



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie
Département de la biologie
Sciences biologique

Référence / 2021

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :
RAHIM Sara et BENNECIB Lakhdar

Le: Dimanche 04/07/2021

La qualité bactériologique de lait cru de la vache

Jury:

Mr.	TITAOUINE Mohamed	MCA	Université de Biskra	Rapporteur
Mme.	BEBBA Nadjat	MCB	Université de Biskra	Président
Mr.	BENBELAID Fathi	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020/2021

Remerciement

Nous remercions Allah tout puissant de nous avoir données le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à monsieur TITAOUINE Mohammed, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, et la confiance qu'il nous a accordées nous ont permis de réaliser ce travail.

Et nous tenons à le remercier également pour ses conseils, sa patience et sa disponibilité tout au long de ce mémoire.

Nous tenons aussi à remercier les membres de jury qui vont évaluer notre modeste travail.

Dédicace

A l'aide de mon dieu ALLAH j'ai pu réaliser ce travail que je dédie à :

Mon père Ahmed Rahim et ma mère Omelkhair pour leur soutien, encouragement et leur croyance en moi durant tout mon parcours je les remercie de tout mon cœur pour leur présence et surtout de m'avoir toujours poussé vers le succès.

Je remercie beaucoup ma mère pour ses prières pour moi

Je dédie ce travail aussi à mes chères sœurs Latifa, Nour Elhouda.

Et à mes frères Yousef, Omar, Abdelkarim

Et mes amis Chaima, Ziad et Chaima

À la fin à toutes les enseignants m'ayant consacré un moment

Pour m'aider, me conseiller, m'encourager.

Rahim Sara

Dédicace

Je dédie ce travail.

Je remercie tout d'abord, Allah, le tout-puissant et clément de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

*Avant tout à la lumière de mes yeux ; ma mère "Zineb" et à mon père "Ahmed" ; pour votre affection m'a toujours été d'un grand soutien.
Puisse Dieu vous accordez santé et longévité.

· Ma femme Nadia et mes deux anges Jad et Sajed que dieu les garde en bon santé et longue vie pleine de joie et de bonheur

* À mes frères : Mouloud, Sabrina, Soumia, Souhila, Farah,

Et bien sûr à Aymen, Yacine, Rim, Mohamed

* À tous mes amis.

A toutes la promotion Master 2 microbiologie appliquée 2020/2021.

BENNECIB LAKHDAR

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux.....I

Liste des abréviations..... II

Introduction générale.....1

Première partie : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Généralités sur le lait de vache

1. Le lait.....3

1.1. Définition du lait.....3

1.2. Composition du lait.....3

1.2.1. Les principaux nutriments du lait.....4

2.1. Caractéristiques du lait cru de vache5

2.1.1. Caractéristiques physico-chimiques5

2.1.2. Caractéristiques Organoleptiques.....6

3. Consommation du lait en Algérie6

Chapitre 2 : La qualité microbiologique de lait cru de vache

4.1. Microbiologie du lait cru7

4.1.1. Flore originelle7

4.1.2. Flore de contamination8

4.1.3. Flore mésophile aérobie totale8

4.1.4. Les bactéries de contamination fécale	8
4.1.4.1. Les coliformes	9
4.1.4.2. Streptocoques fécaux	9
4.1.4.3. <i>Staphylocoques</i>	9
5. Les critères de la qualité du lait cru de vache	10

Deuxième partie : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3. MATERIELETMETHODES

6.1. But du travail	11
6.2. Matériel et methods.....	11
6.2.1. Matériels	11
6.2.1.1. Instruments et réactifs utilisés	11
6.2.1.2. Réactifs et milieux	11
6.3. Echantillonnage	12
6.4. Méthodes microbiologiques.....	13
6.4.1 Préparation de l'échantillonnage	13
6.4.2. Préparation des dilutions decimals.....	13
6.5. Modes de dénombrement de la Flore mésophile aérobie totale	14
6.6. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	14
6.7. Recherche des Salmonella, <i>Listeria monocytogenes</i>	15
6.8. Recherche des Les coliformes	15
6.9. Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	15
6.10. Recherche des streptocoques fécaux	15
6.11. Dénombrement des <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	16

Chapitre 4 .Résultats et discussions

7. Résultats	17
7.1. Résultats de dénombrement des différents germes du lait cru dans les différentes régions d'Algérie	17
7.2. Résultats de dénombrement des différents germes du lait cru dans les différentes régions hors d'Algérie.....	18
8. Discussions	21
8.1. Discussion de résultats de la Flore mésophile aérobie totale	21
8.2. Discussion de résultats de <i>staphylocoque aureus</i>	21
8.3. Discussion de résultats des coliformes	22
8.3.1. coliformes totaux	22
8.3.2. coliformes fécaux.....	23
8.4. Discussion de résultats des streptocoques fécaux.....	23
8.5. Discussion de résultats des <i>Clostridium sulfito-réducteur</i>	23
8.6. Discussion de résultats des <i>Salmonella</i>	24
8.7. Discussion de résultats de <i>E.coli</i>	24
Conclusion.....	25
Bibliographie.....	27
Annexes	
Résumés	

Liste des tableaux

Tableau 1.Composition du lait de vache.....	4
Tableau 2.Propriétés des principaux nutriments du lait.....	5
Tableau 3.Flore originelle du lait cru.	7
Tableau 4.Les seilles des principaux germes pathogènes du lait cru mis en vente.....	10
Tableau 5. Résultats d’analyses microbiennes dans déférents régions d’Algérie.....	17
Tableau 6. Résultats d’analyses microbiennes dans déférents régions hors d’Algérie.....	19

Liste des abréviations

pH : potentiel hydrogène

FTAM : Flore mésophile aérobie totale

D° : Degré Dornic

P₂O₃ : Trioxyde de Phosphore

NaCl : Chlorure de Sodium

Na : Sodium

ATP : Adénosine-Triphosphate

NADP:Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

FAD:Flavine Adénine Dinucléotide

FMN:Flavine Mononucléotide

Vit. A : vitamine A

Vit. B : vitamine B

Leu :Leucine

Lys: Lysine

Met: Méthionine

Thr: Thréonine

Trp: Tryptophane

Phe :Phénylalanine

Val : Valine

E.coli : *Escherichia coli*

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

E. faecium : *Entérocoques faecium*

+:Positif

-:Négatif

EMB : Gélose Eosine Bleu de Méthylène

NPP : Nombre le Plus Probable

iMViC: Indole, rouge de Méthyle, Voges Proskauer et Citrate

PCA: Plate Count Agar

TSC: gélose Tryptone Sulfite Cyclosérine

CF: coliformes fécaux

CT: coliforme totaux

Ente: entérocoques

Staph: **Staphylocoques**

CSR: *Clostridium sulfito-réducteurs*

BLBVB: Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant

TSN: Trypticase Sulfite Néomycine

BP: Baird Parker

S-S: Milieu Salmonella-Shigella

VRBL: Agar Bile Lactose Rouge Violet

TSI : Trois Sucres Fer

DCL: gélose lactosée et citratée au désoxycolate

BEA: Milieu de Bile Esculine Azide

OGA: Gélose d'Oxytétracycline

TSE: Tryptone Sel Eau

EPT: Eau Peptonée Tamponnée

SF: *streptocoques fécaux*

VF: gélose viande foie

Introduction générale

Introduction générale

Le lait est un aliment de haute valeur nutritionnelle, très riche en protéines, lipides, glucides et surtout par un bon apport en oligo-éléments tel que le calcium. Traditionnellement, le lait de vache est considéré comme un aliment de base dans de nombreux régimes alimentaires. C'est une boisson saine puisque sa consommation est associée à une alimentation de qualité. Il fournit une matrice facilement accessible, riche en une grande variété de nutriments essentiels : des minéraux, des vitamines et des protéines faciles à digérer. Il est par conséquent essentiel à l'ensemble des fonctions du corps (Steijns, 2008).

En revanche, le lait représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de la neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (Huyghebaert, 2006).

En outre, lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait cru contient peu de germes (103 germes par ml) appelés saprophytes, comme les Streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et les Lactobacilles. Or, durant la traite et le stockage, le lait peut se contaminer par une flore variée constituée essentiellement de bactéries lactiques appartenant aux genres suivants : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostocs* et *Lactobacillus* (Bekhouche et Boulahrouf, 2005).

La consommation du lait contaminé peut engendrer un certain nombre de symptômes comme les diarrhées et les vomissements suite à une toxi-infection ou une maladie infectieuse. (Cohen et Barkia ,2011) *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et *Clostridium Perfringens* sont les plus fréquents.

Par conséquent, le risque d'altération possible de lait par différents germes ou bactéries pathogènes nécessite un suivi hygiénique et microbiologique rigoureux dès la traite jusqu'à la réception au niveau de la laiterie.

Toutefois, l'Algérie se classe comme le premier consommateur du lait au Maghreb et le deuxième importateur dans le monde après la chine (Mansor, 2015). Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens. Il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale (Senoussi, 2008).

Le but de ce présent travail est de comparer les résultats des quelque études qui ont été menées sur la qualité microbiologique des laits cru et évalué la qualité bactériologique des laits crus qui ont été déduits dans certaines études. La recherche concerne la flore aérobie mésophile totale, les coliformes fécaux et totaux, ainsi que les germes pathogènes : *Staphylococcus aureus* ...

Notre travail est scindé en deux parties: Une étude bibliographique présentée en deux chapitres, dans le premier chapitre intitulé généralités sur le lait de vache où on développer les compositions du lait, ses propriétés nutritionnelle, les Caractéristiques physico-chimiques, ainsi que les propriétés organoleptiques du lait de vache, le second chapitre est focalisé sur la qualité microbiologique de lait cru. Tandis que la deuxième partie de notre mémoire ; la partie expérimentale qui a été consacrée aux matériel et méthodes puis résultats et discussions et nous terminerons par une conclusion générale.

Première partie :
Synthèse bibliographie

Chapitre 1

Généralités sur le lait de vache

1. Le lait :

1.1. Définition du lait :

Selon le congrès international pour la répression des fraudes alimentaires, tenu à Genève en 1908, le lait est le produit intégral de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière, bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum. (Veisseyre, 1975)

Le lait est le produit le plus proche du concept « aliment complet » au sens physiologique du terme car il renferme la quasi-totalité des nutriments indispensables à l'homme.

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, 2012).

C'est un aliment nutritif pour les êtres humains, indispensable pour le nouveau-né. Comme il s'avère très bénéfique pour l'adulte, il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux microorganismes, en particulier les bactéries pathogènes. (Chye et al., 2004)

1.2. Composition du lait:

Le lait apparaît comme un aliment riche en calcium et en phosphore, en lactose, en matières grasses et en protéines.

Le lait de vache est un lait relativement pauvre en matière grasse, moyennement riche en lactose et en protéines et assez riche en calcium et en phosphore.(Tableau1) (Leymarios, 2010)

Tableau 1.Composition du lait de vache (Alais et *al.*, 2008)

	Composition g/l	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) + eau liée (3,7%)
Glucides (lactose)	49	Solution
Lipides	35	Emulsion des globules gras (3 à 5µm)
- Matière grasse	34	
- Lécithine (phospholipides)	0.5	
- Insaponifiable (stéroïdes, carotènes, tocophérol)	0.5	
Protides	34	Suspension micellaire de phosphocaséinate de calcium (0.08-0.12µm) Solution (colloïdale) Solution vraie
- Caséine	27	
- Protéines solubles (globulines, albumines)	2.5	
- Substances azotées non protéiques	1.5	
Sels	9	Solution ou état colloïdale
- Acide citrique	2	
- Acide phosphorique (P ₂ O ₃)	2.6	
- Chlorure de Sodium (NaCl)	1.7	
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Trace	
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

1.2.1. Les principaux nutriments du lait :

Le lait cru contient des nutriments essentiels importants pour la valeur nutritionnelle tels que le calcium, les protéines et les vitamines.

Tableau.2. Propriétés des principaux nutriments du lait (Kabir, 2015).

Nutriment	Fonctions	Intérêt sanitaire
<u>Minéraux</u> Calcium	Formation de l'os, Contraction musculaire, Coagulation du sang, Régulation d'enzymes.	Prévention d'ostéoporose et de fractures de l'hypertension artérielle et du cancer du côlon.
Phosphore	Métabolisme énergétique (ATP). Coenzyme NADP. Phospholipides des membranes	Développement et maintien de la masse osseuse.
Magnésium	Cofacteur dans plus de 300 réactions métaboliques. Transmission de l'influx nerveux.	Prévention de troubles du système nerveux: convulsions, hallucinations.
Potassium	Contrôle de la contraction musculaire. Équilibre des échanges cellulaires (avec Na).	Maintien de la force musculaire. Prévention de l'hypertension artérielle.
Zinc	Constituant de l'insuline et de plus de 200 enzymes engagés dans la croissance et l'immunité.	Croissance, puberté. Défense contre les infections.
<u>Vitamines</u> Riboflavine	Coenzymes FAD et FMN du métabolisme énergétique.	Protection des muqueuses et de la peau. Vision normale.
Vit. B12	Cofacteur dans la synthèse des acides nucléiques (avec folate).	Prévention de l'anémie pernicieuse
Biotine	Cofacteur de réaction carboxylation-décarboxylation.	Activité cardiaque et appétit normaux
Pantothénate	Coenzyme A du métabolisme La synthèse des constituants lipidiques.	Prévention de l'insomnie et de la fatigue.
Niacine	Coenzyme NAD et des synthèses des acides gras.	Prévention contre la pellagre (dermatite, démence, diarrhée)
Vit. A	Constituant d'un pigment visuel de la rétine. Développement des os, des dents, de la peau...	Prévention contre la cécité, les infections, le dessèchement de la peau et des yeux.
Vit. D	Facteur favorisant le système actif d'absorption intestinale du calcium.	Prévention de problèmes de développement osseux.
Pyridoxine	Cofacteur de réactions de synthèse et de modification d'acides aminés	Prévention de convulsions (déficit en sérotonine).
Thiamine	Coenzyme de réactions du métabolisme des glucides	Prévention du béribéri (déficit mental, cardiaque...).
<u>Protéines</u> Leu, Lys, Met, Thr, Trp, Phe, Val	Sources d'acides aminés essentiels à la synthèse des protéines des parois cellulaires, fibres musculaires, enzymes et hormones.	Prévention contre les retards de croissance. Résistance et défense contre les infections

2.1. Caractéristiques du lait cru de vache :

2.1.1. Caractéristiques physico-chimiques :

Les propriétés physico-chimiques du lait dépendent de l'ensemble des constituants du lait. (El Hachemi ,2019)

- La densité varie entre 1,028 et 1,035 à 15°C.
- L'acidité de 15 à 17°D
- pH de 6,6 à 6,8.
- Le point d'ébullition à 100.5°C.
- Le point de congélation de -0,530°C à -0,575°C. Un point de congélation supérieur à -0,530°C est soupçonné par l'addition de l'eau.

2.1.2. Caractéristiques organoleptiques :

Juger de la qualité du lait par son goût et son arôme demande beaucoup d'habileté. La consistance, la couleur, l'odeur et la saveur du lait cru peuvent être vérifiés comme certains indicateurs de la qualité du produit (Guiraud, 2003).

Les principaux caractères organoleptiques du lait cru de la vache :

- Couleur : Blanc mat, Blanc jaunâtre (très riche en crème)
- Odeur : Odeur faible
- Saveur : Saveur agréable
- Consistance : Homogène

3. Consommation du lait en Algérie :

Le lait est considéré comme étant un produit de base dans le modèle de consommation algérien avec en moyenne une consommation de 110 litres par an et par habitant. L'Algérie est classée comme le second pays importateur au monde de lait et de ses dérivés (Bekhouche-guendouz, 2011 ; El Hassani, 2013).

La consommation des produits laitiers est en hausse continue ; l'Algérie demeure le premier consommateur de lait au sein du grand Maghreb (Leksir, 2012).

Chapitre 2

La qualité

microbiologique du lait

cru de vache

4.1. Microbiologie du lait cru :

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

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

4.1.1. Flore originelle :

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml) (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.

Tableau 3. Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).

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

4.1.2. Flore de contamination:

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).

Des 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 pyogènes*, *Corynebactérium pyogènes*, *staphylocoques*, etc. Il peut s'agir aussi des 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.(Vignola, 2002).

4.1.3. Flore mésophile aérobie totale :

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).

Cependant, la seule mesure des germes totaux ne suffit pas à bien évaluer les risques liés à ces groupes microbiens qu'il convient, alors, de dénombrer pour améliorer le diagnostic (Institut d'élevage, 2009).

4.1.4. Les bactéries de contamination fécale :

Certaines bactéries ou groupes bactériens mis en évidence peuvent être considérés comme témoins de contamination d'origine fécale et indiquent la présence possible de germe pathogène (Sutra et al., 1998). Parmi eux, nous avons :

4.1.4.1. Les coliformes :

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles Gram-, sporulés, 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*, *freundii*), *Citrobacter*, *Entérobactérie* 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 (Leminor et Richard, 1993).

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

- Les totaux 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 thermo-tolérants (détectés à 44°C). *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe. (Jakob et Winkler, 2009).

4.1.4.2. Streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux (Entérocoques ou streptocoques du groupe D) sont des commensaux de l'intestin. *Entérocoques fécales* et *E. faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain (Clausenet et al., 1977 ; Gleeson et Gray, 1997). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75% des humains, à des concentrations variant de 10^5 à 10^8 bactéries/g (Gleeson et Gray, 1997 ; Hancock et Gilmore, 2000).

4.1.4.3. *Staphylocoques* :

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Staphylococcieau*. Ce sont des coques à Gram positif de 0,5 à 2,5µm de diamètre, non sporulés et immobiles, seules les souches productrices d'entéro-toxine sont impliquées dans une intoxication alimentaire (Leyral et Vierling, 2007).

Staphylocoques est un germe mésophile dont la température optimale de croissance est compris 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 (en général jusqu'à 10%) (Cuq, 2007).

5. Les critères de la qualité du lait cru de vache :

D'après Sablonnière (2001), la qualité alimentaire est nécessaire à la protection sanitaire des consommateurs. Le lait doit répondre aux besoins de l'individu sans porter atteinte à sa santé. C'est-à-dire dépourvu de germes pathogènes ou de substances toxiques susceptibles d'engendrer des maladies.

Les articles 9 et 10 du décret n°69 du 27/10/1993 du Journal Officiel de la République Algérienne et Populaire donnent les critères suivants :

- Le lait doit être conservé immédiatement après la traite à une température $\leq 6^{\circ}\text{C}$.

- Le lait doit être mis à disposition des entreprises laitières dans les conditions suivantes :

- * Les délais entre la traite et la délivrance du lait aux entreprises laitières, est fixé à 48 heures au maximum.

- * Le délai entre la traite et le premier traitement thermique est fixe à 72h

D'après le journal Officiel de la République Algérienne n°35 du 27/05/1998. La charge des principaux germes pathogènes ne doit pas dépasser les seilles mentionnées dans le tableau 4

Tableau 4. Les seilles des principaux germes pathogènes du lait cru mis en vente (Annexe n°1)

Les germes	Le taux toléré
<i>Germes aérobies à 30°C</i>	10 ⁵ germes/ml
<i>Coliformes fécaux</i>	10 ³ germes/ml
<i>Clostridium sulfito- réducteurs à 46 °C</i>	50 germes/ml
<i>Streptocoques fécaux</i>	Absence /0,1ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence
<i>Résidus d'antibiotiques</i>	Absence

Deuxième partie :
Partie expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

6.1. But du travail:

Le but de ce travail est d'étudier les différentes méthodes microbiologiques utilisées par des chercheurs dans différents régions et pays pour analyser la qualité bactériologique de lait cru de la vache. Plus précisément, la recherche de les bactéries qui contaminent le lait cru. Et donc, sur la base d'études ultérieures, nous comparerons les méthodes de comptage et déterminerons les taux de contamination de certains microorganismes tels que : *FTAM* , *Staphylococcus aureus* , *Salmonella* et *Listeria monocytogenes* , *Coliformes totaux et fécaux* , *Clostridium sulfito-réducteur* , *Escherchia coli*

6.2. Matériel et méthodes :

6.2.1. Matériel :

Il s'agit du matériel biologique (Lait cru de vache) et matériel de manipulation

6.2.1.1. Instruments et réactifs utilisés :

- Etuve (incubateur)
- Bain marie
- Une glacière pour le transport des prélèvements.
- Réfrigérateur
- Anses de platine.
- Bec benzène.
- Pipettes pasteurs.
- Boîtes de pétri stériles.
- Flacons stériles pour les prélèvements
- Verreries (bêchers, fioles, pipettes)

6.2.1.2. Réactifs et milieux :

- Eau distillée.
- Gélose PCA (MA)
- Gélose TSC
- Gélose de Baird Parker (BP)

- Milieu de Bile Esculine Azide (BEA)
- Milieu de ROTHE
- Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant (BLBVB)
- Gélose de Desoxycholate
- Gélose d'Oxytétracycline (OGA)

6.3. Echantillonnage :

- Nettoyage soigné des trayons à la main s'ils sont très sales
- Elimination des premiers jets, le plus souvent dans un bol à fond noir, la détection des mammites clinies est donc bonne
- Pré-trempage des trayons dans un produit détergent, moussant et désinfectant attendre 30 secondes.
- Essuyage des trayons à l'aide de papier à usage unique
- Pose des manchons trayeurs
- Décrochage automatique
- Trempage des trayons dans un produit iodé et couvrant en hiver, pulvérisation de chlorhexidine en été.
- Enlevez le bouchon du tube en le tenant avec l'auriculaire.
- Le bouchon doit être tenu pour que l'intérieur soit tourné vers le sol.
- Sans toucher au trayon avec le tube, prélevez du lait dans le tube incliné presque horizontalement pour éviter une contamination par des particules de fumier ou de litière.
- Pour un échantillon composite, prélevez une quantité égale de lait de chacun des quatre trayons. Après avoir rempli le tube (maximum au 3/4), remettez le bouchon en place.

- Inscrivez sur le tube : la date, le no de la vache, le quartier échantillonné et la raison de l'échantillonnage. Utilisez un marqueur indélébile. Déposez les tubes dans un support s'il y a plusieurs échantillons.

- Refroidissez rapidement l'échantillon en le déposant sur de la glace au fond d'une glacière ou au réfrigérateur. L'envoi au laboratoire doit être fait rapidement. Sinon, congelez l'échantillon immédiatement.(Mialot,1983).

6.4. Méthodes microbiologiques :

Les méthodes traditionnelles telles que l'isolement et la purification de souches bactériennes provenant de divers points de collectes sont très importantes dans la recherche microbienne.

L'isolement de micro-organismes dans des cultures pures peut fournir des informations sur les fonctions bactériennes, les voies métaboliques et les caractéristiques physiologiques (Shuangfei et *al.*, 2018).

6.4.1 Préparation de l'échantillonnage :

L'échantillonnage a été fait dans différentes villes et régions dans plusieurs pays par des chercheurs. Les prélèvements ont été effectués 45 min à 1 h après la traite, Tous les prélèvements ont été placés dans des glacières contenant des accumulateurs de froid pour garder les échantillons entre 2 °C et 8°C avant qu'ils ne soient acheminés aux laboratoires, tous les échantillons ont été prélevés d'une manière aseptique dans des flacons en verres (environ 400 ml de lait) stériles en polyéthylène après ils sont mis dans des glacières ensuite direction les laboratoires.

6.4.2. Préparation des dilutions décimales:

Différentes dilutions avec une solution de Tryptone Sel Eau (TSE) ont été utilisées selon la nature de l'échantillon ; elles variaient entre 10^{-1} et 10^{-5} .

-Pour l'obtention de la dilution de 1/10 nous avons mélangé 1 ml d'inoculum à 9 ml du diluant (TSE)

-Pour l'obtention de La dilution de 1/100 nous avons mélangé 1 ml de la première dilution à 9 ml d'eau physiologique (diluant).

-Pour l'obtention de La dilution de 1/1000 nous avons mélangé 1 ml de la deuxième dilution à 9 ml du diluant et ainsi de suite.

Nous avons adopté la même méthode pour tous les échantillons.

On obtient ainsi une dilution mère de 10^{-1} à partir de laquelle on réalise des dilutions décimales jusqu'à 10^{-5} .

6.5. Modes de dénombrement de la Flore mésophile aérobie totale :

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) se fait sur le milieu de culture gélose glucosée à l'extrait de levure plate count agar (Annex n°2) (Sissao et al., 2015) après incubation à 30 °C pendant 72 h.

Les ensemencements sont réalisés par pipette pasteur en plaçant 1ml des dilutions : 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} et 10^0 successivement dans les boîtes de pétri qui contient le milieu gélosée liquide, puis on mélange soigneusement les boîtes de pétrie quelques minutes, ensuite on met les boîtes de pétri semi-ouvertes dans la zone stérile de bec de benzène pendant 15 mn pour solidifier le milieu. Enfin on place les boîtes de pétri dans l'étuve à 37°C pendant 72h (Afnor 2004)

6.6. Recherche des *Staphylococcus aureus* :

La sélection des *Staphylococcus-aureus* se fait dans un milieu de Chapman ou gélose Baird Parker additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium qui permet une orientation pour l'identification de l'espèce *Staphylococcus aureus* (Labioui et al., 2009). Le milieu de culture est coulé dans les boîtes de pétri, puis on prélève 0.1 ml des délutions 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} et 10^0 successivement, on les introduit dans les boîtes de pétri, l'ensemencement se fait par pipette de Pasteur. L'incubation est réalisée à l'étuve 37°C pendant 48 h.

Les colonies de staphylocoques positifs sont entourées d'une zone jaune brillante tandis que les colonies de staphylocoques non pathogènes présentent un halo rouge pourpre. A partir de chaque boîte, 5 souches ont été sélectionnées en vue d'une identification biochimique

basée sur la recherche de la catalase et de la coagulase libre (Hakem et *al.*, 2012; Lingathurai et Vellathurai, 2013)

6.7. Recherche des Salmonella, Listeria monocytogenes:

La recherche des entérobactéries pathogènes, a été effectuée dans le milieu de Hektoen, à l'aide d'un étaleur ou pipette pasteur en verre flambé et stérile, on pipette 0.1ml des dilutions 10^{-3} et 10^{-2} , 10^{-1} et 10 successivement sur toute la surface de boîte de pétri contenant le milieu de culture.

Les salmonelles sont recherchées en trois étapes, un pré-enrichissement dans l'eau peptonée tamponnée (EPT) 24 heures à 37°C, suivi d'un enrichissement sur Bouillon Sélinité cystéine (SFB) 24 heures à 37°C, puis le dénombrement et l'isolement ont été réalisés sur le milieu Hecktoen après incubation 24 heures à 37°C (Afif et *al.*, 2008; Labioui et *al.*, 2009).

6.8. Recherche des Les coliformes :

Le dénombrement des coliformes a été effectué par un ensemencement en profondeur sur gélose Désoxycholate à 1 ‰ (IPA ®). La séparation entre coliformes totaux (CT) et coliformes fécaux (CF) a été réalisée après incubation pendant 24 heures à une température de 37°C pour le dénombrement des coliformes totaux et 44 °C pour les *coliformes fécaux* (Afif et *al.*, 2008; Labioui et *al.*, 2009) .

-Les *coliformes thermotolérants* (CT) ont été dénombrés sur gélose biliée lactosée au rouge neutre et cristal violet (VRBL) (Annex n°2), incubée 24 h à 44 °C. Toutes les colonies rouges (lactose +) d'un diamètre de 0,5 mm minimum apparues sont considérées comme étant des coliformes thermotolérants (Afnor,1996).

6.9. Recherche d'Escherichia coli :

La recherche d'E. coli a été réalisée par repiquage de 5 colonies caractéristiques prises au hasard partir de chaque boîte retenue de CF. La production d'indole a été recherchée pour l'identification biochimique d'*E. coli*

6.10. Recherche des streptocoques fécaux :

Les *streptocoques fécaux* (SF) ont été dénombrés sur le milieu de Rothe (Kouame-Sina et al., 2010; Labioui et al., 2009). Un millilitre de chaque échantillon à analyser a été ajouté à 9 ml de bouillon TSE. On obtient ainsi une dilution mère de 10^{-1} à partir de laquelle des dilutions décimales ont été réalisées. Ensuite, un millilitre de chaque dilution a été placé dans trois tubes du milieu présomptif de Rothe. Après incubation pendant 48 h à 37 °C.

les contenus des tubes positifs, c'est-à-dire présentant un trouble, ont été ensuite ensemencés sur gélose à la bile, à l'esculine et à l'azide de sodium (BEA) utilisée pour la confirmation et soumise à une incubation à 37 °C pendant 24 et 48 h

6.11. Dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs*:

Recherche des spores des anaérobies sulfito-réducteurs : 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 et Rose, 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) est ajoutée pour assurer l'anaérobiose. L'incubation est réalisée à 37°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)

Chapitre 4

Résultats et discussions

7. Résultats :

7.1. Résultats de dénombrement des différents germes du lait cru dans les différentes régions d'Algérie:

Tableau 5. Résultats d'analyses microbiennes dans différents régions d'Algérie

Bactéries Zone d'étude	<i>Flore mésophile aérobie totale</i>	<i>Staphylocoques aureus</i>	<i>COLIFORMES TOYAUX</i>	<i>COLIFORME FECAUX</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>salmonella</i>	<i>Clostridium sulfito- réducteurs</i>	<i>streptocoques fécaux</i>
Jijel	$6.97.10^5$ UFC/ml	$0.1.10^3$ UFC/ml	absent	$2.4.10^4$ UFC/ml	absent	absent	$0.2.10^2$ UFC/ml	$1.4.10^4$ UFC/ml
Blida	$7.4.10^5$ UFC/ml	$2.2.10^3$ UFC/ml	absent	$6.2.10^4$ UFC/ml	absent	absent	$0.35.10^2$ UFC/ml	$4.8.10^4$ UFC/ml
Régions de Gharb	$1.26.10^8$ UFC/ml	absent	$1.07.10^7$ UFC/ml	$1.99.10^6$ UFC/ml	absent	absent	absent	$8.13.10^4$ UFC/ml
Alger- centre	$3,7\pm 0,4.10^6$ UFC/.ml	$8,7\pm 0,9.10^2$ UFC/.ml	$2,7\pm 0,9.10^2$ UFC/.ml	$2,6\pm 0,3.10^6$ UFC/.ml	$2,6\pm 0,9.10^2$ UFC/ml-	absent	$8.13.10^4$ UFC/ml	absent
Tiaret	$>10^5$ UFC/ml	présence	$\geq 10^3$ UFC/ml	$\geq 10^3$ UFC/ml	absent	absent	absent	$\gg 10^5$ UFC/ml
Tissemsi lt	4.10^6 UFC/ml	absent	$\gg 10^3$ UFC/ml	$<10^3$ UFC/ml	absent	absent	absent	absent /01 ml
Ouest algerie	10^4 UFC/ml	6.10^2 UFC/ml	absent	10^3 UFC/ml	absent	absent	50	$0.64.10^2$ UFC/ ml
Ghardaia	$<10^5$ UFC/ml	absent	absent	10^3 UFC/ml	absent	absent	50	absent /01 ml

Djelfa	$>10^5$ UFC/ml	absent	$\geq 10^4$ UFC/ml	$\geq 10^4$ UFC/ml	Faible présence	Faible présen ce	50	absent/ 01 ml
Mitidja (Algeria)	$1,4 \cdot 10^4$ ufc/ml	$5,7 \cdot 10^3$ UFC/ml	$3,5 \cdot 10^2$ UFC/ml	52 (germs/ml)	3/11 cas+	faible	1/7 cas+	$>10^4$ UFC/m l

Résultats d'analyses microbiennes dans déférents régions en Algérie:

Tous les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 5. L'analyse de ces résultats a montré qu'il existe des différences significatives entre toutes les regions tudis.

Selon le tableau 5, tous les échantillons analysés de différentes régions d'études étaient infectés par FMAT et les coliformes fécaux.

Pour *Staphylocoques aureus*, la plupart des échantillons étaient infectés, 54% des régions d'étude.

En comparant les résultats, on constate que tous les échantillons qui ont été prélevés dans les zones d'étude était des résultats négatifs pour les germes *d'E-coli* et *salmonella* et *Clostridium sulfito-réducteurs* (36.36% les échantillons dans la region d'étude sont contaminé) à l'exception de deux régions qui content une faible présence *d'Escherichia colli*

Pour les streptocoques fécaux Les chercheurs ont trouver que le pourcentage d'échantillons infectés dans la régions d'étude était d'environ 46%

En revanche, toutes les échantillons analysées sont infecté par les coliformes fécaux et totaux.

7.2. Résultats de dénombrement des différents germes du lait cru dans les différentes régions hors d'Algérie:

Tableau 6. Résultats d’analyses microbiennes dans différents régions hors d’Algérie

Bactéries Zone d'étude	Flore mésophile aérobie totale	Staphylocoques aureus	COLIFORMES TOYAUX	COLIFORME FECAUX	d'Escherichia coli	Salmonella	Clostridium sulfito- streptocoques fécaux
Burkina Faso	log(6 ± 0,002) UFC/ml	Log (5,57 ± 0,03) UFC/ml		Absent	Log(5,35 ± 0,01) UFC/ml	absent	
Trinidad (India)		5.10 ⁶ UFC/ml			3,9.10 ⁶ UFC/ml		
Bénin	1,08.10 ⁸ UFC/ml	3,97.10 ¹ UFC/ml	6,17. 10 ² UFC/ml	9,24. 10 ² UFC/ml	0,40.10 ¹ UFC/ml	absent	0,38. 10 ¹ UFC/ml
Tadla (Maroc)	10,4.10 ⁶ UFC/ml	9. 10 ⁴ UFC/ml.	3,6 . 10 ⁴ UFC/ml	2,1 . 10 ⁶ UFC/ml	absent	absent	Faible présence
Dire Dawa (Ethiopia)	6,87 Log UFC/ml		1,24 Log UFC/ml				
Mnasra (Maroc)	6,38.10 ⁶ UFC/ml,	absent	2.10 ⁴ UFC/ml	5,2.10 ³ UFC/ml		absent	absent
Abidjan (Côte d'Ivoire)		7,05.10 ³ UFC/ml	3,2.10 ⁵ UFC/ml		1,5.10 ³ UFC/ml	absent	
Madurai (India)		6,2.10 ³ UFC/ml	6,85. 10 ³ UFC/ml	8,67. 10 ⁴ UFC/ml	3,4.10 ³ UFC/ml	Plus faible	
Ogbomos o (Nigeria)					2,6.10 ⁶ UFC/ml	1,1.10 ⁶ UFC/ml	

Résultats des analyses microbiennes international:

Les résultats obtenus de toutes ces études étaient différentes en fonction des pays

Selon le tableau 6, presque tous les échantillons analysés de différentes régions d'études étaient contaminés par FMAT et les coliformes fécaux.

Pour *Staphylococcus aureus*, la plupart des échantillons étaient infectés 40 % des régions d'étude.

Pour *Escherichia coli* est 20% des échantillon infectée mais sont c'est une faible signification.

À noter que tous les régions d'étude ont des résultats négatifs pour les germes des *salmonella*. Il était absent sauf une région qui présente dans un faible pourcentage

Le germe *Clostridium sulfite-réducteur* généralement est absent dans tout les pays à l'exception de deux régions qui en présentent mais avec faible signification

Pour les streptocoques fécaux on a faible valeur par rapport les autres germes sauf en deux pays.

8. Discussion:

Les résultats des recherches menées dans notre travail montrent que la qualité du lait cru varie d'un pays à l'autre et d'une région à une autre. Cette différence significative est généralement causée par les pratiques d'hygiène adoptées par chaque coopérative

8.1. Discussion de résultats de la Flore mésophile aérobie totale:

L'énumération de cette flore pour les motifs collectés a montré qu'il existe une contamination significative du lait cru dans tous les régions qui ont été des cibles d'études. Cette forte contamination est sans aucun doute associée au manque d'hygiène pendant la traite ou au matériau utilisé pour la traite. En outre, la charge microbienne pour la région de Ghardaïa (Debouz et *al.*, 2014) et l'ouest d'Algérie (Aggad et *al.*, 2010) est comparable à celle de journal Officiel de la République Algérienne n° 35 du 27/05/1998.

Tous les résultats de dénombrements des FMAT dans le lait des régions d'études hors d'Algérie sont admissibles à une mauvaise qualité lorsque aux normes Françaises ou Américaines d'évaluation de la qualité du lait cru. Les charges maximales tolérées par les deux réglementations sont respectivement de 5×10^5 UCF/ml et 3×10^5 UCF/ml (Afif et *al.*, 2008)

En fait, toute la flore aérobie mésophile dépasse les critères microbiologiques du lait dans tous les modèles analysés. Cette forte contamination est sans aucun doute associée à l'écart hygiénique pendant la traite ou le transport (Farougou et *al.*, 2011).

Toute la flore mésophile la plus recherchée dans les analyses microbiologiques pour La qualité hygiénique du lait cru. La présence de ces bactéries est due soit à une contamination pendant le conditionnement, soit à une mauvaise pasteurisation. (Afif et *al.*, 2008; Sisao et *al.*, 2015)

8.2. Discussion de résultats de *staphylocoque aureus*:

Les résultats obtenus indiquent la présence de staphylocoques aureus dans la plupart des échantillons analysés des régions étudiées. Cependant, la non présence de *Staphylococcus aureus* n'a été trouvée que dans quatre régions d'études (Tir et *al.*, 2015; Titouche et *al.*, 2016; Ghazi et Niar, 2011)

De même, plusieurs auteurs en Algérie ont rapporté la présence de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru, mais l'incidence est très variable (Tir et *al.*, 2015; Titouche et *al.*, 2016 ; Ghazi et Niar, 2011).

Les résultats de (Lingathurai et Vellathurai, 2013) dans la ville de Madurai ont montré qu'environ de 61 % des échantillons de lait analysés étaient positifs à *S.aureus* avec une fréquence de détection allant de 53% en région de l'Est à 67% dans les régions de l'ouest et du nord quia montré un nombre de *S. aureus* significativement plus élevé

Selon les résultats de l'analyse de Kouamé-Sina et *al.*, (2010) et Farougou et *al.*, (2011) au Côte d'Ivoire et en Maroc respectivement, *Staphylococcus aureus* était présent dans les échantillons de lait analysé, mais dans une proportion conforme aux critères microbiologiques. *Staphylococcus aureus* est reconnu comme l'agent causal des mammites cliniques et subcliniques en élevage (bovin), tandis que *S. aureus* était apporté secondairement dans le lait par l'eau de traite et les mains des trayeurs .

Le nombre de bactéries considérées comme pathogènes peut être dû à une mauvaise qualité de manipulation.

Bien que la présence de *Staphylococcus aureus* dans les échantillons étudiés soit imprudente en raison de la réduction du nombre d'échantillons, des mesures adéquates doivent être prises pour lutter contre cette contamination en raison de la présence de *Staphylococcus aureus* dans les aliments.

8.3. Discussion de résultats des coliformes :

8.3.1. coliformes totaux :

Comme la flore totale, ces bactéries sont des indicateurs de qualité d'hygiène et de non-respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication. Jusqu'à présent, la législation algérienne ne considère pas la CT comme une norme d'évaluation de la qualité microbienne. La contamination du lait par des bactéries coliformes dans les régions d'études dont leurs résultats est positif (Aggad et *al.*,2010; Baazize-ami et *al.*2019; Tir et *al.* ,2015 ; Titouche et *al.*, 2016) est une source de préoccupation, car les bactéries coliformes en cas de prolifération d'un grand nombre ou pendant une période spécifique d'acceptation par le consommateur entraîneront des risques pour la santé, mais leur existence aussi explique d'autres conditions similaires existent comme les bactéries.

Selon (Afif *et al.*, 2008; Farougou *et al.*, 2011), la présence de coliformes n'indique pas nécessairement que le lait est directement contaminé par des matières fécales, mais elle est considérée comme le résultat de mauvaises pratiques d'hygiène .

A la ferme, la bouse de vache est le principal réservoir de la flore coliforme (Kouamé-Sina *et al.*, 2010).

8.3.2. coliformes fécaux:

La recherche des coliformes fécaux indiquant une contamination fécale peut déterminer l'état sanitaire du produit. Même à faible teneur, ils peuvent prouver que les conditions sanitaires se dégradent lors de la traite ou du transport (Labioui *et al.*, 2009). Leur présence est généralement liée à des entérobactéries pathogènes, telles que *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et certains biotypes d'*E. coli*.

8.4. Discussion de résultats des *streptocoques fécaux*:

La présence de streptocoques fécaux dans le lait cru indique une source de pollution environnementale. Leur abondance dans le lait cru reflète le non-respect des règles d'hygiène requises pour la traite lors de la récolte du lait et une possible contamination lors du stockage du lait. (Hamiroune *et al.*, 2016 ; Kouamé-Sina *et al.*, 2010; Farougou *et al.*,2011)

8.5. Discussion de résultats des *Clostridium sulfito-réducteur*:

Clostridium sulfito-réducteur est présent dans l'alimentation animale (aliments en contact avec le sol) et contamine le lait directement ou par les selles. Ce sont des bactéries pathogènes, et leur présence témoigne d'une pollution fécale ou du sol, qu'elle soit récente ou ancienne.

Selon Afif *et al.* (2008), l'analyse microbiologique de clostridium n'a pas montré de contamination.

En général l'isolement des clostridiiums est difficile à mettre en évidence. Le faible taux de la flore indicatrice de contamination fécale trouvé est en faveur de ce résultat.

8.6. Discussion de résultats des *Salmonella*:

Les salmonelles sont absentes dans tous les échantillons de lait analysé. Ce résultat est en accord avec ceux d' Afif et al. (2008), Farougou et al. (2011), Hakem et al., (2012), Labioui et al. (2009), Lingathurai et Vellathurai (2013), Oladipo et al. (2016) et Sisay et al. (2015). Ils indiquent que *Salmonella spp.* N'est pas une menace pour les consommateurs de lait des localités prospectées. Donc l'absence de salmonelles indique une bonne santé des vaches des deux étables et une bonne hygiène de la traite.

8.7. Discussion de résultats de *E.coli*:

La contamination a été étudiée sur des échantillons de lait de mauvaise qualité bactériologique, En dehors de la source fécale, des mains des trayeurs et des ustensiles, la contamination du lait peut être due à l'excrétion mammaire en cas d'infection à *E. coli*. (Adesiyun et al., 1995; Kouamé-Sina et al., 2010)

Selon (Farougou et al., 2011) , La présence de *Escherichia coli* est un indicateur de contamination fécale, aussi révèle le risque de présence d'une autre entérobactérie pathogène dans l'échantillon. Cependant, les bovins laitiers semblent être un réservoir majeur pour ce pathogène, même si avec un prévalence très faible (Lingathurai et Vellathurai, 2013)

Sisao et al. (2015) prouvent que la présence de *Escherichia coli* dans le lait pasteurisé de la laiterie prouve que les règles d'hygiène n'étaient pas totalement maîtrisées et cela pourrait être dû à de mauvaises conditions de conditionnement du lait.

Conclusion

Conclusion générale

Le lait présente sans aucun doute un intérêt particulier pour l'homme car il répond pleinement aux besoins humains, car il contient une teneur élevée en nutriments essentiels (protéines, lipides, lactose, vitamines et sels minéraux) importants pour les jeunes et les adultes.

La richesse de ce lait cru en fait un terrain fertile pour l'environnement des bactéries. En effet, la contamination microbienne peut rendre le lait produit extrêmement périssable, impropre à la consommation humaine après détérioration sensorielle, ou constituer une menace pour la santé publique.

Le contrôle de la qualité hygiénique du lait reste essentiel pour protéger la santé des consommateurs.

En comparant la qualité du lait dans différentes zones d'étude, nous avons constaté que le lait dans les régions ne répondait pas aux normes.

Le principal problème reste toujours l'hygiène, ainsi que le temps et la méthode de stockage du lait.

Concernant les coliformes totaux et les coliformes fécaux, tous les résultats d'analyses qui ont été apportées contiennent un grand nombre de micro-organismes, mais le nombre de micro-organismes varie d'une région à l'autre,

La contamination microbienne, qu'il s'agisse d'excréments ou d'agents pathogènes, n'est que la conséquence logique d'une mauvaise surveillance par les vétérinaires, d'un manque de mesures sanitaires, d'un manque de respect et d'une méconnaissance des conditions d'élevage, notamment des conditions liées à la propreté, la sécurité des animaux et de leur environnement.

Bien entendu, il existe également des conditions sûres pour le stockage et le transport du lait, afin que des produits à plus haute valeur nutritionnelle puissent être livrés aux consommateurs.

Par conséquent, les résultats actuels jettent les bases d'une étude épidémiologique complète, prenant en compte la qualité des micro-organismes pour toutes les maladies zoonotiques (brucellose, tuberculose...) surtout à l'échelle nationale et internationale.

Cela permettra de mieux cerner la filière en démontrant la contribution de l'hygiène dans la production laitière.

Enfin, pour sortir du tunnel, nous recommandons d'éviter la consommation de lait cru, de former les éleveurs, les transporteurs de produits laitiers et même les industriels, afin d'améliorer l'hygiène du lait.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

Référence les articles:

- Adesiyun A. A., Webb L., Rahaman S. 1995. Microbiological Quality of Raw Cow's Milk at Collection Centers in Trinidad. *Journal of Food Protection* 58(2):139-146.
- 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* 7(1): 2-7.
- 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.
- Baazize-Amami D., Gharbi I., Dechicha A.S., Kebbal S., Guetarni D. 2019. Qualité bactériologique et sanitaire du lait cru de bovins des circuits direct et indirect dans la région centre de l'Algérie. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques* .7 (2): 267-272
- Chenouf N. S., Yabrir B., Hakem A., Messai C. R., Tobbiche F., Titouche Y., Chenouf ., Zitouni A. 2016. The bacteriological quality of unpasteurized milk and traditional dairy products sold via informal circuit in Djelfa City (Algeria). *Microbiology and Biotechnology Research*.6(1): 9-16
- Debouz A., Guerguer L., Oudjana H. A., Aek H.S. 2014. Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de Ghardaïa. *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes*, 7(2): 10-17.
- Farougou S., Kpodékon T. M., Sessou P., Youssao I., Boko C., Yèhouenou B., Sohounhloué D. 2011. Qualité microbiologique du lait cru de vache élevée en milieu extensif au Bénin. In *Actes du 3ème Colloque des Sciences, Cultures et Technologies de l'UAC-Bénin* 1-14.
- Ghazi K., Niar A. 2011. Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura*. 29(4):193-196.
- Hakem A., Yabrir B., Khelef D., Laoun A., Mouffok F., El-Gallas N., Titouche Y., Ben Aissa R. 2012. Evaluation of Microbial Quality of Raw Milk into two Dairies Mitidja's Farms (Algeria). *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary*

Medicine.69:1-2.

- Hamiroune M., Berber A., Boubekeur S. 2014. Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. *Annales de Medecine Veterinaire*. 158: 137-144

- Kouamé-Sina S. M., Bassa A., Dadié A., Makita K., Grace D., Dje M., Bonfoh B. 2010. Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales* 8:35-42.

- Labioui H., Elmoualdi L., Benzakour A., El Yachioui M., Berny E., Ouhssine M. 2009. Etude physicochimique et microbiologique de laits cru. *Bulletin de la Société de pharmacie*. Bordeaux 148:7-16.

- Lingathurai S., Vellathurai P. 2013. Bacteriological Quality and Safety of Raw Cow Milk in Madurai, South India. *Journal du Bangladeshde Scientifique Etrecherche Industrielle* 48(2):109-114.

- Oladipo I. C., Tona G. O., Akinlabi E. E., Bosede O. E. 2016. Bacteriological quality of raw cow's milk from different dairy in Ogbomoso, Nigeria. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* 3(8): 1-6.

- Ounine K., Rhoutaisse A., El haloui N.E. 2004. Caractérisation bactériologique du laitcru produit dans les étables de la région du Gharb. *ALawamia*. 1(2): 109-110.

- Sisay M., Feyera T., Ousman M. 2015. Microbiological quality of raw cow's milk from four dairy farms in Dire Dawa City, Eastern Ethiopia. *World Journal of Dairy & Food Sciences*.10 (1): 09-14.

- Sissao M., Millogo V., Ouedraogo G. A.2015. Composition chimique et qualité bactériologique des laits crus et pasteurisés au Burkina Faso. *Afrique Science* 11(1):142 - 154.

- Tir E., Bounoua S., Heddar M., Bouklila N. 2015. Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de laits crus de vache dans deux fermes de la wilaya de Tissemsilt (Algérie). *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes*. 8(2):26-33

• **Références de la partie théorique**

- Adjlane-Kaouche S., Benhacine R., Ghoulane F., Mati A. 2014. Nutritional and Hygienic Quality of Raw Milk in the Mid-Northern Region of Algeria: Correlations and Risk Factors. *Scientific World Journal* 10(11): 55-13.
- AFNOR F.1980. Recueil des normes françaises. Laits et produits laitiers. Afnor les pages de 104-105.
- Agence française de normalisation (AFNOR) .1996. – Norme F V08-060. Microbiologie alimentaire. Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies à 44 °C. Méthode de routine. AFNOR, Paris, p10.
- Agence française de normalisation (AFNOR) .2004.Norme F V08-057 Microbiologie des aliments. Méthode de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37 °C. Partie 1 : Technique avec confirmation des colonies. AFNOR, Paris, p 11.
- Alais C., Linden G., Miclo L. 2008. Biochimie alimentaire. 6ème édition. Paris. pp:86-88.
- Bachtarzi N. 2012. Qualité microbiologique de lait cru destiné a la fabrication d'type de camembert dans une unité de l'est algérie. Mémoire De Magister en Sciences Alimentaires.universite mantouri constantine, p 59.62.63.
- Bekhouche-Guendouz N. 2011. Evaluation de la durabilité des exploitations bovines laitières des Bassins de la Mitidja et d'Annaba. Thèse de doctorat d'état, Institut National Polytechnique de Lorraine, Algérie, 310 p.
- Bekhouche F., Boulahrouf A. 2005. Etudes Quantitative et Qualitative des Bacteries Lactiques de Lait Cru Produits par des Vaches Locales Appartenant A Six Stations D'elevage de Constantine. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies* 23: 38-45.
- Baaziz A., Gharbi ., Echicha D. , Kebbali ., Guetarni .2019. Qualité bactériologique et sanitaire du lait cru de bovins des circuits direct et indirect dans la région centre de l'Algérie. *Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires. 7 (2): 267-272*
- Clausen E. M., Green B.L., 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.

- Chye F.Y. , Abdullah A., Ayob M.K. 2004. Bacteriological quality and safety of rawmilk in Malaysia. Food Microbiol 21: 535-541.
- Cuq J.L. 2007. Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.
- Cohen N., Barkia A. 2011. Toxi-infections alimentaires : Rapport du Maroc. CongrèsMaghrébin sur les TIAC- 2ème édition. Hammamet.
- El hachemi M. S. 2019. Etude de la variation saisonnière des paramètres biochimiques et microbiologiques du lait cru de vache à la traite dans l'Ouest Algérien. Thèse de doctorat d'état, Université Abdelhamid Ibn Badis–Mostaganem, 221 p.
- El Hassani S. K. 2013. La Dépendance Alimentaire en Algérie: Importation de Lait en Poudre versus Production Locale, Quelle Evolution. Mediterranean Journal of Social Sciences 4(11):152-158.
- Fredot E. 2006. Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. édition, Lavoisier, Paris, p25.
- Gripon J. C., Desmazeaud M.J., Bars D., Bergère J. L.1975. Étude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. Influence de la présure commerciale. Le Lait 55.pp: 502-516.
- Gleeson C., Gray N. 1997. The coliform index and waterborne disease. E & FN Spoon.194p.
- Guiraud J. 2003. Microbiologie Alimentaire, Paris: Edition Duno. p136-139
- Guiraud J.P., Rosec J.P. 2004. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. p95.
- Huyghebaert. 2006. Stratégies des produits à base de lait cru. Bruxelles.
- Hamiroune M., Berber A., Boubekeur S.2016. Évaluation de la qualité bactériologique du lait cru bovin à divers stades de la chaîne de production laitière dans des fermes en Algérie. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics).p35.

- Institut de l'élevage. 2009. Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1^{ère} Edition France Agricole. Produire mieux. p:55-506
- Institut Pasteur d'Algérie. 2003. Catalogue Milieux de culture réactifs de laboratoire. Edition IPA.p158.
- Joffin C., Joffin J.N. 1999. Microbiologie alimentaire. Collection bio-émologie et technique. 5 édition, p11.
- Jakob E., Winkler H., Haldemann J. 2009. Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. p : 5-31
- Kabir A., 2015. Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives). Thèse de doctorat d'état, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université d'Oran 1, Algérie, 195 p.
- Leksir C. 2012. Caractérisation et contrôle de la qualité de ferments lactiques utilisés dans l'industrie laitière algérienne. Mémoire de magister, université Mentouri, Constantine, 162 p.
- Leminor L., Richard C. 1993. Méthodes de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries. Institut Pasteur.
- Leyral G., Vierling É. 2007. Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4^e édition Biosciences et techniques. 87p.
- Leymarios F. C. 2010. Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras: voies d'amélioration par l'alimentation. Thèse de doctorat, Faculté de Médecine de Créteil, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, France. 128 p.
- Mansour L. M. 2015. Etude de l'influence des pratiques d'élevage sur la qualité du lait: effet de l'alimentation. Thèse de doctorat, Université de Ferhat Abbas, 190 p.
- Mialot J.P. 1983. – Technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique. Revue de Médecine Vétérinaire., 159 (11): 1057–1058.
- Ramet J.P. 1985. La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection FAO. Alimentation et nutrition n°48 p26.

- Robinson R.K. 2002. Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milkproducts. Third edition. Edition John Wiley and sons, INC. New York. p780.
- Sablonnière B.2001. Technologie alimentaire .Librairie Eyrolles 5eme Edition - Paris.190p.
- Senoussi A. 2008. Caractérisation de l'élevage bovin laitier dans le Sahara : Situation et perspectives de développement. In Colloque International « Développement durable des productions animales : enjeux, évaluation et perspectives », Alger, 20-21 Avril 2008.
- Steijns J. 2008. Dairy products and health: Focus on their constituents or on thematrix Int. Dairy J 18: 425–435.
- Sutra L., Federighi M., Jouve J. L.1998. Manuel de bactériologie alimentaire. EditionPolytechnica. P 9.
- Titouche Y., Hakem A., Salmi D., Yabrir B., Chenouf N., Chergui A., Chenouf A., Houali K. 2016. Assessment of Microbiological Quality of Raw Milk Produced at Tizi Ouzou Area (Algeria).Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 11 (12):p 854-860.
- Vignola C. L. 2002. Science et technologie du lait: transformation du lait Ecole.Polytechnique De Monterial, Canada, p3-75.
- Veisseyre R. 1975. Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3ème édition, la maison rustique. Paris.
- Wang H., Zhang S., Pratush A., Ye X., Xie J., Wei H., Sun C., Hu Z. 2018. Acclimation of Culturable Bacterial Communities under the Stresses of Different Organic Compounds. Frontiers in microbiology, 9, 225.

Annexe

Annexe n°1 :

Le journal Officiel de la République Algérienne n° 35 du 27/05/1998.

8 JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35		Aouel Safar 1419 27 mai 1998	
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

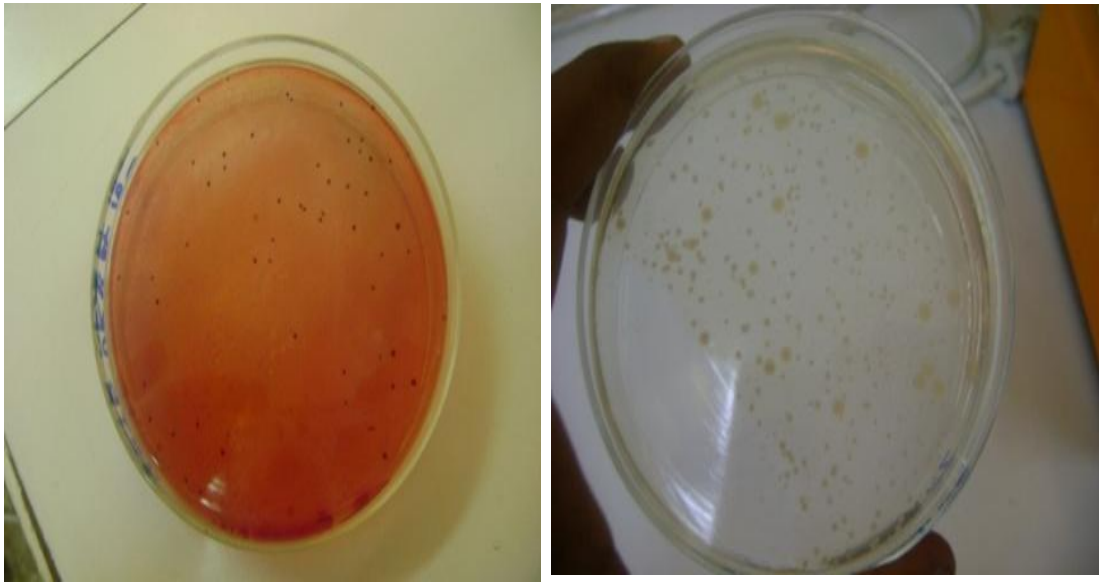
Annexe n°2:

Figure 1. Colonies d'organismes coliformes dans VRBA (à gauche) et bactéries aérobies totales dans des milieux PCA (à droite) sur un échantillon de lait cru cultivé de

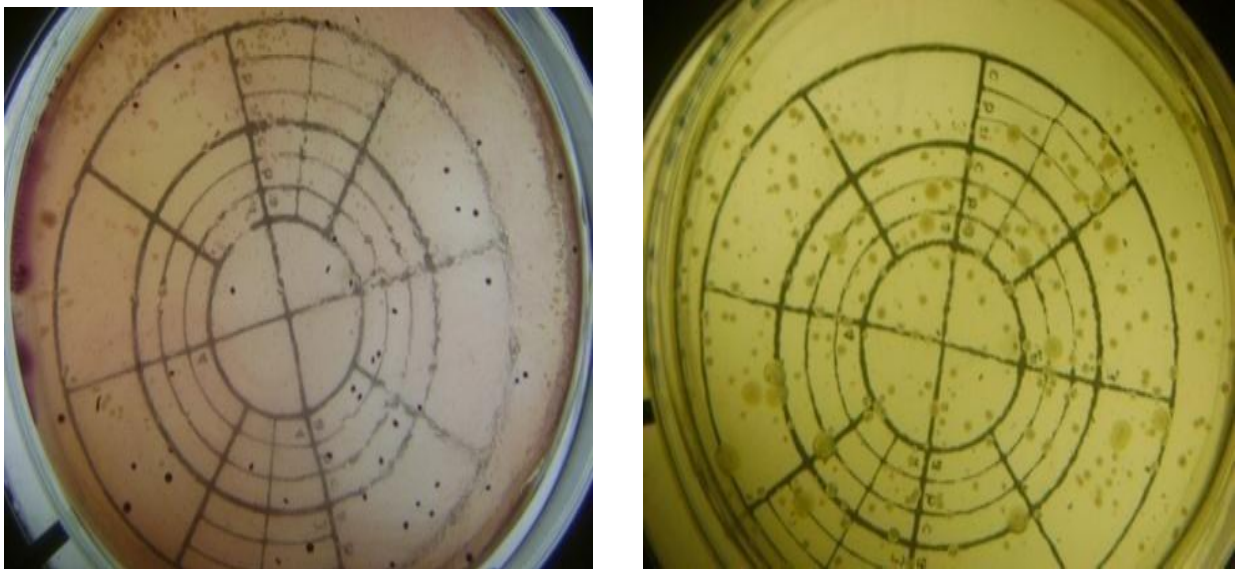


Figure 2. Colonies d'organismes coliformes dans le VRBA (à gauche) et les bactéries totales dans le milieu PCA (à droite) lorsqu'elles sont vues sous le compteur de colonies

ملخص:

يعتبر الحليب غذاء متكامل و متوازن لغناه بالعديد من العناصر الغذائية (البروتينات والدهون والأملاح المعدنية والفيتامينات وغيرها)

تهدف دراستنا إلى تقييم الجودة الميكروبيولوجية لحليب البقر الخام

وفقاً لدراستنا ، أصيبت العينات التي تم تحليلها من دول مختلفة بـ FMAT و القولونيات البرازية. وغياب الجراثيم المسببة للأمراض: *Staphylococcus aureus* ، *Salmonella* ، *Clostridium sulfite-réducteur* ، هذه النتائج حتى عند المستويات المنخفضة، فإنها تشهد على الظروف الصحية المتدهورة أثناء الحلب أو أثناء النقل.

بشكل عام، الحليب الخام المأخوذ في ظل ظروف صحية جيدة يتلوث سريعاً مسبباً تدهور الجودة الصحية

الكلمات المفتاحية: حليب ، بقرة ، جودة ميكروبيولوجية ، جراثيم ممرضة ، ، سالمونيلا ، صحية

Résumé

Le lait est considéré comme un aliment complet et équilibré du fait de sa richesse en plusieurs éléments nutritifs (protéines, lipides, sels minéraux et vitamines...).

Notre étude a pour but de l'évaluation de la qualité microbiologique du lait, cru de vache.

Selon notre étude, les échantillons analysés de différentes payses étaient infectés par FMAT et les coliformes fécaux. et l'absence des germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium sulfite-réducteur*) , Ces résultats Même à des niveaux faibles, ils témoigneraient de conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours de transport.

Mots-clés : Lait, qualité microbiologique , germes pathogène , FMAT, CT, *S.aureus* , *salmonella*, hygiénénique

Abstract

Milk is considered to be a complete and balanced food because of its richness in several nutrients (proteins, lipids, mineral salts and vitamins, etc.).

Our study aims to assess the microbiological quality of raw cow's milk.

According to our study, analyzed samples from different countries were infected with FMAT and fecal coliforms. and the absence of pathogenic germs (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium sulfite-reducing*) ,These results Even at low levels, they would testify to degraded hygienic conditions during milking or during transport.

Keywords: Milk, microbiological quality ,pathogenic germs, FMAT ,CT, *S. aureus* ,*salmonella*, hygienic