augmentation significative	500'000 et plus par millilitre	

II.2. Principales activités microbiennes dans le lait :

Les activités métaboliques des microorganismes présents dans le lait peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture et le goût des produits laitiers. Il ya six principales catégories d'activités métaboliques pouvant survenir dans le lait: l'acidification, la production de gaz tels que le dioxyde de carbone, l'alcoolisation, le limonage, la protéolyse et la lipolyse (Guiraud et Galzy, 1980).

II.2.1. Acidification :

Lors de leur croissance, certains microorganismes, grâce à la galactosidase, hydrolysent le lactose du lait pour produire deux nouveaux sucres: le glucose et le galactose.

Les bactéries lactiques font partie de ce groupe. Généralement, le glucose provenant de cette hydrolyse sera fermenté pour produire des composés acides, du CO₂, dans certains cas ou de l'alcool. Cette production de composés acides va amener un abaissement du pH du produit se caractérisant par des odeurs et goûts surs.

L'acidification du lait est un bon indice pour évaluer la qualité microbiologique et le respect de la chaîne de froid du lait cru. C'est pour cette raison que l'industrie laitière évaluera le pH ou l'acidité titrable du lait à la réception comme indice de la qualité microbiologique de cette matière première (Hylan *et al.*, 1984).

II.2.2. Production de gaz :

Certaines bactéries lactiques ne produisent que de l'acide lactique lors de la fermentation du lactose. On dit qu'elles sont homofermentaires. Toutefois, d'autres bactéries lactiques produisent du CO₂ et d'autres sous-produits en addition à l'acide lactique. On qualifie ces bactéries d'hétéro fermentaires ou degazogènes. Outre les bactéries hétérofermentaires, il y a aussi des bactéries non lactiques acidifiantes produisant aussi du CO₂ comme sous produit de leur fermentation. La plus part de ces bactéries non lactiques hétérofermentaires sont d'origine fécale ou tellurique, c'est-à-dire du sol. Leur présence indique en général que la production, la récolte ou la transformation du lait a pu se faire dans des conditions non hygiéniques. Enfin les levures ont aussi une activité fermentaire permettant de transformer le lactose en alcool et en CO₂. Plusieurs de ces microorganismes sont thermotolérants (**Charon, 1986**).

II.2.3. Production d'alcool :

Les levures, microorganismes responsables de la production d'alcool, transforment le lactose du lait en alcool. La principale conséquence est l'apparition d'une odeur levure ou alcoolisée, souvent associée à la bière ou au pain (**Alais, 1984**).

La présence d'odeur ou de goût d'alcool dans le lait cru indice de mauvaises pratiques d'hygiène à la ferme, principalement en regard de la qualité de l'air. On peut soupçonner un taux de poussière trop élevé ou d'ouverture prolongé des portes et des fenêtres (**Alais, 1984**). A titre d'exemple de conditions contrôlées, on peut mentionner l'activité des levures dans la fabrication du kéfir.

Par contre, la présence d'une odeur levurée, de bière, de pain ou de renfermé dans un lait cru témoigne d'une contamination non contrôlée par des levures (**Alais, 1984**).

II.2.4. Production de polysaccharides ou de polypeptides :

Certains microorganismes utilisent les sucres ou les protéines du lait pour construire des molécules plus grosses et plus longues appelées respectivement polysaccharides ou polypeptides. On dira de ces microbes qu'ils sont filants, limoneux, texturants ou épaississants (**Kuzdzal et Mocqout, 1960**).

La production de ces longues molécules donne une texture ou grasseuse au lait en raison de leur grosseur et de leur longueur. Selon les auteurs, les termes utilisés pour caractériser les bactéries responsables de cette production varient : poisseuses ou englues, collants, limoneux, gluants, épaississants, texturants, ou visqueux. Comme la plupart de ces microorganismes sont mésophiles, la présence de ce problème dans les produits laitiers est souvent un indice du bris de la chaîne de froid ou d'un non-respect

des règles d'hygiène et de salubrité (**Kuzdzal et Mocqout, 1960**).

On utilise la production de polysaccharides ou de polypeptides de façon contrôlée pour améliorer la texture de certains yogourts en augmentant leur viscosité afin d'éliminer ou de diminuer l'addition d'agents gélifiants. A titre d'exemple de conditions non contrôlées, on peut penser à l'apparition de longs filaments gluants ou de grumeaux dans les laits qui ont dépassé leur date de péremption ou dans des laits crus de mauvaise qualité microbiologique. Mentionnons aussi la possible formation d'une pellicule grasseuse à la surface des fromages (**Kuzdzad et Mocqout, 1960**).

II.2.5. Protéolyse :

Au cours de leurs activités métaboliques, certains microbes, grâce à l'action de leurs protéases, utilisent les protéines du lait. Ce phénomène produit la libération de sous-produits très variés, dont des peptides à longue chaîne, des acides aminés et des dérivés d'acides aminés. On doit se rappeler que les microorganismes nuisibles en cause sont souvent psychotropes (**Alais, 1965**).

Lors de l'affinage des fromages, la protéolyse joue un rôle primordial dans l'obtention d'une texture caractéristique et de saveurs désirées pour les divers types de fromages. C'est une utilisation contrôlée de la protéolyse (**Alais, 1965**).

Si cette activité protéolytique n'est contrôlée en raison de la présence de contaminants bactériens dans le lait cru ou par perte de contrôle des ferments, on peut alors voir apparaître des goûts amers, des saveurs non désirées et atypiques ou des textures inadéquates durant l'affinage des fromages. De plus, cette protéolyse pourra être à l'origine de l'apparition de goûts indésirables de fruits, de malt ou de vanille dans certains produits laitiers, tel que le goût de fraise dans yogourt nature.

II.2.6. Lipolyse :

Certains microorganismes, grâce à leurs lipases, peuvent décomposer les matières grasses et les acides gras libres du lait, entraînant l'apparition d'odeurs rances dans le produit laitier (**Fox et al., 1987**).

Les produits laitiers à haute teneur en matière grasse sont plus sensibles à la dégradation par les microorganismes lipolytiques. Dans l'industrie laitière, on tente d'éliminer ces microorganismes, qui sont souvent également responsables des activités protéolytiques. Ils sont fréquemment psychotropes et thermo duriques.

On exploite cette activité lipolytique de façon contrôlée dans la production du bri, du saint-paulin et de nombreuses pâtes molles.

Dans des conditions non contrôlées, les principaux effets de cette dégradation sont l'apparition de fortes odeurs et de goût rance causés par des microorganismes contaminants du lait cru (Fox *et al.*, 1987).

II.3. Altération du lait:

Suivant le degré de dégradation des constituants du lait sous l'effet des microorganismes, on distingue quatre états bactériologiques du lait.

❖ Phase de latence (bactériostatique):

Du fait des substances antibactériennes du lait et des bactériocines produits par les bactéries lactiques, les autres germes tendent à stagner ou à régresser. C'est une phase d'adaptation. Le lait peut alors se conserver pendant longtemps sous réfrigération. Toutefois, cette durée est réduite considérablement à une température élevée (Petrasxiene et Lapiéd, 1981).

❖ Phase d'acidification:

Durant cette phase, l'acidité ionique diminue et le degré Dornic augmente. La fermentation du lactose par les espèces du groupe lactique principalement, aboutit à la production d'acide lactique.

Les streptocoques sont les premiers germes acidifiants intervenant par abaissement du pH et par augmentation de l'acidité, puis viennent les lactobacilles acidophiles qui, en proliférant, abaissent davantage le pH et entravent la croissance d'autres germes. Cette phase se poursuit jusqu'à la coagulation du lait par acidification (maximum pH 4,6) (Petrasxiene et Lapiéd, 1981).

❖ Phase de neutralization:

Les levures acidophiles jouent un rôle désacidifiant. Leur prolifération dans le lait, élève sensiblement le pH et entraîne la production d'alcool. C'est la phase de neutralisation. Elle correspond à une reprise d'activité des germes de putréfaction. Ce stade est à éviter si l'on veut conserver les qualités hygiéniques et marchandes du produit (Dieng, 2001).

❖ Phase d'alcalinisation:

Elle est également dite de putréfaction et se traduit par une production d'hydrogène sulfuré, indice de dégradation systématique du lait, car il affecte aussi bien les caractères hygiéniques qu'organoleptiques (Petrasxiene et Lapiéd, 1981).

II.4. Hygiène de la traite:

Le lait est une denrée fragile dont le devenir industriel (lait en nature, beurre, fromage) dépend de sa qualité. La production d'un lait de qualité n'exige ni des installations coûteuses dans la ferme, ni des transformations ruineuses dans le système commercial et industriel; il faut surtout un suivi rigoureux et permanent des bonnes pratiques d'hygiène tout le long du circuit de sa production notamment à la traite (**Crapelet et Thibier, 1973**). Ces recommandations concernent (**tableau N°12**):

Trayeur:

- Bon état de santé: pour éviter la pollution du lait et la contagion de certaines maladies (tuberculose) à la vache.
- Propreté: le vacher, avant de commencer à traire, doit se laver soigneusement les mains et les essuyer avec un linge propre.
- Tenue: le trayeur doit être habillé proprement et simplement. La meilleure tenue est le bleu de mécanicien; le trayeur doit mettre un tablier blanc toujours propre et une calotte blanche cachant ses cheveux (**Crapelet et Thibier, 1973**).

Animal:

- Propreté générale: elle sera obtenue par une litière correcte, si nécessaire un passage journalier évitant la présence de souillures voire de plaques d'excréments.
 - Propreté de la mamelle: elle sera acquise par le passage sur le pis d'un linge propre trempé de solution légèrement antiseptique tiède; cette dernière devra être renouvelée aussi souvent que nécessaire pour rester propre et remplir son rôle.
 - Pour la traite en étable, la queue devra être attachée; pour éviter qu'elle ne souille le lait.
- Santé: on détectera précocement et systématiquement les maladies particulièrement dangereuses: tuberculose, mammites (**Crapelet et Thibier, 1973**).

II.5. Conservation du lait a la ferme:

La réfrigération du lait à la ferme, qui s'est généralisée en Europe vers les années 70, a constitué un grand progrès d'un point de vue hygiénique (le taux de contamination des laits collectés en bidons non réfrigérés dépassait souvent 10^6 germes/ml alors qu'il est, maintenant, inférieur à 50 000 germes/ml).

Mais, la flore dominante n'est pas la même car le froid favorise le développement d'espèces psychrotrophes qui peuvent générer des enzymes protéolytiques et lipolytiques susceptibles d'altérer la qualité et la stabilité des laits (**Veisseyre, 1979**).

Le froid peut également entraîner des perturbations de nature physico-chimique ou biochimique avec des conséquences sur la qualité technologique des laits (stabilité thermique, aptitude à la transformation en fromage).

Les plus importants sont la solubilisation de la β -caséine, la solubilisation des sels minéraux, la tendance à la cristallisation de la matière grasse et l'altération de l'équilibre des bactéries dans le lait (**Bennett *et al.*, 2005**). C'est pourquoi il est recommandé, pour certaines fabrications, de ne pas prolonger la réfrigération au-delà de 48 heures.

De plus, cette évolution s'est traduite par un mélange de laits issus de plusieurs traites et provenant de plusieurs troupeaux, ce qui peut avoir un impact négatif pour les producteurs qui font des efforts de qualité (**Académie des Technologies, Académie d'Agriculture de France, 2004**).

Ainsi et afin d'obtenir un lait cru de bonne qualité microbiologique, deux paramètres sont à considérer le premier étant de réduire au minimum la contamination initiale; l'autre est représenté par le refroidissement à basse température ($< 4^{\circ}\text{C}$), rapide du lait afin de ralentir le développement des microorganismes. C'est ainsi que l'on a souvent tendance à surestimer les avantages que présente l'utilisation du froid artificiel en oubliant que la qualité microbiologique du lait dépend avant tout des soins qui sont apportés au moment de sa récolte: le froid n'améliore pas la qualité microbiologique du lait, il ne fait que la conserver (**Dieng, 2001**).

Tableau N°12: Tableau récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite (Charron, 1986)

	Recommandé	Acceptable	A éviter
Lavage des mamelles	Lavette individuelle pour le lavage et l'essuyage.	Douchette et essuyage avec des serviettes individuelles de papier.	Une même lavette pour plusieurs vaches. Mamelles dégoulinantes à la pose des gobelets. Suppression du lavage.
Elimination des premiers jets	Dans un récipient.	Au sol en salle de traite.	Sur les mains. Au sol en étable entravée.
Pose des gobelets	Immédiatement après le lavage. Pas d'entrée d'air.		Attente prolongée après le lavage. Entrée d'air importante.
Ordre de traite	Traite en dernier des vaches infectées (cas clinique, CMT ou taux cellulaires élevés).	Un ou deux faisceaux supplémentaires en salle de traite pour les vaches infectées.	Absence totale de précaution.
Fin de traite	Egouttage bref sans entrée d'air. Dépose des gobelets par gravité après coupure du vide.	Suppression complète de l'égouttage. Utilisation de systèmes de décrochage automatique fonctionnant bien.	Egouttage long, avec entrée d'air. Dépose par arrachage avec entrée d'air Longue surtraite.
Désinfection des trayons	Systématiquement après chaque traite après trempage	Utilisation de certains systèmes de pulvérisation.	Pas de désinfection ou désinfection mal faite et intermittente.
Autres	Traite en douceur Pas de modifications brutales de la routine		Coups, bruits, chocs élec. Modifications brutales de la routine

Chapitre III: Les Laits Commercialisés et contrôle de qualité

Le terme *Laits de consommation* désigne les différentes catégories de laits vendus à l'état liquide. Ces laits sont présentés obligatoirement en emballages fermés jusqu'à la remise au consommateur (Cnera, 1981).

D'après Vierling (1999), les laits de consommation sont des laits destinés à être consommés en l'état.

L'évolution des processus technologiques, des techniques de conservation et de distribution a permis l'élaboration d'une large gamme de lait de consommation qui se distinguent par leur composition, leur qualité nutritionnelle et organoleptique et leur durée de conservation (Jeantet *et al.*, 2008).

III. 1-Lait pasteurisé:

Harding (1995) évoque que la pasteurisation a pour objectif la destruction de toutes les formes végétatives des micro-organismes pathogènes du lait sans altérer la qualité chimique, physique et organoleptique de ce dernier.

Le lait pasteurisé, fabriqué à partir de lait cru ou de lait reconstitué, écrémé ou non, est un lait qui a subi un traitement thermique (pasteurisation) qui détruit plus de 90 % de la flore (jusqu'à 98 %) contenue dans le lait (notamment tous les germes pathogènes non sporulés, tels que les germes de la tuberculose et de la brucellose) (Jean Christian, 2001).

D'après Jeantet *et al.*, (2008), on distingue trois types de traitements :

- ❖ **Pasteurisation basse (62-65°C/30min):** elle n'est réalisable qu'en batch et est abandonnée en laiterie.
- ❖ **Pasteurisation haute (71-72°C/15-40s) ou HTST (high temperature short time):** elle est réservée aux laits de bonne qualité hygiénique. Au plan organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets. Au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite par contre la peroxydase reste active et les taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines sont faibles. La date limite de consommation (DLC) des laits ayant subi une pasteurisation haute est de 7 jours après conditionnement (bouteille en verre ou en carton, polyéthylène ou aluminium).
- ❖ **Flash pasteurisation (85-90°C/1-2s):** elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne ; la phosphatase et la peroxydase sont détruites.

III.2. Lait stérilisé:

Leseur et Melik (1999) ont montré que selon le procédé de stérilisation, on distingue le lait stérilisé et le lait stérilisé **UHT**. Ces laits doivent être stables jusqu'à la date limite de consommation.

Lait stérilisé : C'est un lait conditionné- stérilisé après conditionnement dans un récipient hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes par la chaleur, laquelle doit détruire les enzymes les microorganismes pathogènes. La stérilisation est réalisée à une température de 100 -120°C pendant une vingtaine de minutes.

Lait stérilisé UHT : C'est un lait traité par la chaleur, qui doit détruire les enzymes, les microorganismes pathogènes, et conditionné ensuite aseptiquement dans un récipient stérile, hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes. Le traitement thermique peut être soit direct (injection de vapeur d'eau), soit indirect. Il est réalisé à 135-150°C pendant 2.5 secondes environ (**Leseur et Melik, 1999**).

III. 3-Lait concentré sucré:

C'est le produit provenant de la concentration du lait propre à la consommation. La concentration du lait peut se faire avec ou sans addition de sucre (**Journal Officiel De La République Algérienne, 2001**)

Selon Jeantet *et al.*, (**2008**), la stabilité du lait peut être assurée par réduction de l'activité de l'eau (a_w). On y parvient par élimination partielle de l'eau et ajout de sucre. Le principe consiste à effectuer une évaporation sous vide afin d'abaisser la température d'ébullition. L'évaporation s'effectue dans des évaporateurs tubulaires ou à plaques. L'addition de saccharose assure la conservation du produit sans étape de stérilisation en limitant le développement des micro-organismes par abaissement de l' a_w .

Leur teneur en eau est de 24% environ, les constituants ont une concentration proche du triple de celle du lait, la teneur en saccharose atteint plus de 40% (**Vierling, 2003**).

III.4-Lait aromatisé:

Vierling (1999) rappelle que cette dénomination est réservée aux boissons stérilisées préparées à l'avance, constituées exclusivement de lait écrémé ou non , sucré ou non , additionné des colorants généralement autorisés et de substances aromatiques naturelles qui peuvent être renforcées artificiellement : abricot , ananas, fraise, prune, cerise, framboise. Les laits aromatisés peuvent avoir subi l'addition d'agar-agar, alginates, carraghénanes et pectines comme stabilisants. Les laits aromatisés sont généralement obtenus par stérilisation en récipients ou par stérilisation UHT.

Ce sont tous des laits stérilisés auxquels on a ajouté des arômes autorisés (notamment cacao, vanille, fraise) (Leseur et Melik, 1999).

III.5-Lait fermenté:

D'après Fredot (2006), la dénomination lait fermenté est réservée au produit laitier préparé avec des laits écrémés ou non ou des laits concentrés ou en poudre écrémés ou non sous forme liquide, concentré ou en poudre. Ils pourront être enrichis avec des constituants tels que la poudre de lait ou les protéines de lait. Le lait subit alors un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation et estensemencé avec des micro-organismes caractéristiques de chaque produit. La coagulation des laits fermentés ne doit pas être obtenue par d'autres moyens que ceux qui résultent de l'activité des micro-organismes qui sont pour la plupart des probiotiques c'est-à-dire bénéfiques pour la santé.

Pour Brule (2004), le lait fermenté le plus consommé dans les pays occidentaux est le yaourt. De nombreux autres produits sont arrivés sur le marché: laits fermentés probiotiques, laits fermentés de longue conservation (pasteurisés, UHT, lyophilisés) et produits « *plaisirs* » (à boire, à sucer, pétillants ou glacés).

La dénomination "yaourt" ou "yoghourt" est strictement réservée aux laits dont la fermentation est obtenue par des bactéries lactiques *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Ces bactéries doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme et ceci jusqu'à la date limite de consommation (Gervoson, 2007).

III. 6-Lait en poudre:

Pfiffner (2009) évoque que la production de lait condensé avait débuté dans les années 1860, celle de lait en poudre commença plus tardivement (Industrie laitière). Les essais de dessiccation de lait entier, demi-écrémé ou écrémé entrepris dans la seconde moitié du XIX^e s'avaient donné des produits insatisfaisants à la réhydratation. C'est au début du XX^e s. que l'on mit au point des procédés aptes à un usage industriel, dont les plus importants restent aujourd'hui encore l'atomisation et le séchage sur cylindres chauffants, qui réduisent la teneur en eau du lait de 88% à 2-4% (Tableau 12).

Selon la loi sur les aliments et drogues du Canada, les poudres de lait sont des produits résultants de l'enlèvement partiel de l'eau du lait. On répartit les poudres en trois groupes: La poudre de lait entier, la poudre de lait partiellement écrémé et la poudre de lait écrémé (Claude Michel *et al.*, 2002).

Tableau N°13: Composition des laits en poudre (% m/m) (FAO, 2010)

<i>Composants</i>	Lait entier	Lait partiellement écrémé	Lait écrémé
<i>Matière grasse laitière</i>			
Minimum	26	>1,5	
Maximum	<40	<26	1,5
<i>Eau maximum</i>	5	5	5

III.7. Contrôle De Qualité

III.7.1. Définitions:

Contrôle: Selon (Lehir, 2001) le mot contrôle peut être utilisé dans le sens de vérification ou dans celui de maîtrise. Le contrôle consiste à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et à comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies.

Qualité:

Selon l'ISO la version de 1994. La qualité est: « L'ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confère l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites »

(Guy, 2000)

Conformité:

Pour l'utilisateur le produit doit être conforme à ce qui a été annoncé dans les catalogues, la publicité, les notices, ou spécifie dans le cahier de charges pour l'entreprise, le produit doit être conforme aux normes en vigueur.

III.7.2. But du contrôle de la qualité:

Le contrôle ne constitue pas par lui-même une opération qui crée la qualité, mais il est une source d'information indispensable à la gestion de la qualité. Il est effectué à des points -clés (points critiques) évite d'engager inopportunément des frais coûteux dans la suite des opérations. Le contrôle final juge de la conformité du produit aux objectives qualités préalablement définis (Anonyme 1995).

Contrôle Physico-chimique:

Le contrôle physico-chimique aura pour rôle de vérifier la structure de la molécule et d'établir ses propriétés physiques et chimiques. IL a pour but de vérifier que dans un produit déterminer, il y a bien la substance annoncée (analyses qualitatives, réactions d'identification les plus sélectives possibles). IL faudra aussi s'assurer qu'elle est bien présentée en quantité conforme à celle annoncée (Albert *et al.*, 1971).

Le contrôle physicochimique est réalisé en mesurant les différents paramètres (température, humidité, teneur en matière grasse, pH...). Il à l'avantage de maîtriser les procédés de fabrications.

Contrôle Microbiologique :

Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué.

De plus les contrôles doivent permettre de minimiser les pertes dues à de mauvaises conditions de fabrication et en fin un bon rendement (Bryskier, 1999).

Ces analyses sont basées sur la recherche:

- Des germes capables d'altérer la qualité marchande de l'aliment mais ne sont pas pathogènes.
- Des germes potentiellement pathogènes pour le consommateur (salmonella).
- Des germes de contamination fécale. (Habituellement les coliformes et les streptocoques fécaux).

Germes Aérobie Mésophile Totaux:

Appelés aussi "Flore totale" ou nombre très approximatif des germes qui se trouvent dans les produits alimentaires. (**Bourgoie, 1996**).

La flore mésophile aérobie totale est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banaux de contamination. Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du lait cru et permet de suivre son évolution au cours de sa transformation. Ainsi le nombre de germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) du lait (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Des valeurs élevées n'indiquent pas nécessairement la présence de pathogènes, aussi des valeurs basses peuvent accompagner la présence de pathogènes à des niveaux dangereux (**Sutra et al., 1998**)

Coliformes:

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles Gram-, asporulés, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies anaérobies facultatifs) qui fermentent le lactose avec production de gaz. Il s'agit d'un groupe disparate non défini sur le plan taxonomique qui comprend les genres *Escherichia* (avec espèces *coli*, *intermedium*, *freudii*), *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (**Cuq, 2007**).

Leur développement est freiné par l'abaissement du pH et leur croissance stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. Ils sont peu résistants à la chaleur (**Le Minor et Richard, 1993**).

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

Les non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 30°C.

Les fécaux dont l'origine essentielle est le tube digestif, qui sont plus thermotolérants (détectés à 44°C). *Escherichia coli* fait partie de Ce dernier groupe.

Dans le domaine de la microbiologie des denrées alimentaires, *E. coli* sert en général d'indicateur de contaminations fécales: elle se développe à une température de 44°C, et produit de l'indole (**Jakob et Winkler, 2009**).

Spores des Anaérobies Sulfite – Réducteurs:

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

Staphylocoque:

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococcae*. Ce sont des coques à Gram positif de 0,5 à 2,5 µm de diamètre, non sporulés et immobiles. En fonction de leur capacité à coaguler le plasma de lapin : on distingue ainsi des espèces à coagulase positive et des espèces à coagulase négative. Parmi les staphylocoques coagulase positive, seules les souches productrices d'entérotoxine sont impliquées dans une intoxication alimentaire (**Leyral et Vierling, 2007**).

S.aureus est un germe mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C, il est capable de se multiplier à des valeurs de pH comprises entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de croissance de 7,0 à 7,5. Comme beaucoup d'espèces de staphylocoques, *S.aureus* est un germe halotolérant, qui peut se multiplier en présence de concentrations élevées de chlorure de sodium (**Cuq, 2007**).

Chez l'animal et plus particulièrement chez la vache, il est présent sur la peau de la mamelle et des trayons et a, donc, toute la possibilité de coloniser des blessures de trayons et l'intérieur de la mamelle. On qualifie les staphylocoques de germes pathogènes à réservoir mammaire puisque les quartiers infectés, les plaies, les gerçures sont les principaux réservoirs et les germes sont transférés dans les trayons sains à l'occasion de la traite.

Etant donné son habitat et sa fréquente mise en cause dans les mammites, la présence des staphylocoques dans le lait paraît quasi inévitable. L'éleveur devra s'attacher à réduire le niveau de contamination du lait par des pratiques qui visent à réduire le risque d'infection tant sur les trayons qu'à l'intérieur de la mamelle, à éviter toute dissémination des staphylocoques au sein du troupeau et à supprimer tout risque de multiplication au cours du stockage du lait à la ferme (**Fatet, 2004**).

Si le lait cru reste la principale source de contamination des produits laitiers en staphylocoques, il faut préciser que ces germes sont détruits par la pasteurisation. Par contre, ils sont peu gênés par l'acidification des fromages pas plus que par des taux élevés de sel ; par conséquent, la plupart des fromages réunissent, durant les 24 premières heures de fabrication

des conditions souvent favorables à la croissance des staphylocoques s'il y en a au départ (Fatet, 2004).

Le pouvoir pathogène de certaines espèces de staphylocoques est dû à la production d'une enterotoxine, elle n'est détruite ni par la pasteurisation du lait, ni au cours de l'affinage des fromages. L'entérotoxine staphylococcique étant un métabolite secondaire, sa production nécessite une température minimale de 8-10°C, elle est synthétisée en fin de phase exponentielle et au cours de la phase stationnaire de croissance (El Atyqy, 2010). Le nombre minimum de germes nécessaires à la production de suffisamment de toxine pour provoquer l'empoisonnement est évalué selon les auteurs à 5.10^5 ou 5.10^6 germes/g.

Sur un plan pratique, la prévention contre les staphylocoques passe par une bonne prévention des mammites et une attention toute particulière aux trayons (Cuq, 2007)

Streptocoques fécaux:

Les streptocoques fécaux (*Enterococcus* ou streptocoques du **groupe D**) sont des commensaux de l'intestin. *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain (Clausen et al., 1977). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains (Olivieri, 1982), à des concentrations variant de 10^5 à 10^8 bactéries/g (Gleeson et Gray, 1997).

Quant aux streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer le lait, ils sont plutôt typiques des déjections animales, comme *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *S. gallolyticus* et *S. alactolyticus* (Clausen et al., 1977). Ces espèces colonisent les intestins du bétail, des chevaux et de la volaille bien qu'elles puissent parfois être présentes chez l'humain, en particulier *S. bovis* (Ruoff et al., 1989). Leur détection témoigne, généralement d'une pollution fécale ancienne (Clausen et al., 1977).

De toutes les bactéries non sporogènes, ces germes sont parmi ceux qui résistent à des conditions de milieu défavorables. Ils résistent mieux que les coliformes et *E.coli* à la réfrigération, à la congélation, au chauffage, à la salaison et à la dessiccation (Cuq, 2007) et sont, donc selon certains auteurs de meilleurs indicateurs de la qualité hygiénique du lait (Waes, 1973).

Toutefois, ces germes sont moins souvent associés aux germes pathogènes que les coliformes fécaux. Ils ne renferment pas d'espèce considérée pathogène du point de vue alimentaire. Cependant, après prolifération abondante dans l'aliment, ces germes peuvent être à l'origine de toxi infections bénignes qui sont, toutefois, exceptionnelles (Cuq, 2007).

Levures et moisissures:

Les levures et les moisissures sont des champignons hétérotrophes, organismes eucaryotes uni ou multicellulaires. La structure de la cellule est celle d'une cellule eucaryote.

Les levures sont des champignons unicellulaires qui constituent un groupe morphologique relativement homogène. Tandis que Les moisissures sont des champignons filamenteux uni ou multicellulaires (**Bourgeois, 1996**).

Salmonella:

Les Salmonelles appartiennent à la famille des Enterobactriaceae. ils sont Bacilles à Gram négatif, habituellement mobiles grâce à une ciliature péri triche, mais *Salmonella gallanirum* est toujours immobiles, réduisent les nitrates en nitrites, fermentent les glucose avec production d'acide et de gaz (**Bourgeois, 1996**).

Ces entérobactéries lactose-, H_2S^+ sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles ne font pas partie de la flore commensale du tube digestif de leurs hôtes, mais le portage asymptomatique reste fréquent et représente la plus grande voie de dissémination des bactéries dans l'environnement et dans les aliments (**Guy, 2006**). Dans le genre *Salmonella*, plus de 2000 sérotypes ont été décrits, tous présumés pathogènes pour l'homme.

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie voire leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40°C. Elles survivent aux basses températures et donc résistent à la réfrigération et à la congélation. En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 sec). Elles sont capables de se multiplier dans une plage de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique, lorsque celle-ci entraîne des concentrations en acide lactique supérieures à 1% et un pH inférieur à 4,55 (**Jay, 2000**).

Les vaches laitières demeurent très sujettes aux salmonelloses essentiellement dues aux sérovars ubiquistes provoquant ainsi une diarrhée profuse, une anorexie et une chute importante de la quantité du lait (**Brisabois et al., 1997**). Les salmonelloses causées aux consommateurs par le lait et les produits dérivés sont évaluées à environ 15% (**Cuq, 2007**).

III.7.3. Les composantes de la qualité :

La qualité de tous produits destinés à l'homme, est l'aptitude à satisfaire ses besoins. Ces dernières varient et sont issues de différentes considérations (goût, santé, service, ...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 sensorielle ou organoleptique et psychosensorielle;
- ❖ La qualité nutritionnelle;
- ❖ La qualité hygiénique;
- ❖ La qualité marchande. (Vierling, 1998).

III.7.4. La maîtrise de la qualité:

Elle concerne les techniques et activités à caractères opérationnels utilisées en vue de répondre aux exigences relatives à la qualité (**ISO 8402**). Outre les aspects réglementaires, dont le respect est impératif en vue de garantir les prescriptions fondamentales en matière notamment de santé, sécurité, loyauté, des transactions..., la maîtrise de la qualité consiste principalement en la mise en place de contrôles et d'autocontrôle en cours de fabrication pour vérifier la bonne correspondance du produit ou du procédé de fabrication aux exigences spécifiées telles que normes, cahier de charges ou réglementation (**Flaconnet et al., 1994**).

III.7.5. L'assurance qualité:

A la différence du contrôle qualité qui est un simple constat de conformité ou de non-conformité fait au cours d'une inspection, l'assurance qualité est « un ensemble d'action préétablies et systématiques permettant de s'assurer qu'un produit ou qu'un service satisfera aux exigences exprimées » (**norme ISO 8402**).

C'est donc une méthodologie évolutive dont l'application est vérifiée au cours d'audits, en quelques mots mettre un site de production sous assurance qualité c'est:

Ecrire ou décrire les actions qui doivent être faites ; Faire les actions qu'on a écrit ; Vérifier que l'on a bien fait les actions que l'on a écrit devoir faire, et enfin conserver des traces écrites des actions faites et des contrôles de ces actions (**Flaconnet et al., 1994**).

III.7.6. Système qualité:

C'est l'ensemble de l'organisation, des procédures, des processus et des moyens nécessaires pour la mise en œuvre du système de management de la qualité.

Il convient que le système qualité ne soit plus étendu qu'il n'est besoin pour atteindre les objectifs relatifs à la qualité.

Le système qualité d'un organisme est conçu essentiellement pour satisfaire les besoins internes de management de l'organisme. Il va au-delà des exigences d'un client particulier qui n'évalue que la partie du système qualité qui le concerne (**Gillis, 2006**).

III.7.7. Management qualité:

Toute entreprise, quelle que soit son activité, doit aujourd'hui répondre et s'adapter au contexte économique dans lequel elle évolue. Certes, elle doit répondre aux prescriptions réglementaires, mais elle ne peut ignorer les exigences de ses partenaires économiques pour autant. Dans ce contexte, il conviendra, pour un exploitant du secteur alimentaire, de gagner et de garder la confiance de ses clients, tout en améliorant sa rentabilité. La réalisation de ces objectifs dépasse largement le seul stade de la fabrication proprement dite d'un produit: ces performances ne peuvent être atteintes que par la mise en œuvre d'une organisation et d'une gestion performante de l'ensemble des activités internes de l'entreprise, ou ce qu'il est convenu d'appeler aujourd'hui « un système de management de la qualité » (**Levrey, 2002**).

Partie II :
Matériel et méthodes

1. Rappel sur les objectifs :

Le premier objectif consiste à évaluer la qualité sanitaire et hygiénique du lait cru et pasteurisé dans la région de Tiaret.

En second, nous allons évaluer l'antibiorésistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées.

2. Durée et lieu de l'étude :

Notre étude a débuté en mois de mars **2016** et a duré **07 mois**. Les analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de reproduction animale, institut des sciences vétérinaires de l'université **IBN KHALDOUNE-TIARET-**

3. Nature des échantillons et germes concernés par l'analyse :

Le présent travail repose sur l'analyse de **90 échantillons** de lait qui se répartissent comme suit : - **28** échantillons de lait cru (lait de mélange).

- **20** échantillons de lait cru individuel provenant de **20** vaches réparties sur **02** fermes sises au niveau de la commune d'Ain Deheb (wilaya de Tiaret).

- **04** échantillons de lait pasteurisé prélevés à partir du pasteurisateur de la laiterie sidi Khaled – Tiaret-

- **04** échantillons de lait pasteurisé prélevés à partir du tank de stockage de la laiterie sidi Khaled –Tiaret-.

- **34** échantillons de lait pasteurisé conditionné qui ont pour origine la laiterie sidi Khaled –Tiaret-

Les Germes concernés sont :

Pour le lait cru : Germes aérobies à **30°C**, streptocoques fécaux, coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et les clostridies sulfito-réducteurs a **46°C**. (**Arrêté Interministériel, 1998**)

Pour le lait pasteurisé : Germes aérobies à **30°C**, streptocoques fécaux, coliformes totaux et fécaux, *Staphylococcus aureus* et les clostridies sulfito-réducteurs a **46°C** (**Arrêté Interministériel, 1998**)

4. Matériel utilisé :

4.1. Milieux de culture :

- gélose PCA ; BK144 ; Biokar diagnostics ; France.
- milieu VRBL ; BK152 ; Biokar diagnostics ; France.
- milieu Baird Parker ; BK055 ; Biokar diagnostics ; France.
- milieu de Rothe ; BK060 ; Biokar diagnostics ; France.
- gélose BEA ; BK 158 ; Biokar diagnostics ; France.
- gélose viande-foie ; BK024 ; Biokar diagnostics ; France.

- gélose Chapman ; BK030 ; Biokar diagnostics ; France.
- gélose Muller Hinton ; institut pasteur – Algérie-.
- bouillon Tryptone-sel ; BK014 ; Biokar diagnostics ; France.
- bouillon cœur cervelle ; BK015 ; Biokar diagnostics ; France.

4.2 - Réactifs Utilisés :

- Tellurite de Potassium.
- Emulsion de Jaune d'œuf ; BS06608 ; Biokar diagnostics ; France.
- Alun de Fer.
- Sulfite de Sodium.
- Plasma de lapin lyophilisé; BR00208 ; Biokar diagnostics ; France.
- Eau Oxygénée.
- Eau Physiologique Stérile a 0.9%.
- Eau Distillée .

Réactifs de la coloration de Gram :

- Violet de gentiane.
- Lugol.
- Alcool.
- Fuschine.

5. Méthodologie :

5.1. Méthode de prélèvement :

5.1.1. Lait cru de mélange :

Une fois la traite terminée, le lait récupéré est stocké dans des tanks réfrigérés, milieu duquel ont été pris les échantillons à analyser dans des tubes à essai stériles.

Nos échantillons provenant d'une même laiterie étatique (la laiterie sidi Khaled) ont été prélevés in situ (mélange à l'arrivée: **28** échantillons représentant **28** collecteurs).

5.1.2. Lait cru individuel :

La valeur de l'examen bactériologique du lait dépend en grande partie de la qualité du prélèvement qui dépend de la technique de l'opérateur. La technique du prélèvement suit les recommandations de Mialot (**1983**) :

- ✓ Lavage des mains.
- ✓ Lavage et séchage des trayons.
- ✓ Désinfection de l'extrémité du trayon à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 70°.
- ✓ Elimination du premier jet de lait.
- ✓ Saisir le flacon à prélèvement entre le pouce et les doigts de la main droite et on retourne le flacon de façon a diriger le bouchon vers le bas.

- ✓ Dévisser le bouchon de la main gauche et on le porte entre l'index et le majeur de la main droite. Tube et bouchon ont alors leurs ouvertures dirigées vers le bas afin d'éviter toute contamination.
- ✓ Saisir alors le trayon de la main gauche, on le ramène en position horizontale et on trait dans le flacon incliné plus de **10** millilitres de lait de chaque trayon.
- ✓ La quantité de chaque échantillon prélevé est de **100** ml.

5.1.3. Lait pasteurisé :

À l'usine: après la pasteurisation, on a prélevé des échantillons directement du pasteurisateur, dans des tubes à essai stériles.

Avant le conditionnement, le lait pasteurisé passait dans des tanks de stockages où des échantillons ont été prélevés.

❖ Chez les revendeurs:

Le prélèvement du lait pasteurisé est réalisé à l'étal chez le commerçant. Lequel le reçoit le jour même de son conditionnement.

5.2. Transport et conservation des échantillons :

Une fois prélevés, les échantillons sont placés dans une glacière à une température voisine a + 4 °C, puis acheminés au laboratoire.

5.3. 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**).

Les aliments conditionnés (lait pasteurisé), devront être soumis à un nettoyage de leur emballage, par un détergent, puis désinfectés à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à **95** (**ISO 3100-2, 1988 ; NA 850,1997**).

5.4. Préparation des échantillons :

Le lait contenu dans un récipient de prélèvement est simplement homogénéisé par agitation avant l'analyse (**ISO 8261 ,2001 ; NA 1050,1997**).

5.4.1. Prise d'essai, et dilutions :

Dans le cas de produits liquides (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 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 micropipette de **1 ml** et on le porte dans le premier tube

de dilutions (10^{-1}). La micropipette ne doit entrer en contact ni avec les parois des tubes, ni avec le liquide diluant. Avec un nouvel embout, on homogénéise par aspiration et soufflage le contenu de ce tube et on ensemence le tube (10^{-2}) et ainsi de suite en changeant à chaque fois d'embout pour ne pas perturber de dilutions.

Dans notre travail, des dilutions (10^{-1} à 10^{-5}) de chaque prélèvement ont été effectués en utilisant le TSE.

5.4.2-Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale :

5.4.2.1 But :

Dénombrer la flore totale, c'est tenter de compter tous les micro-organismes présents, afin d'apprécier la pollution microbienne du produit (Joffin, 1999). C'est un bon indicateur de la qualité générale du lait (Guiraud, 1998). 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 aérobie et anaérobies stricts. Il est donc préférable d'utiliser la terminologie « micro-organisme aérobie totaux à 30°C » plutôt que le terme « flore totale » dans le cas d'un dénombrement à 30°C en aérobiose (Joffin, 1999).

5.4.2.2-Principe:

Inoculation :

La boîte de Pétri est inoculée avec un ml de chaque dilution auquel est ajouté de la gélose PCA (Institut Pasteur, Algérie) fondu au préalable au bain d'eau à l'ébullition et maintenu à $45-46^{\circ}\text{C}$ au maximum trois heures. Pour homogénéiser l'inoculum à la gélose, faire des mouvements circulaires de va-et-vient. Laisser solidifier.

Incubation :

Placer les boîtes de pétri retournées, dans l'étuve à $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 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 compris 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 (AFNOR) :

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

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 duquel les premiers comptages ont été obtenus.

V : Le volume inoculum appliqué à chaque boîte (en général exprimé en ml)

5.4.3-Le dénombrement des coliformes totaux et fécaux :**5.4.3.1-But :**

Les coliformes sont des micro-organismes d'altération. Leur présence indique une faute hygiénique relevant d'une mauvaise qualité du lait (Larpent, 1997). L'intérêt de cette manipulation est de déterminer si le produit testé a subi une contamination fécale et d'en apprécier l'ampleur car les coliformes sont des bactéries vivant principalement dans les intestins. De plus, les coliformes thermo tolérants (ou coliformes fécaux) survivant difficilement hors de l'intestin traduiront donc une contamination fécale récente (Joffin, 1999).

5.4.3.2- Principe :

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

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

5.4.4-Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :**5.4.4.1-But :**

Les streptocoques fécaux se caractérisent par leur appartenance au groupe sérologique D de LANCEFIELD et par le fait que leur habitat normal étant le tube digestif des animaux, leur présence en nombre excessif est un signe d'un défaut d'hygiène. (Aggad *et al.*, 2009).

Les entérocoques peuvent être exceptionnellement associés à des cas d'intoxications bénignes ou parfois se révéler des pathogènes opportunistes (Guiraud, 1998).

Dans le lait et les produits laitiers, les streptocoques du groupe D sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique **NPP** (nombre le plus probable)(Aggad *et al.*, 2009).

5.4.4.2-Principe :

Les streptocoques fécaux ont été dénombrés selon la méthode du nombre le plus probable qui fait appel à deux tests consécutivement à savoir :

- Un test de présomption.
- Un test de confirmation.

1-Test de présomption :

Ils sont recherchés par culture présomptive sur milieu de Rothe après 48 heures d'incubation à 37°C. Cette recherche est intéressante car les streptocoques fécaux sont de bons indicateurs de contaminations. Dans la méthode classique, 3 séries de 3 tubes reçoivent 1ml des dilutions à **1/10, 1/100, 1/1000**.

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble microbien.

2-Test de confirmation : (Sur gélose BEA)

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

-Technique:

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

-Lecture

Les colonies de streptocoques du groupe D, sont petites, translucides et entourées d'un halo noir (esculine positive) (Maury, 1987).

5.4.5-Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*:

5.4.5.1- But:

La recherche et dénombrement de *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).

5.4.5.2-Principe:

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

- Le milieu Chapman mannité contient une forte teneur en NaCl (7,5%) et inhibe la croissance de nombreuses bactéries autres que les *Micrococcus* et *Staphylococcus*

(Guiraud, 1998).

- Le milieu Baird Parker solide; qui est le milieu de choix en microbiologie alimentaire. La Tellurite de potassium et une émulsion de jaune d'œuf sont apportés au moment du coulage. Le milieu qui a été utilisé est celui de Baird Parker.

5.4.5.3-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 au tellurite de potassium à 1%.

Après étalement en surface de 0,1ml des dilutions (10^{-1} , 10^{-2}) et incubation durant une période de 24 à 36 heures à 37°C, les *Staphylococcus aureus* donnent des colonies noires (réduction de tellurite en tellure), avec un halo clair dû à la protéolyse des protéines de jaune d'œuf, et, éventuellement un liseré blanc opaque (précipitation des acides gras produits par la lécithinases qui hydrolyse la lécithine du jaune d'œuf). Leur taille est de 0,5 à 2 mm avec un aspect brillant.

Les colonies de *Staphylococcus* non pathogènes sont souvent inhibées ou se développent de manière irrégulière (Guiraud, 1998).

5.4.5.4 -Recherche du caractère pathogène:

Elle se fait par un examen microscopique (cocci gram+ groupés en grappes), épreuve de la catalase (catalase +) et recherche de la coagulase staphylococcique ; le plasma de lapin a été choisi pour son excellente spécificité vis-à-vis de la coagulase staphylococcique et de son aptitude à produire rapidement un coagulum

❖ Aspect microscopique (Coloration de Gram) :

La coloration de Gram est effectuée à partir des colonies cultivées sur gélose Baird Parker, présentant l'aspect caractéristique du staphylocoque. Elle peut être aussi réalisée sur des colonies cultivées sur le milieu Chapman, pour confirmer la présence de cocci en diplocoques et en grappes de raisin.

❖ Purification des souches isolées :

Les colonies sont ensemencées, sur le milieu adéquat (**milieu Chapman**). Celles qui Présentent un aspect caractéristique de celui des staphylocoques, sont réensemencées à l'aide d'une pipette Pasteur, en stries selon la méthode des quatre cadrant à fin d'obtenir des colonies bien isolées. Une coloration de Gram est refaite chaque fois pour contrôler la pureté des souches.

❖ 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 la Catalase :**

La catalase est une oxydoréductase intervenant dans le mécanisme de résistance à la bactéricidie. Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques. À partir d'un isolement, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur; on fait réagir la colonie dans 1 goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**10 volume**) déposée sur une lame.

Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène) selon la réaction suivante:



Ce test peut être réalisé en tube contenant **0.5 ml de H_2O_2** ; à l'aide d'une pipette Pasteur des colonies sont prélevées et introduites dans le tube. Le résultat est identique à celui obtenu lors du test sur lame (**Denis *et al.*, 2007**)

➤ **Identification de l'espèce :**

✓ **Test de la staphylocoagulase :**

À l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une partie de chaque colonie sélectionnée et l'ensemencer dans un tube de bouillon cœur-cervelle. Incuber à 37°C durant 18 à 24 heures. 0,1 ml de chaque culture sont ajoutées stérilement à 0,3 ml de plasma de lapin frais dans des tubes stériles et incubé à 37°C . La coagulation du plasma est examinée après 4 à 6 heures.

Quand le coagulum occupe plus des trois quarts du volume initialement occupé par le liquide, la réaction à la Coagulase est considérée comme positive.

À titre de contrôle on ajoute 0,1 ml de bouillon cœur-cervelle stérile à la quantité recommandée de plasma de lapin et on incube à 37°C . Pour que la réaction soit valable, le plasma du tube témoin ne devra pas montrer de signe de coagulation durant 24h (**ISO 6888, 1983 ; 1058, 1996**)

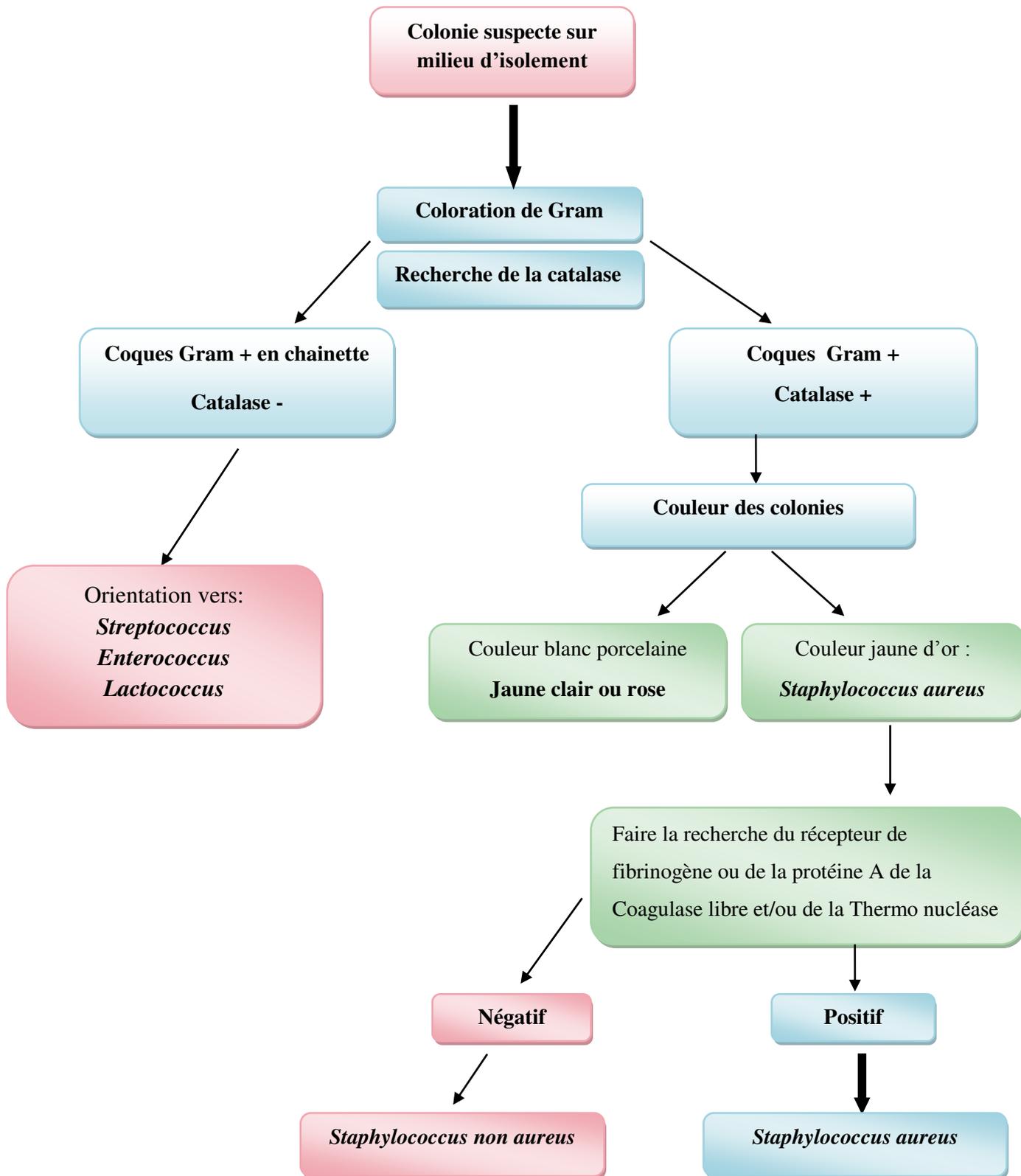


Figure N°04 : Organigramme de l'identification de *Staphylococcus aureus* (Leyral et Joffin , 1998)

❖ **Antibiogramme :**

❖ **Détermination de la sensibilité aux antibiotiques :**

L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose Müller Hinton selon les recommandations du réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (**6ème édition 2011**).

❖ **Antibiotiques testés :**

La sensibilité des différentes souches a été déterminée essentiellement vis-à-vis de sept antibiotiques : Ampicilline (10µg), Amoxicilline+Acide clavulanique (20/10 µg), la céfoxitine (30 µg), la kanamycine (30 µg), la gentamicine (10 µg). L'érythromycine (15 µg), la tétracycline (30µg).

Ces antibiotiques appartiennent à différentes familles représentées dans l'annexe N° **04**.

Antibiogramme Par Diffusion Des Disques :

❖ **Milieu pour antibiogramme : (gélose Müller Hinton)**

Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de **4 mm**. Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

❖ **Préparation de l'inoculum :**

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à **0,5 MF** ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

❖ **Ensemencement :**

Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum. L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

❖ **Application des disques d'antibiotiques :**

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm. Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.

❖ **Tests complémentaires:**✓ **Recherche de la résistance de *Staphylococcus* spp. à l'oxacilline:**

Pour *S. aureus*, le disque de céfoxitine est comparable à celui de l'oxacilline pour détecter la résistance à l'oxacilline par production de PLP2a (gène *mecA*) ; cependant, le disque de céfoxitine est plus facile à lire et donc c'est la méthode préférée.

On utilise : - de la céfoxitine avec un inoculum à 10^6 UFC/ml.

❖ **Conditions d'incubation :**

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.

❖ **Lecture :**

- ✓ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- ✓ Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- ✓ Classer la bactérie dans l'une des catégories **S**, **R** ou **I**. (voir annexe n° 04)

5.4.6- Recherche des spores des anaérobies Sulfito-réducteurs :**5.4.6.1- But :**

Les Anaérobies Sulfito Réducteurs (**ASR**) sont des germes telluriques (présents dans le milieu extérieur : sol, eau, air, etc...et capables d'y résister très longtemps sous forme de spore), présents également dans la flore intestinale de l'homme et des animaux. Ils se développent dans des conditions d'anaérobiose (absence d'oxygène). Les spores de ces germes sont très résistantes à la chaleur.

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

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

5.4.6.2- Principe:

Les *Clostridies* sulfito-réducteurs réduisent les sulfites en sulfures :



A partir de chaque dilution de lait, **5 ml** sont prélevés aseptiquement dans un tube stérile. La sélection des formes sporulées est réalisée par chauffage de 10 mn à 80°C pour détruire les formes végétatives (**Guiraud, 2004**), 0,5 ml d'une solution à 5 % de sulfite de

sodium et 2 à 3 gouttes de solution de citrate de fer à 5 % sont ajoutées. Après agitation, les tubes sont refroidis à température ambiante et 7 ml de gélose viande foie (VF) (Institut Pasteur, Algérie) est ajoutée pour assurer l'anaérobiose. L'incubation est réalisée à **46 °C** pendant 24 à 48 heures. Les grosses colonies noires, produisant des sulfures à partir des sulfites qui ont précipité avec les ions de fer, sont considérées clostridies sulfito-réducteurs (**Joffin, 1999**).

6. Analyses statistiques des données :

Les résultats obtenus lors de cette étude sont statistiquement analysés en utilisant le logiciel Excel **2007**. Il nous a permis :

- De déterminer les différents paramètres statistiques (les valeurs maximales et minimales, les moyennes et les écarts types).
- De tracer les différents tableaux, secteurs et histogrammes relatifs aux résultats de ce travail.

Partie III :
Résultats et discussion

1.Prélèvement:

Au cours de la période d'étude s'étalant du **01** mars au **31** septembre **2016**, **90** échantillons de lait cru et pasteurisé ont été analysés au niveau du laboratoire de reproduction animale de l'institut des sciences vétérinaires de l'université **IBN KHALDOUNE-TIARET**.

Il s'agit de lait cru ; lait individuel et lait de mélange. De lait pasteurisé prélevé à partir ; du pasteurisateur et du Tank de stockage. De lait pasteurisé conditionné. (**Figure N°05**)

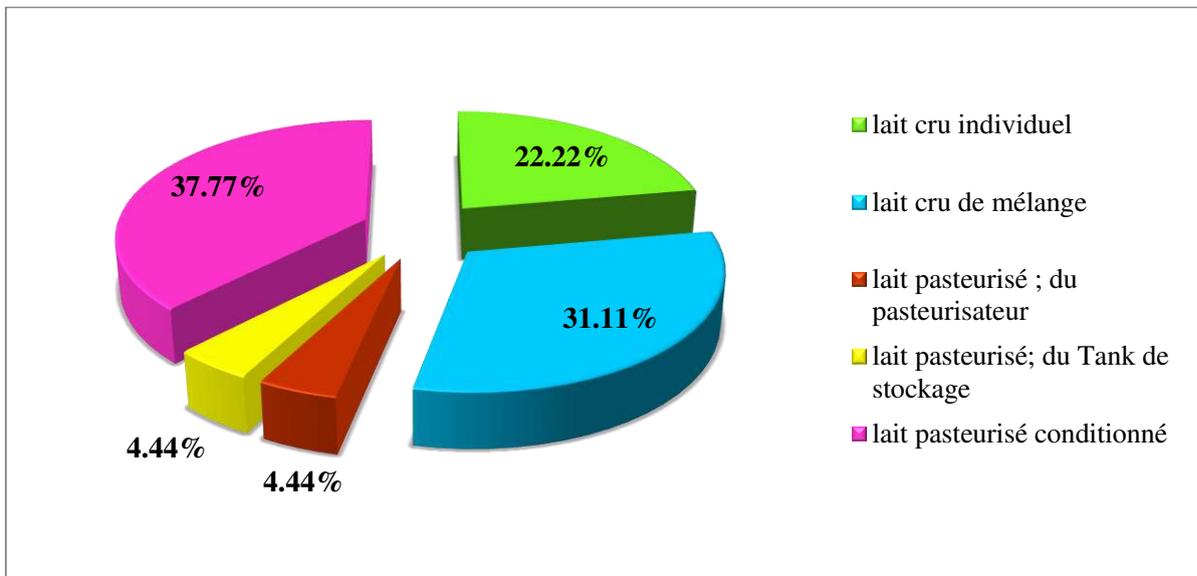


Figure N°05: répartition globale des prélèvements selon leur origine.

I. Analyses microbiologiques:

La qualité microbiologique du lait est importante pour sa conservation voire sa transformation (**Guinot et al., 1995**).

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

I.1. La flore mésophile aérobie totale :

Sur gélose **PCA**, Nous avons obtenu une gamme de colonies de taille variable (petites, moyennes, et grandes), de couleurs différentes (blanches, jaune, crème, crème foncé et transparente), et de forme circulaire, avec un pourtour régulier ou irrégulier. (**Figure N° 06**).

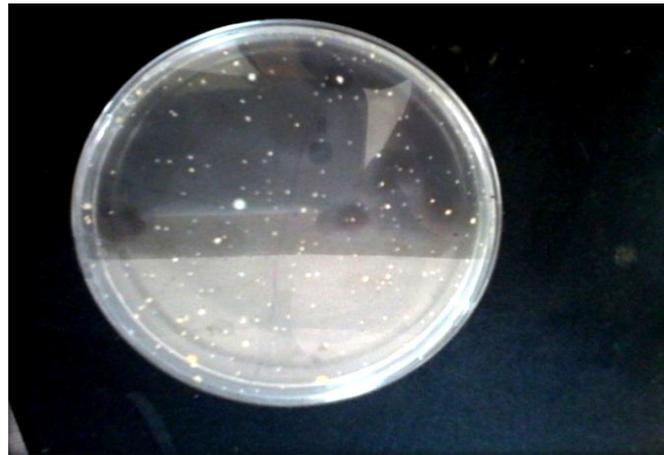


Figure N° 06 : Aspect macroscopique de la flore mésophile aérobie totale sur gélose PCA

Tableau N° 14: résultats des dénombrements de la flore mésophile totale. (ufc/ml)

Provenance		Minimum	Moyenne	Maximum	Ecart type	
Lait cru	Mélange	$1,2 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6$	$1,4 \cdot 10^6$	
	Individuel	$1 \cdot 10^3$	$2,8 \cdot 10^3$	$6,7 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^3$	
Lait pasteurisé	A	Pasteurisateur	$1,1 \cdot 10^3$	$1,17 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^3$	95,74
	l'usine	Tank de stockage	$2,4 \cdot 10^3$	$9,2 \cdot 10^4$	$3,2 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^5$
	A la vente	Conditionné	$2,2 \cdot 10^4$	$3,6 \cdot 10^4$	$4,8 \cdot 10^4$	$5,8 \cdot 10^3$

I.1.1. lait cru de mélange :

Les échantillons prélevés présentent une charge en microorganismes de la flore totale qui varie de $1,2 \cdot 10^5$ à $4 \cdot 10^6$ UFC/ml, pour une moyenne de $1,5 \cdot 10^6 \pm 1,4 \cdot 10^6$ UFC/ml (tableau N°15). Il est à noter que la dispersion des résultats autour de la moyenne (écarts types) est très importante, témoignant ainsi de la variabilité des pratiques d'hygiène d'un éleveur et/ou collecteur à un autre.

Selon **Ameur et al (2011)** en Algérie, le lait cru collecté présentait un taux de contamination microbienne très élevé (entre 10^5 et 10^7 UFC/ml), préjudiciable aussi bien à la transformation dans l'industrie laitière qu'à la santé publique.

Nos résultats se situent dans cet intervalle de contamination. Ils sont supérieurs aux résultats rapportés par ; **Aggad et al (2009)** dans l'ouest Algérien où la moyenne en flore

totale du lait cru de mélange était de **83.10⁴ UFC/ml**, **Hamiroune et al (2014)** dans les régions de Jijel et de Blida ou la moyenne des dénombrements était de **7,2. 10⁵ UFC/ml** et **Seme et al (2015)** dans la région maritime au sud-Togo ou la valeur moyenne de la flore totale était de **5,90 .10⁵ UFC/ml**.

Cependant notre valeur est inférieure à celle avancée par ; **Labioui et al (2009)** dans la région de Mnasra au Maroc ou la teneur moyenne était de **6,38.10⁶ UFC/ml** , **taybi et al (2014)** , **Ounine et al (2004)** dans la région du Gharb, au Maroc avec des valeurs moyennes de l'ordre de **2,15.10⁷ UFC/ml** , **1,26.10⁸ UFC/ml** respectivement et **Benhedane, 2012** dans l'est algérien avec une valeur moyenne de **28,8.10⁶ UFC/ml** .

La totalité de nos échantillons (**100%**) sont de mauvaise qualité au vu des critères algériens qui fixent le seuil de contamination à **10⁵ UFC/ ml**.

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

Le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées les manipulations à savoir l'état sanitaire de l'animal et particulièrement de la mamelle, du niveau de contamination (étables, locale de traite), des trayons ainsi que du matériel de récolte du lait (citernes) (**Stool, 2002**).

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

Selon **Amhourri et collaborateurs (1998)**, la dégradation de la qualité du lait cru est due au manque de respect des bonnes pratiques de production notamment au niveau du stockage du lait de soir qui va ensuite être mélangé avec le lait du lendemain matin et au niveau de la multitude des transvasements.

La collecte du lait cru se faisant sans chaîne de froid. Le refroidissement du lait est important pour éviter la dégradation de sa qualité ce qui a été déjà rapporté par **Faye et Loi- seau ,2002** qui définissent le lait restant à température ambiante durant les 4 à 5 heures de transport en pleine journée comme des conditions particulièrement favorables au développement rapide des bactéries. En effet, en refroidissant le lait peu de temps après la traite, on profite des qualités bactériostatiques du produit et les bactéries sont bloquées en phase de latence où la croissance est quasiment nulle.

Dans le cas du lait non refroidi, les bactéries terminent leur phase de latence pendant le transport et entament un développement important avant que le lait n'atteigne sa température

de conservation. Bien entendu, l'efficacité de cette technique repose entièrement sur l'amélioration des pratiques d'hygiène en amont des centres de collecte (**Weber, 1985**).

Une contamination du lait à l'intérieur des citernes est possible, elle serait due à un nettoyage et une désinfection inefficaces et/ ou un mauvais séchage (**Faye et Loiseau, 2002**).

I.1.2.Lait cru individuel:

Nos échantillons sont en totalité conformes à la norme fixée par le Journal Officiel Algérien et limitée à **10^5 germes/ml**.

Selon **Faye et Loiseau (2002)**, un animal sain dont la traite est effectuée dans de bonnes conditions d'hygiène, produit normalement un lait peu contaminé contenant une flore globale de **10^3 à 10^5 UFC/ml** ce qui est d'accord avec nos résultats ou la valeur moyenne de la flore totale est de **$2,8.10^3 \pm 1,6.10^3$ UFC/ml**.

Ces valeurs étaient nettement inférieures à celles constatées sur les laits réceptionnés au niveau de la laiterie, ce qui reviendrait à dire que la contamination est étroitement dépendante des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées les manipulations, et elle pourrait être due aux opérations de manutention ou à la mauvaise hygiène des citernes de collecte une chose aggravée par l'absence d'une chaîne de froid au cours du transport.

I.1.3.Lait pasteurisé:

Les laits pasteurisés prélevés à partir du pasteurisateur sont conformes à la norme fixée par le journal officiel à **3.10^4 UFC/ml**. La valeur moyenne en flore totale est de **$1,17.10^3 \pm 95.74$ UFC/ml** en relation avec une pasteurisation efficace sur ces germes.

Avant le conditionnement et la livraison du lait, ce dernier passait par un Tank de stockage à une température de 4°C. Les laits prélevés à partir de ce tank ont présenté une valeur moyenne de germes totaux de **$9,2.10^4 \pm 1,5.10^5$ UFC/ml** qui dépasse la norme fixée par le journal officiel, cela indique une recontamination après pasteurisation (**Aggad et al., 2009**) au niveau du Tank ou au niveau des conduits du pasteurisateur vers le tank.

Dans les industries laitières, les problèmes liés aux bios films revêtent une importance capitale car ces bios films peuvent être une source de contamination bactérienne responsable d'une réduction de la durée de conservation des produits et de la transmission de maladies. Ils se forment habituellement sur les surfaces qui sont en contact avec des fluides (**Carpentier et Cerf, 1993**). La formation des bios films sur les équipements d'industrie laitière peut mener à des problèmes d'hygiène et à des pertes économiques (**Bremer et al., 2006**)

Ils sont plus résistants aux agents antimicrobiens comparés aux cellules planctoniques ce qui fait de leur élimination à partir des équipements de traitement des denrées alimentaires un défi important (**Simões et al., 2006**).

Compte tenu de leur résistance aux antibiotiques et aux désinfectants, les micro-organismes adhérents et/ou en bios films sont très difficiles à éliminer et sont donc une source récurrente de contamination des aliments dans le secteur agro-alimentaire. Les bios films formés sur les canalisations ou d'autres surfaces dans l'environnement de traitement des denrées alimentaires sont identifiées comme source potentielle pour l'intoxication alimentaire (Allion, 2004).

Pour les échantillons de lait pasteurisé conditionné, **82,35%** sont contaminés par la flore totale avec une moyenne de **$3,6.10^4 \pm 5,8.10^3$ UFC/ml**. Cette valeur est inférieure à celle rapportée par Mahouz (2007) dans la région de Tiaret où la valeur moyenne en flore totale était de **$3,3. 10^5$ UFC/ml**.

Notre pourcentage de contamination (**82,35 %**) est proche des résultats obtenus par Aggad *et al* (2009) dans la région de Tiaret où aucun échantillon de lait pasteurisé conditionné ne répond à la norme qui est de **3.10^4 UFC/ml** au maximum.

Selon Sissao *et al* (2015), la contamination du lait pasteurisé provient le plus souvent du matériel de conditionnement et de l'hygiène de l'opérateur. Nous pouvons en déduire qu'il y avait eu une ré-contamination du lait au cours du conditionnement qui serait un point critique à la laiterie pour l'appréciation de la qualité du lait.

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

En outre, On pourrait imputer cette augmentation de la charge microbienne totale aux mauvaises conditions d'entreposage et de stockage. Ainsi qu'à l'augmentation de la température au cours du transport et de la vente (Ait abdelouhab, 2001)

Aggad *et al* (2010) confirment par leurs résultats obtenus dans l'étude relative aux aspects qualitatifs du lait pasteurisé que la température a un rôle crucial dans la conservation du lait pasteurisé.

I.2. Coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux en fermentant le lactose apparaissent sous forme de colonies rouges foncées d'un diamètre d'au moins **0,5** millimètre (Figure N° 07).

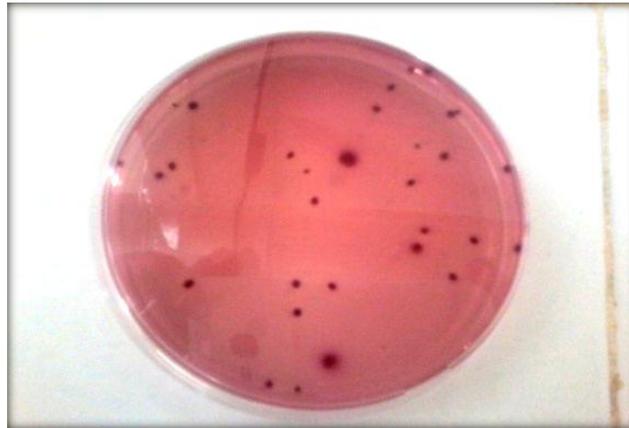


Figure N° 07: Aspect macroscopique des coliformes fécaux sur le milieu VRBL

Tableau N°15: résultats des dénombrements des coliformes fécaux.

Provenance		Minimum (ufc/ml)	Moyenne (ufc/ml)	Maximum (ufc/ml)	Ecart type
Lait cru	Mélange	00	$3,9.10^3$	$1,1.10^4$	$3,8.10^3$
	Individuel	00	00	00	00
Lait pasteurisé	A l'usine	Pasteurisateur	00	00	00
		Tank de stockage	00	00	00
	A la vente	Conditionné	00	$2,7.10^2$	7.10^2

I.2.1. Lait de mélange :

Les laits analysés ont montré des valeurs allant de 00 jusqu'au $1,1.10^4$ UFC/ML avec une moyenne de $3,9.10^3 \pm 3,8.10^3$ UFC/ML.

Cette valeur est supérieure à celle limitée par le journal officiel à 10^3 UFC/ML.

Les présents résultats où le taux de contamination est de 71.42% sont supérieurs à ceux rapportés par Ghazi et Niar (2011), dans la région de Tiaret avec une moyenne de 1,7. 10 UFC/ML pour un taux de contamination de 18,06% .Ils sont néanmoins proches des résultats de Labioui et al (2009) dans la région de Mnasra au Maroc avec $5,2.10^3$ UFC/ML, mais ils sont nettement inférieurs aux résultats rapportés par Ouinine et collaborateurs (2004) avec $2,0. 10^6$ UFC/ML et Afif et collaborateurs (2008) avec $3,2 10^5$ UFC/ml dans l'une des coopératives laitières à Tadla (Maroc).

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* 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.

Selon **Taybi et al (2014)** une contamination fécale élevée, témoigne une pollution fécale des cultures fourragères servant à l'alimentation des vaches laitières.

Srairi et Hamama, 2006 ont prouvé à travers leur étude portant sur la qualité globale du lait cru de vache au Maroc que les relations entre profils de traite et qualité globale du lait ont montré des incidences marquées sur la contamination du lait en micro-organismes, surtout au niveau des coliformes fécaux. Les étables avec une traite manuelle sale (sans usage de lingette et sans lavage systématique des mamelles) et l'usage de seaux en plastique sont celles qui montrent la plus forte contamination du lait en coliformes fécaux.

En effet. La traite manuelle augmente les possibilités de contamination du lait en accroissant la surface de contact entre le lait et les microorganismes du milieu ambiant, surtout lorsque que ce dernier est souillé.

Les principaux vecteurs sont la peau des trayons, souillée par les fèces et le matériel de traite mal conçu et donc se nettoyant mal. En dehors de la source fécale, la contamination du lait 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. Ils peuvent éventuellement entraîner des toxi-infections alimentaires, (**Aggad et al., 2009**).

I.2.2.Lait individuel:

Nous avons constaté l'absence totale des coliformes fécaux dans les échantillons de lait cru individuel.

I.2.3. Lait pasteurisé :

La norme est l'absence de ce germe dans le lait pasteurisé.

Au niveau du pasteurisateur et au niveau du Tank de stockage, nous avons constaté l'absence de coliformes fécaux.

Par contre, les échantillons de lait pasteurisé conditionné ont présenté un taux de contamination de **52.94 %** avec une valeur moyenne de **$2,7.10^2 \pm 2,6.10^2$ UFC/ML**

En évaluant la qualité sanitaire du lait pasteurisé commercialisé dans la région de Tiaret, **Benchohra et al (2016)** ont trouvé que les coliformes fécaux étaient présents dans **41 %** des échantillons.

Aggad *et al* (2010) en vérifiant le lait pasteurisé dans la région de Tiaret ont trouvé seulement 2% de contamination.

Selon aggad *et al* (2010), la présence de ces pathogènes à un niveau élevé semble être liée à plusieurs facteurs; comme, le défaut d'hygiène du personnel, le protocole de décontamination de l'équipement et des locaux et les mauvaises conditions de stockage ou de protection du lait.

I.3. Coliformes totaux :

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

Seuls les échantillons pasteurisés ont été analysés pour la recherche des coliformes totaux. Le tableau suivant (N° 16) montre les valeurs de contamination des échantillons par les coliformes totaux.

Tableau N°16: résultats des dénombrements des coliformes totaux.

Provenance		Minimum (ufc/ml)	Moyenne (ufc/ml)	Maximum (ufc/ml)	Ecart type	
Lait cru	Mélange	-	-	-	-	
	Individuel	-	-	-	-	
Lait pasteurisé	A l'usine	Pasteurisateur	00	00	00	00
		Tank de stockage	00	3,7.10 ³	1,5.10 ⁴	7,4.10 ³
	A la vente	Conditionné	00	1,4.10 ⁴	3,2.10 ⁴	1,14.10 ⁴

I.3.1. Lait pasteurisé :

D'après les résultats du tableau N° 16, nous avons noté une absence de ces germes dans les laits prélevés à partir du pasteurisateur, par contre, ils étaient présents au niveau du Tank de stockage de la laiterie sidi Khaled dans 50 % des échantillons avec une moyenne de $3,7.10^3 \pm 7,4.10^3$ UFC/ML. Cette valeur dépasse la norme officielle. Ceci confirme notre hypothèse (émise dans le tableau N° 14) selon laquelle il existerait un problème au niveau de la tuyauterie reliant le pasteurisateur au tank de stockage.

Pour le lait pasteurisé conditionné, 91,17% des échantillons sont contaminés par les coliformes totaux avec une valeur moyenne de $1,4.10^4 \pm 1,14.10^4$ UFC/ML qui dépassait de loin la norme fixée par le journal officiel à 10 UFC /ml.

Nos résultats sont supérieurs à ceux avancés par Mahouz, 2007 dans la région de Tiaret ou la valeur moyenne en CT des laits pasteurisés conditionnés était de $1, 7.10^2$ UFC/ML

Dans l'étude de **Benchohra et al (2016)**, 63% des échantillons ont montré la présence d'un taux élevé de coliformes totaux.

Dans la région de Tiaret, **Aggad et al (2010)** ont également constaté une forte incidence (31%) de CT dans le lait de vache pasteurisé.

Selon Aggad et al (2010) ; la présence de coliformes totaux indique une contamination due à des défaillances technologiques ou hygiénique.

Les conditions du conditionnement sont à l'origine de la contamination du lait après traitement à savoir ; lors de l'emballage, ou l'utilisation de matériaux d'emballage de mauvaise qualité.

I.4. Staphylococcus aureus :

Sur le milieu Baird Parker, les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent noires, convexes, brillantes, de diamètre compris entre 0,5 et 2 mm entourées d'un halo clair dû à l'hydrolyse des protéines de l'œuf, après une incubation de 48h à 37°C. (**Figure N° 08**)



Figure N° 08: Aspect macroscopique de *Staphylococcus aureus* sur le milieu **Baird Parker**

Tableau N°17: résultats des dénombrements de *Staphylococcus aureus*.

Provenance			Minimum (ufc/ml)	Moyenne (ufc/ml)	Maximum (ufc/ml)	Ecart type
Lait cru	Mélange		2,8.10 ³	9.10 ³	1,9.10 ⁴	4,3.10 ³
	Individuel		00	2,9.10 ³	2.10 ⁴	5,7.10 ³
Lait pasteurisé	A	Pasteurisateur	00	00	00	00
	l'usine	Tank de stockage	4,4.10 ³	7,2.10 ³	8,4.10 ³	1,9.10 ³
		A la vente	Conditionné	00	4,9.10 ³	1,8.10 ⁴

I.4.1.Lait de mélange :

Selon le journal officiel, la norme est l'absence de ce germe dans le lait cru.

La totalité de nos échantillons sont contaminés par les staphylocoques avec une valeur moyenne de **9.10³ ± 4,3.10³ UFC/ML**.

Nos résultats sont proches de ceux rapportés par **Kouamé-Sina et al (2010)** à Abidjan (Côte d'Ivoire) avec une moyenne de **7,1.10³ UFC/ML**.

Cependant ils sont supérieurs à ceux trouvés par : **Ghazi et Niar (2011)** dans la wilaya de Tiaret avec une moyenne de **2 ,10² UFC/ML**, **Hamiroune et al (2014)** dans les régions de Jijel et de Blida avec une moyenne de **0,9. 10³ UFC/ML** et **Aggad et al (2009)** dans l'ouest algérien avec une valeur moyenne de **35.10² UFC/ML**.

Ils sont inférieurs à ceux de : **Taybi et al (2014)** dans la région du Gharb au Maroc avec **2,15. 10⁴ UFC/ML**, **Hamama (2002)** dans la région de Rabat avec une teneur moyenne de **25. 10⁵ UFC/ml**.

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.

Chez les bovins, *S. aureus* est isolé dans les narines. On le retrouve dans de petites lésions cutanées et dans les manchons des machines à traire.

La machine à traire, peut en effet infecter **6** vaches qui suivent la traite d'une vache infectée, et enfin l'homme (**Thieulon, 2005**).

Fourichon et al (2004) cités par **Bouaziz (2005)** montrent que le nettoyage incomplet de la machine à traire permet la survie des agents pathogènes dans les gobelets trayeurs qui contamineraient le trayon en début de traite.

La colonisation des trayons peut entraîner l'infection de la mamelle.

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 10^4 - 10^5** bactéries/ml en cas de mammite subclinique et jusqu'à **10^8** bactéries/ml en cas de mammite clinique (**Asperger, 1994**)

Dans notre travail, le taux de contamination du lait de mélange est de **100%** ce qui montre que la prévalence de mammites subcliniques dans les élevages de la wilaya de Tiaret est élevée.

Chez l'homme, le portage nasal concerne 20 % à 50 % des individus. *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 au cours des manipulations intervenant tout au long de la chaîne alimentaire.

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

I.4.2.Lait individuel : 40 % des échantillons sont contaminés par les staphylocoques avec une valeur moyenne de **$2,9.10^3 \pm 5,7.10^3$ UFC/ML**.

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

I.4.3 .Lait pasteurisé:

Au niveau du pasteurisateur, les staphylocoques sont absents.

Par contre, ils sont présents au niveau du Tank de stockage avec une moyenne de **$7,2.10^3 \pm 1,9.10^3$ UFC/ML** qui dépasse la norme fixée par le journal officiel à 1 germe par millilitre.

Concernant les laits pasteurisés conditionnés, **70,58%** de nos échantillons sont contaminés par *S. aureus* avec une valeur moyenne de **$4,9.10^3 \pm 4,8.10^3$ UFC/ML**

Benchohra et al (2016) ont signalé la présence de *S. aureus* dans **61 %** des laits pasteurisés contrôlés.

Par contre **Leite et al (2002)** n'ont pas détecté *S. aureus* dans le lait pasteurisé au Salvador.

La présence de *S. aureus* dans les aliments peut bien être expliquée par une Contamination introduite directement dans la nourriture due à une mauvaise manipulation et à l'ignorance ou négligence des pratiques d'hygiène parmi les manipulateurs de denrées alimentaires au cours de la production, la transformation et/ou la distribution.

Les aliments exposés à une contamination par *S. aureus* en post-traitement, représentent un risque important pour la santé humaine, en effet ce pathogène est supposé avoir été éliminé par la chaleur durant le traitement (cuisson ou pasteurisation) par conséquent, sa présence dans les aliments transformés est généralement indicative de mauvaises conditions d'hygiène.

Dans les quelques cas rapportés concernant le lait pasteurisé, la principale cause de Contamination était toujours en post-pasteurisation en raison de l'équipement défectueux et les mauvaises pratiques de manipulation des produits (**Crago et al., 2012**)

Bonfoth et al (2003) expliquent dans leurs travaux que le matériel utilisé pour les diverses manipulations laitières représente un risque de contamination (avant pasteurisation) et de recontamination (après pasteurisation) du fait de son contact régulier avec la matière première.

Ce risque devient plus élevé lorsque ce matériel est inadapté, mal ou insuffisamment lavé et désinfecté (présence de matières organiques appelées "bio film", qui sont susceptibles d'abriter des microorganismes) sachant que le staphylocoque doré est connu pour sa production de bios films.

Selon **Minor et Marth (1976)** le lait pasteurisé est plus favorable à la croissance de *S. aureus* que le lait cru, car ce micro-organisme est un mauvais compétiteur en présence d'autres flores bactériennes.

Les conditions d'exposition à la vente et la température de stockage du lait pasteurisé conditionné ont une influence sur la charge microbienne en staphylocoques.

En effet, *Staphylococcus aureus* cultive à des températures comprises entre 6 °C et 46 °C (température optimale : 37 °C). (**De Buyser, 1996**).

Nous pouvant en déduire que les conditions de vente étaient dégradés chez les commerçants (généralement à température ambiante quelle que soit la saison).

I.4.4. Identification de *S. aureus*:

64 souches de *Staphylococcus* spp isolés sur le milieu de Baird Parker répondent aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques du genre *Staphylococcus*. Elles sont catalase positif (Figure N°09). Les colonies présentant l'aspect caractéristique du staphylocoque ont fait l'objet d'une purification sur le milieu de Chapman.

La purification des bactéries isolées nous a permis de choisir 60 souches qui se sont avérées des cocci à Gram positif, groupées en amas sous forme de grappes de raisin (Figure N°10). Leur aspect macroscopique sur le milieu Chapman a montré qu'elles sont: crémeuses, bombées, de 1 à 2 µm de diamètre, lisses, brillantes et pigmentées en jaunes. Cette pigmentation est due à la dégradation du mannitol en acide lactique (abaissement du pH = acidification du milieu) (Figure N°11). Elles sont coagulase positives (Figure N°12), ce qui a permis de les assigner à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

Dégagement
de bulles de
gaz

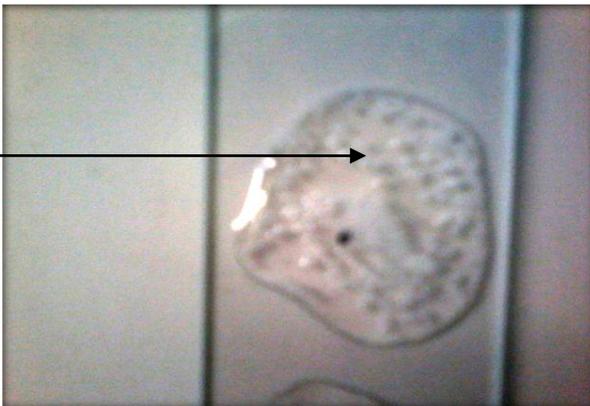


Figure N°09: Résultat du test de la catalase

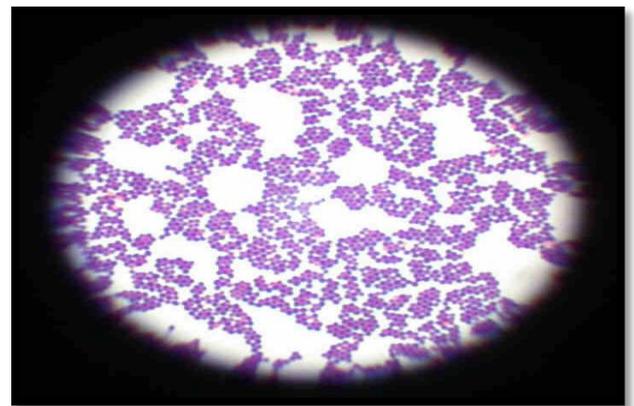


Figure N°10: Aspect microscopique de *Staphylococcus aureus* Gr x100



Figure N°11: Aspect macroscopique de *Staphylococcus aureus* sur le milieu Chapman

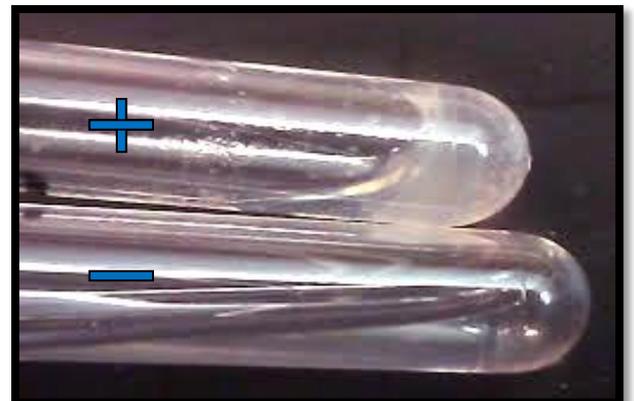


Figure N°12: Illustration de la production d'une Coagulase

Cette identification a révélé une prédominance de cette espèce par rapport aux staphylocoques à coagulase négative. (**Figure N°13**)

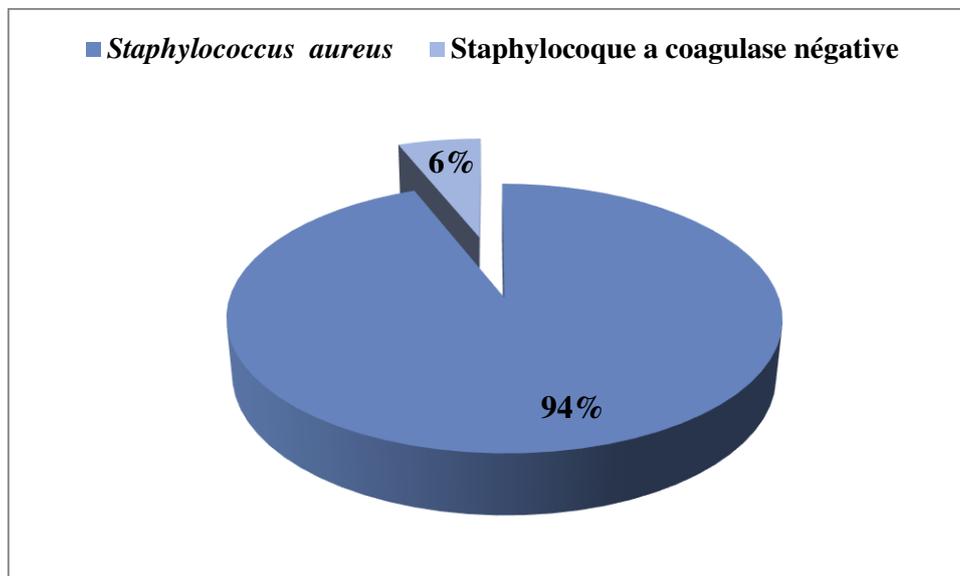


Figure N°13 : pourcentage des souches de staphylocoque isolées.

I.4.5. Antibiogrammes :

Parmi les micro-organismes les plus incriminés dans les infections *Staphylococcus aureus* occupe une place privilégiée. Son pouvoir pathogène, son caractère ubiquiste et l'absence d'exigences nutritionnelles font de cette bactérie un exemple d'adaptation et de dissémination. Cette situation semble se compliquer par l'émergence et la progression du phénomène de résistance aux antibiotiques qui place les cliniciens dans une impasse, face à des germes réfractaires à tous types de traitement (**Rebiahi, 2012**).

La nourriture est un facteur important dans le transfert de cette résistance aux antibiotiques (**Pesavento et al., 2007**).

8,33 % des souches testées ont montré une sensibilité à tous les antibiotiques.

Par contre, **91.67 %** des souches ont présenté une résistance unique ou qui s'étend à plusieurs familles d'antibiotiques réduisant ainsi le choix de molécules thérapeutiques.

Tableau N° 18: Sensibilité des isolats de *S. aureus* aux antibiotiques (n=60).

Antibiotiques	Résistant (%)	Intermediaire (%)	Sensible (%)
Tétracycline	41,66	5	53,33
Kanamycine	6,66	1,66	91,66
Amoxicilline/acide clavulanique	18,33	Nd	81,66
Gentamicine	00	00	100
Céfoxitine	13,33	Nd	86,66
Erythromycine	36,66	8,33	55
Ampicilline	88,33	Nd	11,66

N d: non déterminé

L'histogramme de la **figure N°14** illustre le caractère résistant des souches de *S. aureus*.

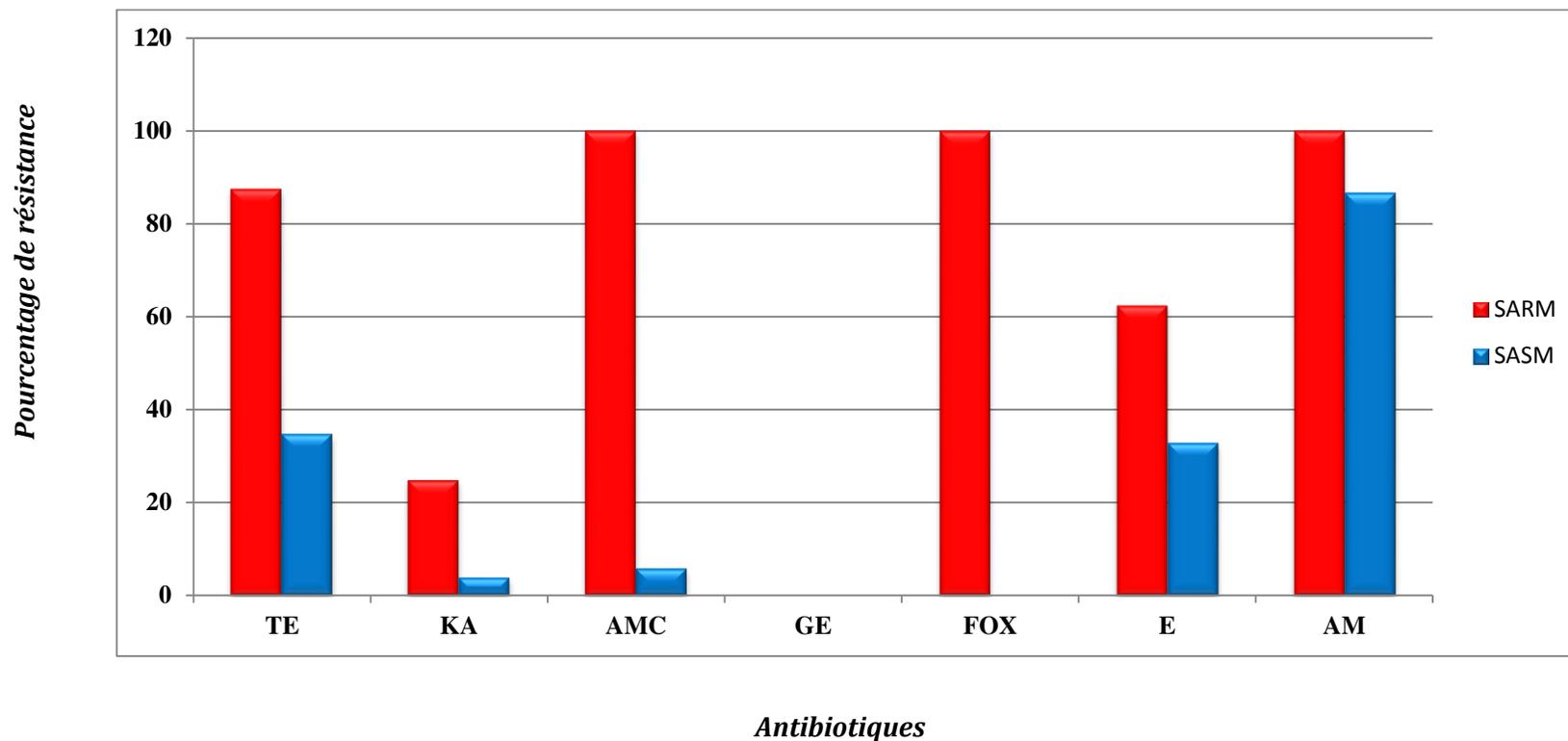


Figure N°14 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus*

TE : Tétracycline. **KA** : Kanamycine. **AMC** : Amoxicilline/Acide clavulanique. **GE** : Gentamycine. **FOX** : Céfoxitine. **E** : Erythromycine.
AM : Ampicilline. **SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. **SASM** : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline.

I.4.5.1. Souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline :

À l'aide du test à la céfoxitine, **08** souches sur les **60** isolats de *S. aureus* présentent une résistance à la céfoxitine soit un taux de (**13,33%**) de la totalité des souches isolées.

Les résultats de notre étude indiquent que les huit isolats de **SARM** sont d'une origine animale : le lait cru, aucun **SARM** n'a été isolée du lait pasteurisé.

Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (**SARM**) aggravent le pronostic et compliquent de manière sérieuse la prise en charge des staphylococcies. De ce fait, elles représentent un problème de santé publique majeur (**Gould, 2005**). Ces bactéries sont à l'origine d'infections nosocomiales sévères mais aussi de pathologies communautaires (**Chambers, 2001**).

Une étude réalisée en **2014** à l'hôpital de Kolea (Tipaza, Algérie), (**Boukhatem et al., 2015**) a rapporté que le taux des **SARM** était de **38,46%** taux plus élevé que celui trouvé dans les pays nordiques (Suède, Danemark) où le pourcentage de *S. aureus* résistant à la méticilline est resté très bas < 2 % (**Elhamzaoui et al., 2009**), a celui trouvé au Maroc au niveau du Centre Hospitalier ibn Sina de Rabat avec **10%** (**El-anzi, 2014**) et à ceux rapportés pour la Côte Ivoire, et la Tunisie avec **25%**, et **15,3%** respectivement (**Mastouri et al., 2010**).

Cependant, seuls quelques cas de **SARM** chez les animaux producteurs d'aliments et dans les aliments d'origine animale ont été signalés (**Lee, 2003**)

La plupart des animaux peuvent être colonisés par *S. aureus*, mais c'est seulement en **1995**, **Kluytmans et al.**, décrit la première éclosion d'origine alimentaire de **SARM** qui causa la mort à cinq des vingt un patient (**Normanno et al., 2007**)

Le taux de **SARM** trouvé dans notre étude est de **13,33%**, taux un peu élevé par rapport au nombre de prélèvements, comparé au taux enregistré par **Normanno et al (2007)** qui a isolé **6** souches, soit (0,4%) de **SARM** à partir de **1634** échantillons de lait de vache et de fromage. Dans une enquête Japonaise, **Kitai et al (2005)** a isolé deux souches de **SARM** (0,5%) à partir de **444** échantillons de viande de poulet.

Nos résultats concordent avec celles récemment réalisés au Brésil où les **SARM** étaient présents dans **32%** des échantillons de hamburger cru et **8%** des échantillons de sandwich prêt à consommer commercialisés dans les supermarchés et les établissements de restauration rapide. La fréquence du **SARM** était plus élevée dans les échantillons contenant de la viande de poulet (**Contreras et al., 2015**).

Chaalal , 2013 a également isolé **01** souche SARM parmi **13** souches de *S.aureus* isolées de viande fraîche et **01** autre SARM parmi **14** souches de *S. aureus* isolées de lait cru .

Ceci suggère que les aliments d'origine animale sont des réservoirs de **SARM** et peuvent transmettre l'agent pathogène à l'être humain (**Crago et al., 2012**). En matière de sécurité alimentaire, la présence de **SARM** dans les aliments et notamment dans le lait cru de bovins présente une menace avérée, surtout quand il est consommé cru ou utilisé dans la production fromagère, constituant ainsi une source de contamination pour les produits laitiers transformés.

I.4.5.2. Résistance des SARM aux autres antibiotiques:

L'histogramme **I** de la **figure N ° 14** illustre le caractère résistant des souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM), présentant une résistance croisée aux β -lactamines qui s'étend à d'autres familles d'antibiotiques. La totalité des SARM isolées dans ce travail se sont avérées résistantes à l'ampicilline, à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique .

Ces souches ont également échappé à l'action des aminosides traduisant un taux de résistance de **25%** pour la kanamycine .Par contre la gentamicine a été pondéralement plus active exprimant un taux de sensibilité de **100 %**.

Le phénomène de l'antibio résistance n'a pas épargné la tétracycline et l'érythromycine avec des taux de **87,50%** et **62,50%** respectivement.

Le tableau N° 19 montre la fréquence de résistance des SARM aux antibiotiques.

Tableau N° 19 : fréquence de résistance des SARM aux antibiotiques.

<i>Antibiotiques testés</i>	<i>Pourcentage de résistance (%)</i>
<i>AM</i>	<i>100</i>
<i>AMC</i>	<i>100</i>
<i>FOX</i>	<i>100</i>
<i>KA</i>	<i>25</i>
<i>GE</i>	<i>00</i>
<i>TE</i>	<i>87,50</i>
<i>E</i>	<i>62,50</i>

Les bêtalactamines:

La résistance des souches de SARM isolées dans notre étude est croisée avec celles de toutes les bêtalactamines.

Nos résultats sont similaires à ceux avancés par : **Chaalal , 2013** dans la région de Tiaret qui a rapporté que la résistance des **02** souches de SARM isolées est croisée avec celle de toutes les bêtalactamines. Les mêmes résultats ont été également rapporté par; **Rebiahi, 2012** au niveau du CHU de Tlemcen, **Aouati et al (2010)** au niveau du CHU de Constantine et **Hamze et al (2003)** au nord du Liban.

Aminosides:

25% des souches SARM étaient résistantes à la kanamycine. Ces résultats sont nettement inférieurs à ceux trouvés par : **Chaalal, 2013** dans la région de Tiaret et **Aouati et al (2010)** au niveau du CHU de Constantine avec un taux de **100%** , **Hamze et al (2003)** au nord du Liban avec un taux de **90%**.

Par contre ces SARM étaient sensibles à **100 %** à la gentamicine. Le même résultat était trouvé par Chaalal, **2013** dans la région de Tiaret.

Cependant, d'autres travaux ont signalé des résistances vis-à-vis de la gentamicine ; **Rebiahi, 2012** au niveau du CHU de Tlemcen avec **30,3%**, **Aouati et al (2010)** au niveau du CHU de Constantine avec **37,5%** et **Hamze et al (2003)** au nord du Liban avec **6,67%**.

Tétracycline:

87, 5% des souches SARM étaient résistantes à la tétracycline. Nos résultats sont similaires à ceux de **Hamze et al (2003)** au nord du Liban où le taux de résistance était de **86,67%**.

Ils sont supérieurs à ceux de **Aouati et al (2010)** au niveau du CHU de Constantine avec un taux de résistance de **78%**.

Érythromycine :

Le taux de résistance des souches SARM isolés était de **62, 50%**.

Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Hamze et al (2003)** au nord du Liban avec **10%**, mais restent inférieurs à ceux de **Chaalal , 2013** dans la région de Tiaret avec un taux de **100%**.

Le taux relativement important et les résistances de nos souches **SARM** pourraient être expliqués d'une part, par l'accumulation de ces souches de plusieurs mécanismes de résistance (la flexibilité génétique de *Staphylococcus aureus* lui a permis l'acquisition de plusieurs mécanismes) (**Hiramatsu , 2001**), et d'autre part, par une pression de sélection générée par une utilisation irrationnelle des antibiotiques (**Abbanat et al.,2008**).

Les souches **SARM** sont le plus souvent résistantes à d'autres classes d'antibiotiques (Speller *et al.*, 1989), elles sont considérées comme des bactéries multi résistantes, et la résistance à la méticilline est depuis lors utilisée, comme marqueur de multi résistance (Grohs, 2009).

I.4.5.3. Souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline :

Sur les **60** souches de *S. aureus* testées, **52** souches se sont avérées sensibles à la céfoxitine soit un taux de **86,66%**.

Ces **SASM** sont essentiellement isolées du lait cru et du lait pasteurisé avec des taux de **53,84%**, **46,15 %** respectivement.

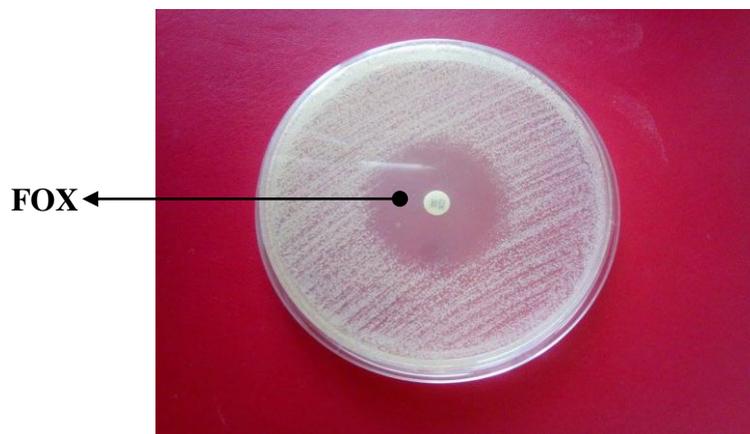


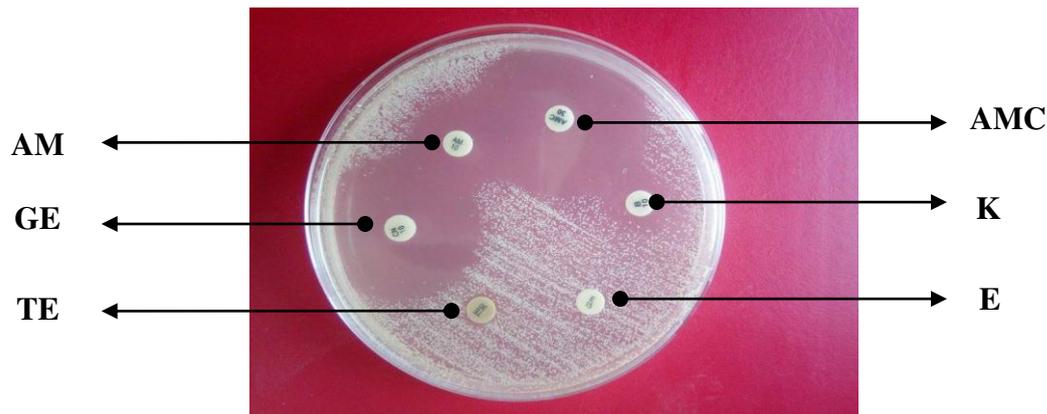
Figure N° 15: une souche SASM

I.4.5.4. Résistance des SASM aux autres antibiotiques:

Malgré la sensibilité à la méticilline, nous notons que les **SASM** peuvent être résistantes à d'autres antibiotiques (**Tableau N°21**).

Tableau N° 20 : fréquence de résistance des SASM aux antibiotiques

Antibiotiques testés	Pourcentage de résistance (%)
AM	86,53
AMC	5,76
FOX	00
KA	3,84
GE	00
TE	34,61
E	32,69



**Figure N° 16: une souche SASM
présentant une multi résistance.**

Les bêtalactamines :

86, 53% des SASM isolées dans notre étude se sont avérées résistantes à l'ampicilline, un taux nettement supérieur à celui trouvé dans l'étude réalisée à l'est Algérien par **Bouaziz, 2005**. Ce dernier a rapporté un taux de **30%**.

Pour l'association Amoxicilline/Acide clavulanique, **Bouaziz, 2005** a trouvé une sensibilité de **100%** ce qui est incohérent avec nos résultats ou le taux de résistance était de **5,76%**.

Aminosides :

les SASM isolées ont présenté une résistance de **3,84%** vis-à-vis de la kanamycine.

Nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Chaalal, 2013** qui a rapporté un taux de résistance de **18, 51%**.

Cependant ils sont incohérents avec les études réalisées par **Bouaziz, 2005** et **Benhamed , 2014** où aucune résistance n'est notée .

La gentamicine a été pondéralement active sur nos souches SASM.

Nos résultats sont d'accord avec ceux de **Chaalal (2013), Bouaziz (2005) et Beldjilali (2015)**.

Tétracycline:

nous avons enregistré un taux de résistance de **34,61%**. Ces résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Benhedane, 2012** avec **17%**.

Ils sont néanmoins proches de ceux rapportés par **Bouaziz, 2005** avec **40%**.

Erythromycine :

nous avons constaté que **32,69%** des **SASM** étaient résistantes à l'érythromycine.

Nos résultats ne sont pas d'accord avec ceux de **Bouaziz (2005)**, **Beldjilali (2015)** et **Benhedane (2012)** qui ont signalé une sensibilité totale des **SASM** vis-à-vis de l'érythromycine.

Chaalal, 2013 a rapporté un taux de résistance de **25, 92%**.

Les résistances enregistrées chez les **SASM** pourraient être expliquées par l'utilisation abusive des antibiotiques par les praticiens privés pour le traitement des animaux.

En menant une enquête auprès des praticiens et des grossistes de médicaments vétérinaires au niveau de la wilaya de Tiaret, **Chaalal, 2013** a trouvé que la tétracycline et l'érythromycine sont utilisés de manière intensive pour le traitement des différentes infections chez les animaux, ce qui explique la résistance de nos souches de **SASM** à l'égard de ces antibiotique.

Selon **Ben Mahdi et Ouslimani (2009)**, la tétracycline occupe une place prépondérante dans la thérapeutique des élevages laitiers en Algérie.

I.5. Streptocoques fécaux :

Après prolifération abondante dans l'aliment, les streptocoques fécaux peuvent être à l'origine de toxi infections bénignes qui sont, toutefois, exceptionnelles.

Sur le milieu **BEA**, les colonies de streptocoques du groupe D sont petites, translucides et entourées d'un halo noir (esculine positive). (**Figure N°17**)



Figure N°17: Aspect macroscopique des streptocoques fécaux sur le milieu BEA

Tableau N°21: résultats de dénombrement des streptocoques fécaux.

Provenance		Minimum (ufc/ml)	Moyenne (ufc/ml)	Maximum (ufc/ml)	Ecart type	
Lait cru	Mélange	4	1,74.10 ²	14,10 ²	3,75.10 ²	
	Individuel	00	3,3	1,5.10	4,37	
Lait pasteurisé	A l'usine	Pasteurisateur	00	00	00	00
		Tank de stockage	00	00	00	00
	A la vente	Conditionné	00	00	00	00

I.5.1. lait de mélange :

La norme est l'absence du germe dans **0.1 ml** de lait cru.

Les échantillons sont en totalité contaminés par les streptocoques fécaux avec une charge moyenne de **1,74.10² ± 3,75.10² UFC/ML**.

Nos résultats sont proches de ceux avancés par **Seme et al (2015)** dans la région maritime au sud-Togo où la moyenne de contamination était de **2,78. 10² UFC/ML**, et à ceux rapportés par **Afif et collaborateurs (2008)** dans la région de Tadla au Maroc où la moyenne des résultats obtenus était **10² UFC/ML**

Ils sont inférieurs aux résultats de **Kouamé-Sina et al (2010)** à Abidjan (Côte d'Ivoire) avec **3,1.10³ UFC/ML**, de **Hamiroune et al (2014)** dans les régions de Jijel et de Blida avec **2,8 10⁴ UFC/ML** et de **d'Ounine et al (2004)** de la région du Gharb au Maroc avec **8,13.10⁴ UFC/ML**

La présence des streptocoques dans le lait au taux de **100 %** semble être normale selon **Baazize, 2005** car ce taux, quoique considérable, ne reflète que les mauvaises conditions d'hygiène des exploitations. **Baazize , 2005** a rapporté un taux de **91,09%**

Selon **Afif et collaborateurs(2008)**, le groupe des streptocoques fécaux représente un bon indicateur de contamination fécale surtout dans le cas de la pollution des eaux.

Seme et al (2015) rapportent que le taux de streptocoques est en rapport avec l'état de santé des vaches, les conditions hygiéniques de la traite, et d'éventuelles contaminations au cours du dénombrement.

Selon **Aggad et al (2009)** un taux important des streptocoques dans les laits crus, est probablement en relation avec un nombre important de collecteurs ne respectant pas les normes d'hygiène.

I.5.2.Lait individuel : la moyenne de dénombrement est de $3,3 \pm 4.37$ UFC/ML.

I.5.3.Lait pasteurisé : nous avons constaté l'absence de ces germes dans tous les échantillons de lait pasteurisé.

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par **Aggad *et al* (2009)** dans l'ouest algérien.

Par contre, **benchohra *et al* (2016)** ont signalé la présence des streptocoques fécaux dans tous les laits pasteurisés analysés.

Selon **Aggad *et al* (2009)** leur absence dans tous les laits pasteurisés, reflèterait une efficacité de la pasteurisation sur ces germes.

Selon **Waes 1973**, la thermorésistance des streptocoques fécaux plaide en faveur du contrôle spécifique de leur nombre dans le lait cru. Ils peuvent survivre à la pasteurisation, mais non à la stérilisation. **Veisseyre, 1975** rapporte que les streptocoques fécaux résistent à une température de 88°C pendant 10 minutes.

I.6.clostridies sulfitoréducteurs :

Le lait est un vecteur fréquent des bactéries appartenant au genre clostridium.

Nous avons constaté l'absence de ces germes dans tous les échantillons de lait analysés que ce soit cru ou pasteurisé.

Aff et collaborateurs (2008) ont également constaté l'absence de ces germes dans le lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc

Labioui *et al* (2009) ont rapporté que les laits crus de la région de Mnasra au Maroc sont dépourvus de clostridiums.

Aggad *et al* (2009) ont constaté l'absence de clostridies sulfitoréducteurs juste après pasteurisation.

Conclusion

La qualité sanitaire des aliments répond à plusieurs enjeux. D'une part, elle est une condition nécessaire pour assurer la santé des consommateurs, d'autre part, la question de la qualité est essentielle au sein d'une filière, car elle conditionne en grande partie l'évolution économique de celle-ci. Le défi est donc non seulement de garantir la sécurité des aliments, mais aussi d'assurer au secteur un bon développement économique dans le temps.

À la lumière de notre étude, nous avons évalué la qualité sanitaire et hygiénique du lait cru et pasteurisé dans la région de Tiaret. Ainsi, **90** échantillons de lait cru et pasteurisé ont fait l'objet d'une étude microbiologique portant sur **06** flores. Nous avons également étudié la sensibilité de **60** souches de staphylocoque à coagulase positive vis-à-vis de différents antibiotiques .

Cette étude a montré que la qualité sanitaire et hygiénique des laits crus de mélange était globalement au-dessous de la norme, ce qui témoigne le plus souvent de conditions de salubrité et de propreté insuffisantes, voir très mauvaises à l'échelle des étables.

La grande variation de la contamination en microorganismes du lait, quels que soient les types de flores considérés (totales, de contamination fécale, ou pathogène), sont à la base induits par les profils de conditions d'élevage et de traite adoptés dans les étables. Une charge bactérienne importante n'est donc que le résultat de contaminations et multiplications successives associées aux mauvaises conditions hygiéniques et de température lors de la traite à la ferme, ainsi qu'au cours du transport.

Malgré un traitement thermique adéquat appliqué au niveau de l'usine, l'analyse bactériologique a révélé la présence de germes pathogènes et témoins de contamination sur les laits pasteurisés au niveau du Tank de stockage et après conditionnement. Cela est dû à une contamination en post-pasteurisation, ou au cours du conditionnement où les règles d'hygiène n'étaient pas respectées ainsi que lors du stockage chez les commerçants.

Au vu des résultats, il est fort probable qu'en ce qui concerne la laiterie Sidi Khaled, un problème existerait au niveau de la tuyauterie entre le pasteurisateur et le tank de stockage.

La contamination microbienne des surfaces reste un problème d'actualité dans de nombreux secteurs d'industries agroalimentaires. Le nettoyage des surfaces peut s'avérer complexe. Il dépend de plusieurs paramètres liés à la conception des équipements, au produit alimentaire traité et à la nature des contaminations qui régissent notamment le comportement des microorganismes au contact des surfaces.

La recontamination possible d'un lait pasteurisé est encore plus critique dans un produit traité lorsque le nombre de bactéries résiduelles est très bas, en raison principalement d'une compétition moindre offerte par ces dernières, leurs laissant ainsi une grande facilité de développement.

La présence de germes responsables d'intoxication alimentaire tels que *S. aureus* peut devenir un problème de santé publique même pour le lait traité thermiquement par la suite si des mesures ne sont pas prises pour éviter les contaminations.

Il a été démontré que le rôle de *S. aureus* comme un pathogène d'origine alimentaire ne doit pas être négligé.

À travers le test de sensibilité aux antibiotiques, notre étude a montré une prévalence importante de **SARM (13,33 %)**, exprimant une multi résistance qui touche plusieurs molécules allant des β -lactamines, des aminosides (kanamycine), des cyclines et des macrolides. Ces dernières ont pour origine le lait cru de vache.

Les **SASM** ont également présenté une résistance qui s'étend à plusieurs familles.

Cette situation semble être le reflet d'une utilisation irrationnelle d'antibiotiques et l'absence d'une politique nationale bien définie.

La résistance des isolats aux antibiotiques pourrait être transmise à l'homme par la consommation de produits alimentaires contenant ces bactéries multi résistantes.

Recommandations :

L'amélioration de la qualité du lait ne peut se faire que par des mesures d'hygiène adaptées :

- ✚ Pour rendre effective toute action à ce niveau, il faut instaurer une politique de qualité, avec la vulgarisation de bonnes pratiques d'élevage, surtout liée à la propreté des animaux, de leur environnement immédiat et aussi à la salubrité de la traite (du trayeur et de la vaisselle qu'il utilise). Là encore, cela suppose un encadrement zootechnique de tous les acteurs de la filière.
- ✚ Désinfection et nettoyage des citernes de collectes tout en concevant des circuits de collecte de lait courts pour maîtriser la chaîne de froid.
- ✚ Pour assurer l'hygiène des matériaux en contact avec l'aliment (équipements utilisés en industrie laitière), il faut un contrôle et une validation des procédés de nettoyage et désinfection (nature et concentration du détergent, durée de contact, températures, action mécanique).
- ✚ Chaque laiterie doit passer en revue les équipements utilisés pour la pasteurisation afin de déterminer s'ils sont capables de satisfaire en permanence aux exigences de base de la pasteurisation, comme il est recommandé de respecter le barème de pasteurisation fixé par la réglementation.
- ✚ Le personnel des ateliers doit être sensibilisé aux problèmes de contamination à l'intérieur de l'usine, ainsi qu'aux dangers que représente l'introduction sur le lieu de travail d'agents pathogènes provenant de l'extérieur, ou de zones comme la salle des

machines ou de conditionnement. On ignore trop souvent que les vêtements, les bottes et tous les outils facilitent la propagation des microorganismes

- ✚ La prévention des toxi-infections d'origine alimentaire à staphylocoques passe par la mise en place d'un programme d'action contre les mammites bovines, le maintien du lait à température de réfrigération et le strict respect des règles d'hygiène lors des manipulations à la ferme et aux points de vente, afin de limiter le nombre de *S. aureus* présents dans le lait.
- ✚ La forte prévalence des **SARM**, principalement dans le lait cru met en évidence la nécessité d'appliquer des pratiques d'hygiène au niveau de la production.
- ✚ La maîtrise de la dissémination des **SARM** doit passer par l'éducation des personnels en matière d'hygiène, le respect des procédures de lavage des mains, ainsi qu'une politique cohérente d'hygiène. Une maîtrise de la diffusion des souches multirésistantes et de la pression générée par des prescriptions d'antibiotiques non justifiées semble urgente. Ainsi, le contrôle régulier et la révision de toutes les prescriptions d'antibiotiques, sont utiles et constituent un des facteurs qui vont contribuer à l'amélioration de la qualité de la prise en charge des infections chez l'homme et l'animal.
- ✚ Mettre en place un système de surveillance, de contrôle, de traçabilité et d'audit selon les principes du **HACCP** dans l'industrie laitière avec identification des différents dangers qui pourraient générer et par conséquent déranger la santé publique.

En perspective de ce travail, il est nécessaire :

- ✓ D'approfondir le travail en menant des études visant à lier la variabilité de la qualité globale du lait à des facteurs d'élevage déterminants.
- ✓ Analyse des grands groupes de pratiques d'élevage et des conditions de traite au sein des exploitations avec la typologie de profils d'élevage.
- ✓ Étude de l'effet des protocoles de nettoyage et désinfection des équipements des laiteries.
- ✓ Approfondir l'aspect génétique de la résistance aux antimicrobiens tout en explorant les mécanismes intervenant dans la régulation.
- ✓ La détection d'entérotoxines produites par *S. aureus* dans les aliments.

Références bibliographiques

1. Abbanat D, Macielag M, Bush K, 2008. New agents in development for the treatment of bacterial Infections. *Current Opin Pharmac*; 8:582–592.
2. Aboutayeb R, (2009) Technologie du lait et dérivés laitiers en ligne << <http://www.azaquar.com>. >>.
3. Académie des Technologies, Académie d'Agriculture de France AAF. (2004). Rapport : Progrès technologiques au sein des industries alimentaires. Impact sur la qualité des produits. La filière laitière.
4. Adda J., Gripon J. C. et Vassel L. (1982).The chemistry of flavor and texture generation in cheese. *Food chemistry* . pp: 9,115 – 129.
5. Adrian J, 1987 : valeur alimentaire du lait. *La maison rustique*, Paris 85 – 95.
6. Afif A ; Faid M ; Najimi M, 2008 Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology* Vol 7, No 1. pp. 2-7.
7. Agabriel C., Coulon J.B., Brunschwig G., Sibra C. et Nafidi C. (1995). Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. *INRA Prod. Anim* , 8 (4). pp: 251-258.
8. Aggad.H, Mahouz .F, Ahmed Ammar. Y, Kihal.M, 2009. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien *Revue de médecine vétérinaire* 160(12):590-595.
9. Ait. Addelouahab, N. (2001) : Microbiologie alimentaire : Office des publications universitaires. Office des publications universitaires. Edition 1.04.4362 : 147.
10. Alais C. (1975). *Sciences du lait. Principes des techniques laitières*. Edition Sepaic, Paris
11. Alais C, 1984. *Science du lait*. Sepaic, Pairs.
12. Alais C 1965 : *Science du lait- Principes des techniques laitières 2^{ème} edd*. SE PAIC,Paris 129.
13. Allion A.2004. Mise au point d'une technique rapide pour déterminer in situ L'efficacité bactéricide d'agents antimicrobiens. Thèse de Doctorat l'ENSIA.
14. Aneur A., Rahal K. et Bouyoucef A. (2011). Evaluation du nettoyage des tanks de réfrigération dans les fermes laitières de la région de Freha (Algérie). *Revue Nature et Technologie*. N°6. pp :80-84.
15. Amhoury, F., Said B., Hamama, A. and Zahar, M. 1998. Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la région d'Errachidia. *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc)* 18 (1) : 31-35.
16. Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H., (2002) Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In VIGNOLA C.L, *Science et technologie du lait – Transformation du lait*, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).

17. Andelot P, 1983 : Le contrôle laitier, facteur d'amélioration technique. Rev Lait franç. 416 : 15-16.
18. Aouati H, Arafa N, Benlabed K, Boulahrouf A, Bousseboua H, 2010. Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline au centre hospitalo-universitaire ben badis de Constantine- Algérie. Revue Tunisienne d'Infectiologie. Octobre 2010, Vol.4, N°4 : 129 – 133.
19. Arrêté interministériel du 18 Août 1993, relatif aux spécifications et à la présentation des certains laits de consommation. En ligne [http << www.mincommerce.gov.dz/fichiers/pdfqualite/arr180893fr.pdf >>](http://www.mincommerce.gov.dz/fichiers/pdfqualite/arr180893fr.pdf).
20. Asperger H. (1994). - Staphylococcus aureus. In The significance of pathogenic microorganisms in raw milk (G. Hahn, édit.). Monographie, Document n° 9405, Fédération internationale de laiterie, Bruxelles, 24-42.
21. Baazize D, 2005. Qualité hygiénique et sanitaire du lait cru de vache. Mémoire de Magistère en hygiène et qualité du lait, Université Saad Dahleb de Blida (Algérie).
22. Badinand F. (1994). Maîtrise du taux cellulaire du lait. Rec. Méd. Vét., n°170
23. Beldjilali A. F 2015, Contribution à l'étude microbiologique et sanitaire du lait cru de brebis de la région ouest de l'Algérie, thèse de: Doctorat LMD option: Contrôle Microbiologique et Hygiène Alimentaire. Université d'Oran, Algérie.
24. Benchohra M., Fernane H., Tirtouil A., and Benbarek H, 2016. Assessing Compositional and Sanitary Quality of Pasteurized Milk Marketed in Tiaret District, Algeria . Global Veterinaria, 16 (6): 544-549.
25. Benhamed N, 2014 . Evaluation de la qualité microbiologique et sanitaire du lait cru dans la région d'Oran, Algérie : Etude du profil moléculaire virulent des *Staphylococcus aureus* impliquées dans les mammites bovines. Thèse De Doctorat Troisième Cycle (Lmd) en Microbiologie Appliquée Option : Contrôle microbiologique et Hygiène alimentaire- université d'Oran –Algérie-.
26. Benhedane Née Bachtarzi Nadia, 2012 .Qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien thèse de magister en sciences alimentaires, université de Constantine – Algérie-
27. Ben Mahdi MH. et Ouslimani S. (2009). Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. European Journal of Scientific Research vol.36 n°3. pp: 357-362.
28. Bennett A., Cahill S., Lhoste F. et Edge J. (2005). Avantages et risques potentiels du système lactoperoxydase pour la conservation du lait cru. Rapport d'une réunion technique FAO/OMS.68p.
29. Bonfoh B., Wasem A., Traoré A. N., Fané A., Spillmann H., Simbé C. F., Alfaroukh I. O., Nicolet J., Farah Z., Zinsstag J. Microbiological quality of cows' milk taken at different

- intervals from the udder to the selling point in Bamako (Mali) Food Control. 2003;14(7):495–500. doi: 10.1016/S0956-7135(02)00109-3.
- 30.** Bouaziz O. (2005). Contribution à l'étude des infections intramammaires 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.
- 31.** Bouchibi A-M. et Boulame M. (1997). Contribution à l'étude microbiologique du lait cru de trois fermes de la région de Constantine. Mémoire d'ingénieur d'état en industries agro-alimentaires. Institut de la Nutrition de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires. Université de Constantine. pp: 50-74.
- 32.** Boudier J.F. et Luquet F.M. (1978). Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, N°21, édition APRIA, Paris.
- 33.** Boukhatem M. N, Ferhat M. A. , Hadj Mohamed R , Lalaoui N , 2015.prevalence and antibiotic resistance of staphylococci isolated from kolea hospital (algeria) Journal of Fundamental and Applied Sciences, 7(2), 260-270.
- 34.** Bourgeois C-M., (1996). Microbiologie alimentaire. Tome 1. Éditions TEC & DOC, Lavoisier, Paris 1053 p.
- 35.** Bouziani A. (2009). La lettre ALGEX. Lettre bimensuelle n°18.pp :1-2.En ligne << <http://www.algex.dz/content.php?artID=1384&op=51>>>.
- 36.** Bremer P. J., Fillery S., McQuillan A. J. 2006. Laboratory scale clean-in-place (CIP) studies on the effectiveness of different caustic and acid wash steps on the removal of dairy biofilms. Int. J. Food Microbiol. 106: 254–262.
- 37.** Brisabois A., Lafarge V., Brouillard A., de Buyser M.L., Collette C., Garin-Bastuji B et Thorel M.F. (1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 16 (1). pp: 452-471.
- 38.** Brule G, 1987 : Les minéraux. In Cepil (1987). Le lait matière première de l'industrie laitière. Cepil-INRA, Paris. 87-98.
- 39.** Brule G., (2004) Progrès technologiques au sein des industries alimentaires impact sur la qualité des produits–La filière laitière, Rapport commun de l'Académie des technologies et de l'Académie d'Agriculture de France : 8 (24 pages).
- 40.** Bylund G. 1995. Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems. Lund, Sweden, 436 p.
- 41.** Cayot P, Lorient D, 1998. Structures et tecno fonctions des protéines du lait. Tec et Doc. Lavoisier, Paris.

42. Chaalal .W ,2013. Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Mémoire de Magister, Option: Microbiologie Fondamentale et Appliquée. Université d'Oran-Algérie-.
43. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2001 ; 7 : 178-82.
44. Champagne C, Giroux R, Goulet J, 1984. Science et technologie du lait, 2^{ème} édition fondation de technologie laitière.
45. Charron G (1986) .Les productions laitières : les bases de la production vol 01 Technique et documentation, Lavoisier -paris. p45, 52, 139, 144, 157,158 .
46. Charron G. (1986). Les produits laitiers Vol1 les bases de la production. Edition Tec et Doc. 347p.
47. CIPC Lait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011). Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.
48. Claude Michel J., Pouliot M., Richard J. et Vallerand C, (2002) Lait de consommation In VIGNOLA C. L., Science et technologie du lait-transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN:298 (600 pages).
49. Clausen EM., Green BL et Litsky W. (1977). Fecal streptococci: indicators of pollution. Dans: Hoadley, AW et BJ Dutka, édit., Bacterial Indicators/Health hazards associated with water. American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635, pp: 247-264.
50. CNERNA, (1981) Centre National de Coordinations des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation, Lait de consommation-Conférence de presse du 5 novembre 1981, Paris.
51. Contreras. C. P. Á, Silva L. N. N, Ferreira D. C.G, Ferreira J. S, Almeida R. C.C., 2015. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Raw Hamburgers and Ready-to-Eat Sandwiches Commercialized in Supermarkets and Fast Food Outlets in Brazil. *Food and Nutrition Sciences*, 6, 1324-1331.
52. Coulon J-B. et Hoden A. (1991). Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. *INRA Prod. Anim.*, 4 (5).pp: 361-367.
53. Coulon J-B., Chilliard Y. et Remond B. (1991). Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. *INRA Prod. Anim.*, 4 (3).pp: 219-228.
54. Crago B., Ferrato C., Drews S.J., Svenson L.W., Tyrrell G., Louie M., 2012. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in food samples associated with foodborne illness in Alberta, Canada from 2007 to 2010. *Journal of Food Microbiology* 32, 202-205.

55. Crapelet C. et Thibier M. (1973). La vache laitière reproduction Génétique Alimentation Habitat Grandes maladies. Edition Vigot Paris. pp: 114-116.
56. Cremona. (2003). Problèmes de qualité du lait ? – Causes possibles et mesures à prendre. Brochure 1^{ère} édition Paris. 3p.
57. Cuq J.L. (2007). Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.
58. Debry G, (2001) Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21 (566 pages).
59. Denis F., Poly M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R. 2007. Bactériologie médicale: techniques usuelles. Edition Elsevier Masson. pp 27.
60. Dieng M. (2001). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché dakarais. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.
61. El-Anzi O, 2014. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylococcus aureus isolées au centre hospitalier ibn sina de rabat. Thèse de doctorat en médecine. Université mohammed V-suisi – Maroc -
62. El Atyqy M. (2010). Réactions d'altération chimique des aliments. Edition Sciences et techniques des aliments.
63. Elhamzaoui S., Benouda A., Elouennass M., Méd. Malad. Infect. 2009, 39(12), 891-895.7.
64. Falconnet *et al* (1994). La certification des systèmes d'assurance qualité dans l'agro-alimentaire français, in « La qualité des produits alimentaire : politique, incitations, gestion et contrôle » MULTON J.L, tec et Doc, Ed. Lavoisier 2^{ème}, Paris, P 529 – 552.
65. FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.
66. FAO., (2010) Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Lait de consommation .En ligne <<<http://www.horizon.documentation.ird.fr>>>.
67. Fatet P. (2004). Les staphylocoques dans l'industrie laitière. GDS Info 2004/2005 l'action sanitaire ensemble. pp: 34-35.
68. Faye B. et Loiseau G. (2002). Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, Montpellier, France. pp : 11-13.
69. Fox PF *et al* (1987) : Food analysis “factors affecting the quality of dairy products” Chemistry - University College, Departement of dairy and food, republic of Ireland.
70. Franworth E. et Mainville I, (2010). Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe. En ligne <<<http://www.dos.transf.edwa.pdf>>>.

- 71.** Fredot E, (2005) Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14 (397 pages).
- 72.** Fredot E., (2006) Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 pages).
- 73.** Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel P. 2007. Précis de bactériologie clinique 2ème édition ESKA. Paris. 795-840.
- 74.** Gervoson P,(2007) Les laits fermentés-vos aillés pour une meilleure santé, Esco news, pileje-37 quai de Grenelle- 75015,Paris:3 (7pages).
- 75.** Gillis J.C, (2006). Définitions : Qualité – Assurance – Certification, p 853 – 858 in « Le fromage de la science à l’assurance qualité », coordinateurs : Andreeck K, Gillis J.C, Ed. Tec et Doc, Paris, p 891.
- 76.** Gleeson C. et Gray N. (1997). The coliform index and waterborne disease. E & FN Spoon.194p.
- 77.** Gordon B. et Loisel W. (1991). Dosage des protéines. Dans : Multon J.L., Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agronomiques. Vol 4, 2ème édition, Tec& Doc, Lavoisier, Paris.
- 78.** Got R, 1971: Les enzymes du lait. Ann Nutr Alim,25 :A291-A311.
- 79.** Gould IM. The clinical significance of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Hosp Infect 2005 ; 61 : 277-82.
- 80.** Goursaud J, (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet .F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- 81.** Grohs P. Évolution de la sensibilité de Staphylococcus aureus aux antibiotiques : la méticilline est-elle encore un marqueur de multirésistance ? Pathologie Biologie 2009 ; 57 : 1–8.
- 82.** Guinot Thomas P., Ammoury M. & Laurent F., 1995, Effects of storage conditions on the composition of raw milk. Int. Dairy J., 5, 211-223.
- 83.** Guiraud J, (1998). Microbiologie alimentaire, DU NORD, Paris p 121.
- 84.** Guiraud J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DU NORD. Paris. pp: 136-139.
- 85.** Guiraud J. et Galzy P. (1980). L’analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l’usine. 119p.
- 86.** Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.
- 87.** Guy .L, 2000 « la certification ISO9000 un moteur pour la qualité », édition d'organisation.

88. Guy. L, 2006. Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central. Thèse doctorat d'état, université Paul-Sabatier de Toulouse, France. 17p.
89. Hamze .M, Dabboussi. F, Daher .W, Izard .D 2003, Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* au Nord du Liban : place de la résistance à la méticilline et comparaison des méthodes de détection .Pathologie Biologie 51 (2003) 21–26.
90. Harding F., (1995) Milk quality, Blackie academic et professional : 113(166 pages).
91. Hiramatsu K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* : a new model of antibiotic resistance. The Lancet Infectious Diseases 2001, 1: 147-155.
92. Hoden P, et Coulon H , (1991) Composition chimique du lait . En ligne <<<http://www.2.vet.lyon.fr>>>.
93. Hylan et al, 1984. Principals of dairy technology . University Mousse. Iraq.
94. Institut de l'élevage. (2009). Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1^{ère} Edition France Agricole. Produire mieux. pp :55-506.
95. ISO 8402 .En ligne <<http://www.ebanque-pdf.com/fr_norme-iso-8402-documentation.html>>.
96. ISO. 7218. 2003. Microbiologie des aliments : Règles générales pour les examens Microbiologiques. pp 6.
97. ISO. Norme 3100- 2. 1988. Viandes et produits à base de viande. Echantillonnage et préparation des échantillons pour essais (préparation des échantillons pour essai en vue de l'examen microbiologique). pp 5.
98. ISO. 8261. 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.
99. ISO. 6888. 1983. Microbiologie des aliments: Directives générales pour le dénombrement de *Staphylococcus aureus* – Méthode par comptage des colonies.
100. Jakob E, Winkler H. et Haldemann J. (2009). Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. pp :5-31.
101. Jakob E., Winkler H., Schaeren W., Amrein R. et Geinoz M. (2011). La qualité du lait cru un défi permanent. Edition Agroscope Liebfeld-Posieux forum n°78 f.pp :5- 17.
102. Jakob E. et Hänni J-P. (2004). Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebfeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.
103. Jay, J. M. (2000). Taxonomy, role, and significance of microorganisms in food. Dans Modern Food Microbiology, Aspen Publishers, Gaithersburg MD.13p.

- 104.** Jean C, et Dijon C, (1993) .Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.
- 105.** Jean C, (2001). Le lait pasteurisé, Groupe de recherché et d'échanges technologiques, Paris. En ligne << <http://www.gret.org>>>.
- 106.** Jeantet R., Croguennec T, Mahaut M., Schuck P. et Brule G, (2008) . Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: 1-3-13-14-17 (185 pages).
- 107.** Jensen. R, (1995) Handbook of milk composition-General description of milks,Academic Press,Inc:3 (919 pages).
- 108.** Journal Officiel De La Republique Algerienne. (2001). Bulletin officiel n° 4862 du 9 chaoual 1421 (4 janvier 2001), Décret n° 2-00-425 du 10 ramadan 1421 (7 décembre 2000) relatif au contrôle de la Production et de la commercialisation du lait et produits laitiers
- 109.** Juillard, V, Richard, J, Le lait, 1196, P 24 – 26.
- 110.** Kitai S., Shimizu A., Kawano J., Sato E., Nakano C., Uji T., Kitagawa H. 2005. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from retail raw chicken meat in Japan. Journal of Veterinary Medicine 67, 107–110.
- 111.** Kitchen B.J, Taylor G.C, White I.C 1970: Milkenzyme. Their distribution and activity. Dairy Rec.
- 112.** Kuzdzal . S, Mocquot .G, 1960 : Observations sur les qualités organoleptiques du lait. Ann technol. Agric 1,5-52.
- 113.** Kuzdzal S, 1987. La matière grasse - Le lait matière première de l'industrie laitière. INRA.
- 114.** Larpent, J. P. (1997). Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire (TEC&DOC) : 1073.31-1050.
- 115.** Lee, J.H., 2003. Methicillin (oxacillin)-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. Appl. Environ. Microbiol. 69, 6489–6494.
- 116.** Lehir A., (2001). Pharmacie galénique. 8eme edition Masson 2001: 402 p.
- 117.** Le Minor L. et Richard C. (1993). Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur.
- 118.** Lemire G. (2007). Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régie biologique. Edition l'envol lait biologique. Québec. 9p.
- 119.** Lenoir J, 1985 : Les caséines du lait. RLF, 440 : 17-23.
- 120.** Leseur R., et Melik N , (1999) .Lait de consommation In LUQUEE F.M, Lait et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 5 (637 pages).
- 121.** Levesque P. (2004). La traite des vaches laitières Etape par étape vers la qualité Guide pratique. Edition Educagri. Québec.

- 122.** Levry P, (2002). Démarche HACCP et management de la qualité: application en industrie des surgelés. Thèse de doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil, p 117.
- 123.** Leyral G. et Vierling É. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4^{ème} édition Biosciences et techniques. 87p.
- 124.** Leyral G et Joffin JN (1998). Microbiologie technique: 2 'Documentation technique'. 2ème Edition, Bordeaux: CRDP d'Aquitaine,; 299 p.
- 125.** Linden G, 1987. Les enzymes - lait matière première de l'industrie laitière - INRA - Paris.
- 126.** Luquet F. M. (1985). Lait et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.
- 127.** Mahieu H. (1985). Modification du lait après récolte. Dans : Lait et produits laitiers. Vaches, brebis, chèvres. Luquet F.M tome 1. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris
- 128.** Mahouz. F, 2007. Suivi et évaluation de la qualité hygiénique du lait de vache dans la région de TIARET. Mémoire de magistère, Option ; Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale. Université de Tiaret –Algérie -
- 129.** Mastouri M., Nour M., Ben Nejma M., Bouallegue O, et al. 2010. Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. *Pathol. Biol.* 54, 33–36.
- 130.** Mathieu J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris..
- 131.** Mathieu J.,(1999) Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 3-190 (220 pages).
- 132.** Mc Mahon DJ, Brown RJ, 1984 : Composition, structure and integrity of casein micelles : a review of dairy *Sci* 67 :499.
- 133.** Meyer C. et Denis J.P (1999). Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Edition Quae, CTA, presses agronomiques de Gembloux.
- 134.** Mialot. j.p. (1983) , Technique de prélèvement de lait pour examen. *Rec. Méd. Vét* : 1057-1058.
- 135.** Ministère de l'agriculture et du développement rural. (2009). Communication sur le développement de la production laitière.
- 136.** Mittaine. J, (1980) Les laits autres que le lait de vache.en ligne <<[http://whqlibdoc.who.int/monograph/ who mono](http://whqlibdoc.who.int/monograph/who_mono)>>.
- 137.** Morrissay PA. (1995). Lactose : chemical and physicochemical properties. dans : *Developments in dairy chemistry 3.* (FOX PF). Elsevier, London.
- 138.** Normanno G., Corrente M., La S.G., Dambrosio A., Quaglia N.C., Parisi A., Greco G., Bellacicco A.L., Virgilio S., Celano G.V. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus*

aureus (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. International Journal of Food Microbiology 117, 219-222.

139. Norme Algérienne. NA 850, 1997. Méthode de prélèvement aseptique en vue de l'analyse microbiologique.

140. Olivieri VP. (1982). Bacterial indicators of pollution. Dans: Pipes.WO: Bacterial indicators of pollution, edit CRC Press, pp: 21-41.

141. Oliver S.P, Boor K.J., Murphy S.C, and. Murinda S.E, Foodborne pathogens and disease,6 (7) (2009) 793.

142. Peereboom J.W.C 1969, Modern views on the physical structure of the globules in milk and cream. Fette, Seifen Antstrichmittel, 71 (4),414-322.

143. Pesavento G., Ducci B., Comodo N., Lo Nostro. 2007. A Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J. Food Control 18, 196–200.

144. Petransxiene D. et Lapied L. (1981). Qualité bactériologique du lait et produits laitiers. Analyses et tests. Edition Tec.& Doc, Paris.

145. Pfiffner A, (2009). Lait en poudre. En ligne <<<http://www.hls-dhs-dss.ch/textes>>>

146. Pien J, 1975: Physicochimie du lait. Tech lait, 841 : 13-149 844 : 21-23.

147. Pointurier H., (2003) La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France: 64 (388 pages).

148. Pougheon S .et Goursaud J., (2001) Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G., Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).

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

150. Rattray W, Gallman P, Jelen P, 1997. Nutritional, Sersory and physico-chemical characterization of protein standardized UHT milk, lait.

151. Rebiahi S. A ,2012.Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibio résistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat en biologie, option microbiologie. Université de Tlemcen – Algérie-.

152. Reumont P, (2009) Licencié Kinésithérapie.En ligne <<<http://www.medisport.be>>>

153. Rheotest M , (2010) Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK – Produits alimentaires et aromatisants .En ligne <<<http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>>>

154. Robinson R.K. (2002). Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milk products. Third edition. Edition John Wiley and sons, INC. New York.780p.

155. Roudaut H. et Lefrancq E. (2005). Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.

- 156.** Ruoff K. L., Miller S. I., Garner C. V., Ferraro M. J., et Calderwood S. B. (1989). Bacteremia with *Streptococcus bovis* and *Streptococcus salivarius*: clinical correlates of more accurate identification of isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(2). pp: 305-308.
- 157.** Schmidt D.G. 1989. Colloïdal aspects of casein. *Neth, Milk Dairy J*, 34, pp. 42-64.
- 158.** Silait Salon international du lait (2008). Acte du 1er salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger. En ligne <<<http://www.agroligne.com/contenu/silait-2008-1er-salon-international-lait>>>.
- 159.** Speller DC, Johnson AP, James D, Marples RR, Charlett A, George RC. Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid. England and Wales. *Lancet* 1989; 350:323-5.
- 160.** Stoll W. (2003). Vaches laitières: l'alimentation influence la composition du lait. *RAP Agri*. N° 15/2003, vol. 9, Suisse.
- 161.** Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p.
- 162.** Thapon J.L., (2005) Science et technologie du lait, Agrocampus-Rennes, France: 14(77 pages).
- 163.** Toureau V., Bagieu V. et Le Bastard A-M. (2004). Une priorité pour la recherche: la qualité de nos aliments. Les recherches sur la qualité du fromage. INRA mission communication.
- 164.** Varnam A.H. et Sutherland P. (2001). *Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology*. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. pp: 35-37.
- 165.** Veisseyre R. (1975). Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3^{ème} édition. Edition la maison rustique, Paris.
- 166.** Veisseyre R., 1979. Technologie du lait: constitution, récolte, traitement et transformation du lait. Maison Rustique, Paris.714 p.
- 167.** Vierling E, (1998). Aliments et boissons: technologies et aspect réglementaires, Ed WEKA, Suisse, p421.
- 168.** Vierling E., (1999) Aliment et boisson-science des aliments, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine, France:11(270 pages).
- 169.** Vierling E., (2003) Aliment et boisson-Filière et produit, 2^{ème} édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine:11(270 pages).
- 170.** Vignola C.L., (2002)Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).
- 171.** Vignola C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-7.

- 172.** Waes G. (1973). Les streptocoques D dans le lait cru réfrigéré. Le lait international dairy journal 528.pp :520-528.
- 173.** Walstra P, 1999. On the stability of casein micelles. J. dairy Sci.
- 174.** Weber F. (1985). Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47.
- 175.** Whitney R, Brunner J, Ebner K et al, 1976. Nomenclature of the proteins of cow's milk: Fourth revision . J. dairy Sci.
- 176.** Wolter R. (1988). Alimentation de la vache laitière. 3^{ème}.édition. Editions France Agricole. Paris.

Annexes

Annexe 01: Milieux de culture utilisés

Gélose PCA:

La gélose glucosée à l'extrait de levure appelée par les Anglo-Saxons "**Plate Count Agar**" est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières.

Composition:

Pour 1 litre de milieu:

- Tryptone5 g
- Extrait auto lytique de levure2,5 g
- Glucose1 g
- Agar -Agar15 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C: 7,0 +/- 0,2.

500 g de poudre permettent de préparer 21 ,2 litres de milieu.

Gélose VRBL:

La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est un milieu sélectif utilisé pour les recherches et dénombrement des coliformes dans l'eau, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

Composition :

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande 7,0 g
- Extrait autolytique de levure 3,0 g
- Lactose 10,0 g
- Sels biliaires..... 1,5 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Rouge neutre 30,0 mg
- Cristal violet 2,0 mg
- Agar agar bactériologique..... 12,0 g

PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2

500 grammes permettent de préparer 13 litres de milieu.

Gélose Baird Parker :

La **gélose Baird Parker** est le milieu sélectif des *S. aureus*. Milieu utilisé pour la Numération de *Staphylococcus aureus* en microbiologie alimentaire. Isolement des *Staphylococcus aureus*. Il peut être aussi utilisé pour l'identification de *S. aureus* en complément d'autres tests (Thermonucléase et Staphylocoagulase) .

Composition:

Composition pour la préparation d'un Litre de milieu.

- Peptone :.....10,0 g
- Extrait de viande de bœuf :.....4,0 g
- Extrait de levure :.....2,0 g
- Pyruvate de sodium :10,0 g
- Glycocolle.....12,0 g
- Chlorure de lithium :.....5,0 g
- Agar-agar :.....20,0 g

A ajouter en conditions stériles juste avant l'ensemencement (sinon détruit par l'autoclavage) :

- Émulsion de jaune d'œuf (stérile) :50,0 ml
- Tellurite de potassium (stérile):.....0,1 g

PH du milieu = 7,2

Milieu de Rothe :

Le **milieu de Rothe** est un milieu de culture utilisé pour l'enrichissement en *Enterococcus* (microbiologie alimentaire).

Composition:

- peptone 20,0 g
- glucose5,0 g
- azide 0,2 g
- NaCl5,0 g
- hydrogénophosphate de potassium2,7 g
- dihydrogénophosphate de potassium :..... 2,7 g

pH = 6,8

Milieu BEA :

La gélose à la bile, à l'esculine et à l'azide de sodium (BEA) est un milieu sélectif utilisé pour les isollements et dénombrement des entérocoques dans les produits alimentaires, les produits destinés à l'alimentation animale, et les produits pharmaceutiques. Elle est également utilisée pour le dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux.

Composition :

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone17,00 g
- Peptone pepsique de viande3,00 g
- Extrait autolytique de levure.....5,00 g
- Bile de bœuf bactériologique10,00 g
- Chlorure de sodium.....5,00 g
- Esculine1,00 g
- Citrate ferrique ammoniacal0,50 g
- Azide de sodium0,15 g
- Agar agar bactériologique13,00 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2

Gélose viande-foie :

La gélose viande-foie est utilisée pour le dénombrement des spores de Clostridies sulfite-réducteurs dans les eaux, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

Composition :

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone viande-foie30,0 g
- Glucose2,0 g
- Amidon soluble2,0 g
- Sulfite de sodium2,5 g
- Citrate de fer ammoniacal0,5 g
- Agar agar bactériologique11,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2

Gélose chapman :

Le milieu de Chapman est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, **permettant la croissance des germes halophiles**. Parmi ces germes figurent au premier rang les bactéries du genre *Staphylococcus*, mais aussi les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus*, et de rares bactéries à Gram négatif.

Composition :

Composition pour la préparation d'un litre de milieu.

- Peptone :10,0 g
- Extrait de viande de bœuf :1,0 g
- Chlorure de sodium :75,0 g
- Mannitol :10,0 g
- Rouge de phénol :0,025 g
- Agar-Agar :15,0 g
- Eau distillée :qsp 1 Litre

pH = 7,4

Gélose Müller Hinton:

Milieu de base non sélectif pour la culture des bactéries (antibiogramme) .

Composition: en grammes par litre d'eau distillée

- Infusion de viande de bœuf : 300,0 ml
- peptone de caséine :17,5 g
- Amidon de maïs :1,5 g
- agar :17,0 g

pH = 7,4

Bouillon Tryptone-sel :

Le bouillon Tryptone-sel est un diluant destiné à la préparation des suspensions mères de laits en poudre et concentrés, de produits laitiers et d'autres produits alimentaires en vue de leur analyse microbiologique.

Il est également utilisé pour effectuer les dilutions décimales

Composition :

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone1,0 g
- Chlorure de sodium.....8,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2

Bouillon cœur cerveau :

Le bouillon cœur-cerveau, milieu nutritif tamponné, est utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies, incluant levures et moisissures. Il convient aussi pour la mise en évidence de la staphylocoagulase et la DNase.

Composition :

- Infusion de cervelle de veau.....12.5 g
- Infusion de cœur de bœuf..... 5.0 g
- Peptone..... 10.0 g
- Glucose..... 2.0 g
- Chlorure de sodium.....5.0 g
- Phosphatase di sodique.....2.5 g

pH= 7.4

Annexe 02 : table de MACGRADY ; (3 tubes par dilution pour les aliments)

Méthode du nombre le plus probable (NPP) :

Le principe de cette méthode est basé sur l'hypothèse d'une distribution statistique normale des bactéries ou autres microorganismes dans un milieu liquide.

Mac Grady en **1918** a établi des bases mathématiques de l'interprétation des résultats obtenus en ensemençant des séries de tubes de chaque dilution d'une suspension mère.

Ces bases reposent sur le calcul des probabilités et ont conduit l'auteur (**Mac Grady**) à établir ces tables.

Les résultats sont en relation directe avec la fréquence d'apparition d'une série de tubes positifs ; ces tables peuvent être appliquées pour des dilutions à raison de **3** ou **5** tubes par dilution.

CARACTERISTIQUE	NOMBRE DE MICROBE
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4
101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
121	1,5
130	1,6
200	1,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
301	4,0
302	6,0
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,5
320	9,5
321	15,0
222	20,0
323	30
330	25
331	45
332	110,0
333	140,0
221	3,0
222	3,5
223	4,0
230	3,0
231	3,5
232	4,5

Exemple d'interprétation de la technique du nombre le plus probable (NPP):

Si sur le milieu de Rothe :

- ✓ à la dilution **1/10** : **2** tubes sur **3** sont positifs
- ✓ à la dilution **1/100** : **2** tubes sur **3** sont positifs
- ✓ à la dilution **1/1000** : **1** tube sur **3** est positif

05 sont positifs On aura donc à repiquer **5** tubes sur milieu **BEA**.

- ❖ Si sur les **2** tubes de la dilution **1/10** : **1** est positif
- ❖ Si sur les **2** tubes de la dilution **1/100** : aucun n'est positif
- ❖ Si sur le tube repiqué de la dilution **1/1000**: **1** est positif
- ❖ Le nombre caractéristique est de « **101** » ce qui est correspondant à **0,7** sur la table de **Mac Grady**.
- ✓ Il y a donc **0,7** streptocque fécaux (D) a la dilution de départ **1/10**.
- ✓ Mais pour revenir à 1, il faut multiplier le nombre (**0,7**) à l'inverse de la première dilution : **0,7x10 = 7**

Ce qui donne **7** streptocques fécaux par **g**, ou par **ml** de produit à analyser

Tableau récapitulatif:

Dilution	Test de préemption Rothe	Test de confirmation BEA	
1/10	+	+	1
	+	-	
1/100	+	-	0
	+	-	
1/1000	+	+	1
			101

Annexe N 03 : Journal Officiel De La République Algérienne N° 35 (Annexe 01)

ANNEXE I
CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES
TABLEAU I
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS

PRODUITS	n	c	m
1. Lait cru :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	10 ⁵
— coliformes fécaux	1	—	10 ³
— streptocoques fécaux	1	—	abs/0,1ml
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	1	—	50
— antibiotiques	1	—	absence
2. Lait pasteurisé conditionné :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	3.10 ⁴
— coliformes :			
* sortie usine	1	—	1
* à la vente	1	—	10
— coliformes fécaux			
* sortie usine	1	—	absence
* à la vente	1	—	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	1
— phosphatase	1	—	négatif
3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	< 10/0,1 ml
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	négatif
— test chaleur	5	0	négatif
4. Lait concentré non sucré :			
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	negatif
— test chaleur	5	0	négatif
5. Lait concentré sucré :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	10 ⁴
— coliformes	5	0	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	0	absence
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
6. Lait déshydraté conditionné (1) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 ⁴
— coliformes	5	2	5
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	2	50
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
— antibiotiques	1	0	absence

Annexe N°04: Table de lecture 23: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Staphylococcus spp. (En médecine vétérinaire):

Antibiotiques testés	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10UI	≤28	-	≥29	≥0,25	-	≤0,12	
Pénicilline+Novobiocine	10UI/30 µg	≤14	15-17	≥18	≥4/8	2/4	≤1/2	Traitement des mammites pendant la lactation
Amoxicilline+Acide clavulanique*	20/10 µg	≤19	-	≥20	≥8/4	-	≤4/2	
Oxacilline <i>S.aureus</i> S.C.N	1 µg 1 µg	≤10 ≤17	11-12 -	≥13 ≥18	≥4 ≥0,5	- -	≤2 ≤0,25	Tester le disque de céfoxitine à 30 µg pour détecter la résistance à la meticilline des <i>S.aureus</i> et S.C.N La résistance à la céfoxitine (et à l'oxacilline) signifie la résistance à toutes les β-lactamines N/B : **** recommandation pour la mise en évidence de la résistance à la meticilline
Céfoxitine*** <i>S.aureus</i> <i>S. lugdunensis</i>	30 µg	≤21	-	≥22	≥8	-	≤4	
Erythromycine	15 µg	≤13	14-22	≥23	≥8	1-4	≤0,5	
Néomycine/ Kanamycine	30 µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16	La réponse pour la néomycine est valable pour la kanamycine
Gentamicine**	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4	
Enrofloxacin	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5	
Sulfisoxazole	250 ou 300 µg	≤12	13-16	≥17	≥512	-	≤256	La réponse pour le sulfisoxazole est valable pour les sulfonamides
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38	-Valable pour Triméthoprime/ Sulfadiazine -La valeur ≤2/38 peut être utilisée pour les isolats des infections du tractus urinaire.
Tétracyclines	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Valables pour chlortétracyclines, oxytétracyclines et doxycyclines.
Vancomycine**	30 µg	-	-	≥15	≥16	4 - 8	≤2	La détection de la résistance à la vancomycine exige une incubation de 24h.
Bacitracine	130 µg	<15	-	≥15	≥2	-	<2	
Clindamycine	2 µg	<14	15-20	≥21	≥4	1-2	≤0,5	La réponse pour la Clindamycine est valable pour la lincomycine. La clindamycine est plus active sur la plupart des souches de Staphylococcus

Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved standard –Third Edition M31-A3 .Vol.28 N°8.. February 2008.

Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Informational Supplement, NCCLS document M31-S1 .Vol.24 N°17.May 2004.

Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals;Approved Standard-Second Edition, NCCLS document M31-A2 .Vol.22 N°06 May 2002.

*Antibiotique testé seulement pour la recherche des β-lactamases

*** Antibiotique testé seulement pour la recherche de la meticilline

** Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiologie

**** Pour la mettre en évidence de la résistance à la meticilline, le CLSI recommande dans son communiqué De février 2008 de dépister cette résistance à l'aide d'un disque de céfoxitine 30 µg (FOX)

Table de lecture 24 : Valeurs critiques de la céfoxitine pour la détection des souches de souches de *Staphylococcus spp.* et *aureus* **meticillino résistantes**^a (En médecine vétérinaire):

Antibiotiques testés	Organismes	Diamètres critiques (mm)		Commentaires
		R	S	
Cefoxitine (30µg)	<i>S.aureus</i> and <i>S.lugdunensis</i>	≤21	≥22	<ul style="list-style-type: none"> - Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≤ 21 mm, la souche de <i>S.aureus</i> est résistante à l'oxacilline - Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≥22 mm, la souche de <i>S.aureus</i> est sensible à l'oxacilline
	S.C.N sauf <i>S.lugdunensis</i>	≤24	≥25	<ul style="list-style-type: none"> - Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≤ 24 mm, la souche de S.C.N est résistante à l'oxacilline - Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≥25 mm, la souche de S.C.N est résistante à l'oxacilline

^a : L'incubation se fait pendant 18h pour le *S.aureus* et 24h pour le S.C.N.

Pour les S.C.N, dont le diamètre est ≤24, la lecture doit se faire après 18 h d'incubation

Familles d'antibiotiques utilisés :

β-LACTAMINES:	
Ampicilline	AMP
Amoxicilline+Ac.clavulanique	AMC
Céfoxitine	FOX
AMINOSIDES:	
Gentamicine	GEN
Kanamycine	KAN
CYCLINES:	
Tétracycline	TCY
MACROLIDES:	
Erythromycine	ERY

Annexe N ° 05 : résultats des antibiogrammes.**01/ SARM :**

N °	TE	KA	AMC	GE	FOX	E	AM
S01	24(S)	13(R)	16 (R)	26 (S)	19 (R)	24 (S)	23 (R)
S02	14(R)	25 (S)	14 (R)	22 (S)	21 (R)	26 (S)	20 (R)
S03	06 (R)	24 (S)	17 (R)	24 (S)	06 (R)	22 (I)	11 (R)
S04	08 (R)	27 (S)	15 (R)	28 (S)	19 (R)	06 (R)	12 (R)
S05	06 (R)	30 (S)	13 (R)	30 (S)	15 (R)	06 (R)	16 (R)
S06	06 (R)	13 (R)	14 (R)	21 (S)	12 (R)	06 (R)	12 (R)
S07	06 (R)	30 (S)	17 (R)	16 (S)	20 (R)	06 (R)	28 (R)
S08	10 (R)	26 (S)	12 (R)	27 (S)	20 (R)	06 (R)	22 (R)

02/ SASM :

N °	TE	KA	AMC	GE	FOX	E	AM
S01	12 (R)	24 (S)	24 (S)	34 (S)	24 (S)	13 (R)	10 (R)
S02	21(S)	19 (S)	28 (S)	28 (S)	26 (S)	28 (S)	27 (R)
S03	19(S)	22 (S)	36 (S)	30 (S)	24 (S)	26 (S)	25 (R)
S04	10(R)	24 (S)	24 (S)	24 (S)	24 (S)	18 (I)	33 (S)
S05	20(S)	31 (S)	28 (S)	34 (S)	22 (S)	30 (S)	12 (R)
S06	17(I)	26 (S)	22 (S)	40 (S)	23 (S)	12 (R)	25 (R)
S07	30(S)	22 (S)	23(S)	29 (S)	25 (S)	23 (S)	14 (R)
S08	25(S)	23(S)	26 (S)	19 (S)	22 (S)	28 (S)	19 (R)
S09	06 (R)	26 (S)	16 (R)	26 (S)	26 (S)	22 (I)	14 (R)
S10	23 (S)	18 (S)	28 (S)	18 (S)	29 (S)	24 (S)	27 (R)
S11	34 (S)	26 (S)	24 (S)	40 (S)	26 (S)	30 (S)	20 (R)
S12	21 (S)	23 (S)	22 (S)	19 (S)	23 (S)	24 (S)	10 (R)
S13	22 (S)	40 (S)	21 (S)	28 (S)	22 (S)	26 (S)	16 (R)
S14	19 (S)	28 (S)	23 (S)	32 (S)	26 (S)	28 (S)	28 (R)
S15	20 (S)	22 (S)	24 (S)	24 (S)	22 (S)	23 (S)	29 (S)
S16	32 (S)	23 (S)	26 (S)	37 (S)	27 (S)	23 (S)	12 (R)
S17	10 (R)	39 (S)	24 (S)	30 (S)	22 (S)	06 (R)	27 (R)
S18	19 (S)	31 (S)	30 (S)	21 (S)	24 (S)	26 (S)	10 (R)
S19	21 (S)	39 (S)	21 (S)	20 (S)	29 (S)	10 (R)	24 (R)
S20	30 (S)	38 (S)	27 (S)	38 (S)	29 (S)	24 (S)	11 (R)
S21	16 (I)	22 (S)	26 (S)	21 (S)	26 (S)	06 (R)	19 (R)
S22	34 (S)	36 (S)	40 (S)	32 (S)	23 (S)	30 (S)	27 (R)
S23	28 (S)	36 (S)	22 (S)	38 (S)	30 (S)	29 (S)	29 (S)
S24	20 (S)	21 (S)	29 (S)	22 (S)	22 (S)	24 (S)	12 (R)
S25	20 (S)	24 (S)	24 (S)	24 (S)	28 (S)	23 (S)	28 (R)
S26	20 (S)	37 (S)	28 (S)	41 (S)	24 (S)	10 (R)	19 (R)
S27	36 (S)	30 (S)	30 (S)	40 (S)	26 (S)	30 (S)	26 (R)
S28	24 (S)	30 (S)	39 (S)	40 (S)	24 (S)	25 (S)	36 (S)
S29	19 (S)	30 (S)	28 (S)	23 (S)	24 (S)	14 (I)	19 (R)
S30	32 (S)	38 (S)	30 (S)	26 (S)	22 (S)	28 (S)	24 (R)
S31	24 (S)	28 (S)	18 (R)	28 (S)	23 (S)	26 (S)	21 (R)

S32	09 (R)	24 (S)	12 (R)	24 (S)	28 (S)	25 (S)	24 (R)
S33	06 (R)	24 (S)	21 (S)	30 (S)	28 (S)	06 (R)	22 (R)
S34	29 (S)	23 (S)	22 (S)	37 (S)	23 (S)	30 (S)	32 (S)
S35	20 (S)	22 (S)	24 (S)	18 (S)	23 (S)	26 (S)	16 (R)
S36	10 (R)	30 (S)	32 (S)	30 (S)	30 (S)	24 (S)	12 (R)
S37	16 (I)	32 (S)	22 (S)	23 (S)	30 (S)	27 (S)	28 (R)
S38	14 (R)	06 (R)	30 (S)	32 (S)	26 (S)	06 (R)	26 (R)
S39	34 (S)	30 (S)	20 (S)	32 (S)	26 (S)	23 (S)	31 (S)
S40	06 (R)	10 (R)	20 (S)	20 (S)	24 (S)	06 (R)	12 (R)
S41	12 (R)	40 (S)	30 (S)	30 (S)	30 (S)	06 (R)	24 (R)
S42	10 (R)	28 (S)	36 (S)	30 (S)	23 (S)	06 (R)	30 (S)
S43	06 (R)	22 (S)	30 (S)	24 (S)	30 (S)	06 (R)	14 (R)
S44	14 (R)	34 (S)	28 (S)	36 (S)	24 (S)	06 (R)	24 (R)
S45	10 (R)	40 (S)	20 (S)	30 (S)	22 (S)	06 (R)	26 (R)
S46	10 (R)	14 (I)	25 (S)	38 (S)	24 (S)	12 (R)	11 (R)
S47	06 (R)	18 (S)	23 (S)	24 (S)	30 (S)	22 (I)	26 (R)
S48	34 (S)	30 (S)	25 (S)	30 (S)	29 (S)	28 (S)	14 (R)
S49	22 (S)	32 (S)	24 (S)	23 (S)	23 (S)	26 (S)	28 (R)
S50	10 (R)	30 (S)	26 (S)	26 (S)	28 (S)	06 (R)	26 (R)
S51	23 (S)	22 (S)	23 (S)	27 (S)	27 (S)	24 (S)	10 (R)
S52	10 (R)	20 (S)	30 (S)	28 (S)	22 (S)	06 (R)	14 (R)

Annexe N ° 06 :

Résultats des analyses bactériologiques :

A-lait cru de mélange :

Echantillon	FMAT	Coliformes fécaux	<i>S. aureus</i>	S. fécaux	Anaérobies SR	Interprétation
<u>1</u>	360000	0	15000	20	0	NS
<u>2</u>	290000	4000	11000	7	0	NS
<u>3</u>	320000	3500	14000	40	0	NS
<u>4</u>	340000	1300	8600	7	0	NS
<u>5</u>	130000	0	7000	40	0	NS
<u>6</u>	340000	400	14000	250	0	NS
<u>7</u>	300000	500	12000	1100	0	NS
<u>8</u>	180000	1100	5500	1400	0	NS
<u>9</u>	120000	400	12000	1100	0	NS
<u>10</u>	200000	6400	6000	19	0	NS
<u>11</u>	440000	7000	6900	45	0	NS
<u>12</u>	360000	7200	6300	115	0	NS
<u>13</u>	2600000	0	2800	40	0	NS
<u>14</u>	4000000	1300	13000	450	0	NS
<u>15</u>	3400000	6100	11000	25	0	NS
<u>16</u>	3000000	0	9800	40	0	NS
<u>17</u>	400000	2300	4900	25	0	NS
<u>18</u>	3100000	1100	13000	30	0	NS
<u>19</u>	1500000	0	7400	11	0	NS
<u>20</u>	2300000	5500	5000	20	0	NS
<u>21</u>	3700000	11000	17000	9	0	NS
<u>22</u>	2900000	5600	19000	30	0	NS
<u>23</u>	250000	10000	8000	7	0	NS
<u>24</u>	2300000	1600	4000	15	0	NS
<u>25</u>	2900000	4500	5600	11	0	NS
<u>26</u>	3700000	10000	3300	9	0	NS
<u>27</u>	2800000	11000	7200	25	0	NS
<u>28</u>	290000	10000	3600	4	0	NS

B. Lait cru individuel :

Echantillon	FMAT	Coliformes fécaux	<i>S. aureus</i>	S. fécaux	Anaérobies SR	Interprétation
<u>01</u>	5000	0	0	0	0	S
<u>02</u>	1200	0	3200	0	0	NS
<u>03</u>	6000	0	4300	7	0	NS
<u>04</u>	4200	0	18000	0	0	NS
<u>05</u>	2700	0	0	0	0	S
<u>06</u>	1000	0	0	7	0	NS
<u>07</u>	1000	0	4200	0	0	NS
<u>08</u>	3700	0	0	0	0	S
<u>09</u>	2400	0	0	0	0	S
<u>10</u>	3100	0	0	4	0	NS
<u>11</u>	2400	0	0	7	0	NS
<u>12</u>	2500	0	0	9	0	NS
<u>13</u>	2000	0	0	0	0	S
<u>14</u>	3600	0	3000	15	0	NS
<u>15</u>	1500	0	0	4	0	NS
<u>16</u>	3800	0	0	0	0	S
<u>17</u>	1200	0	20000	0	0	NS
<u>18</u>	6700	0	3200	4	0	NS
<u>19</u>	1500	0	3800	9	0	NS
<u>20</u>	1200	0	0	0	0	S

C. Lait pasteurisé prélevé à partir du pasteurisateur :

Echantillon	FMAT	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	<i>S. aureus</i>	S. fécaux	Anaérobies S.R	Interprétation
1 (du pasteurisateur)	1200	0	0	0	0	0	S
2 (du pasteurisateur)	1100	0	0	0	0	0	S
3 (du pasteurisateur)	1300	0	0	0	0	0	S
4 (du pasteurisateur)	1100	0	0	0	0	0	S

D. Lait pasteurisé prélevé à partir du Tank de stockage :

Echantillon	FMAT	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	<i>S. aureus</i>	S. fécaux	Anaérobies S.R	Interprétation
1 (du tank de stockage)	10000	0	0	8400	0	0	NS
2 (du tank de stockage)	2400	0	0	4400	0	0	NS
3 (du tank de stockage)	320000	110	0	8000	0	0	NS
4 (du tank de stockage)	37000	15000	0	8300	0	0	NS

E. Lait pasteurisé conditionné :

Echantillon	FMAT	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	<i>S. aureus</i>	S. fécaux	Anaérobies S.R	Interprétation
1(PC)	41000	270	0	5000	0	0	NS
2(PC)	36000	240	0	3500	0	0	NS
3(PC)	37000	350	0	3100	0	0	NS
4(PC)	43000	300	0	2900	0	0	NS
5(PC)	28000	160	0	3900	0	0	NS
6(PC)	22000	180	0	4100	0	0	NS
7(PC)	37000	550	0	4000	0	0	NS
8(PC)	44000	750	620	17000	0	0	NS
9(PC)	27000	24000	500	18000	0	0	NS
10(PC)	40000	15000	440	5900	0	0	NS
11(PC)	37000	28000	510	7100	0	0	NS
12(PC)	43000	22000	0	5400	0	0	NS
13(PC)	40000	21000	500	0	0	0	NS
14(PC)	36000	9700	510	4400	0	0	NS
15(PC)	42000	11000	620	6500	0	0	NS
16(PC)	32000	21000	700	4200	0	0	NS
17(PC)	37000	16000	620	4800	0	0	NS
18(PC)	33000	30000	0	0	0	0	NS
19(PC)	26000	30000	0	0	0	0	NS
20(PC)	27000	21000	500	0	0	0	NS
21(PC)	29000	20000	0	0	0	0	NS
22(PC)	33000	17000	0	0	0	0	NS
23(PC)	38000	15000	510	0	0	0	NS

24(PC)	34000	20000	0	0	0	0	NS
25(PC)	37000	26000	0	15000	0	0	NS
26(PC)	39000	32000	500	9000	0	0	NS
27(PC)	35000	25000	510	8500	0	0	NS
28(PC)	38000	27000	300	10000	0	0	NS
29(PC)	38000	29000	500	8000	0	0	NS
30(PC)	32000	25000	510	10000	0	0	NS
31(PC)	34000	21000	400	3500	0	0	NS
32(PC)	41000	0	500	4000	0	0	NS
33(PC)	42000	0	0	0	0	0	NS
34(PC)	48000	0	0	0	0	0	NS

S : satisfaisante.

NS : non satisfaisante