

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة 20 أوت 1955- سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée
Intitulé :

Contrôle de la qualité bactériologique du lait de vache de quelques régions de la wilaya de Skikda : Beni Ouelbane, Beni Zid et Skikda ville.

Présenté Par :

- Ketita Hadir
- Boulkrane Ikram

- Chekkat Asma
- Berrehaïel Nesrine

Membre de Jury :

Dr. Laib Imene (MCA)	Présidente	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Dr. Ennaghra Nadjat (MCB)	Examinatrice	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Pr. Chekroud Zohra (Professeur)	Encadrante	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

REMERCIEMENT

D'abord nous tenons à remercier, le bon Dieu de nous avoir permis d'arriver à ce jour, de nous avoir accordé la santé, le courage et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons toute notre gratitude à notre encadrante ***Mme.CHEKROUD Zohra***, Professeur à l'université de 20 aout 1955 SKIKDA pour avoir dirigé notre travail. Nous la remercions pour sa disponibilité, sa gentillesse, ses critiques constructives et ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'il nous a témoigné tout au long de la réalisation de ce travail

Nous exprimons toute notre gratitude aux membres de jury :

Dr. LAIB Imane Maître de conférences A à l'université de 20 aout 1955 SKIKDA pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury.

Dr. ENNAGHRA Nadjat Maître assistante B à l'Université de 20 Aout 1955 Skikda pour avoir bien voulu examiner notre travail.

Comme, nous tenons à remercier également l'ensemble des enseignants qui ont veillé sur notre bonne formation durant le cursus universitaire, ainsi que nos collègues de notre promotion 2022/2023 pour leurs encouragements.

Enfin nous remercions tous ceux qui nous ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant tout, je remercie **Dieu** Tout-Puissant de m'avoir donné la force et la volonté de
poursuivre mes études et
Courage de faire ce modeste travail.

Je dédie ce travail à :

La mémoire de ma chère grand-mère maternelle **FENIKHE Messouda** qui aurait été
fière de ma réussite que dieu bénéfice dans son vaste paradis.

Mon cher père Ali, pour son sens élevé du devoir, son amour, sa confiance totale, son
goût pour le travail bien fait et sa disponibilité à donner une bonne éducation à ses
enfants. Homme de foi, Il nous a toujours conseillé dans le bon sens et nous a assistés
moralelement, matériellement et financièrement.

Ma chère mère KHENNOUS Mounira, pour son amour, son soutien, sa présence
dans ma vie, pour toute son assistance et son encouragement durant toutes mes
années d'études et tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils.

Mes chers frères : **Salah Eddine, Ayhem.**

Tous les membres de ma famille maternelle surtout mes cousines.

Mes chères amies : **Ikram et Ines.**

Et enfin à la personne la plus importante de ma vie : moi-même. Merci d'avoir résisté
et persévéré malgré tout et essayé à chaque fois 'Je t'aime.

Hadir

Dédicace

Merci à *Dieu* qui ma donner la force et la patience de terminer cette étude.

Avec un grand plaisir je dédie ce travail ...

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite et qui a été mon ombre durant toutes les années d'études, à *ma chère mère Chami Fadila*, sans elle je ne serais pas la personne que je suis aujourd'hui.

Au plus adorable et gentil *père Ferhat*, pour sa patience et son encouragement. Il m'a tout donné sans rien recevoir en parallèle. Que ce travail soit le fruit de vos sacrifices consentis pour mon éducation.

A mes chers adorables sœurs surtout *Amina et Manel*, Pour leurs soutiens, leurs encouragements et surtout leurs patience tout au long de mon parcours scolaire.

A mes chers frères *Abdou et Anis*, quediou les protèges et les gardes pour moi.

A mes meilleurs amies *Hadir et Inès*.

A celles qui ont partagé ce travail avec moi ,Nesrine, *Asma et Hadir*, Pour tous les souvenirs et les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et
Je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheurs.

Ikram

Dédicace

Merci à *Dieu* qui ma donner la force et la patience de terminer cette étude.

Avec un grand plaisir je dédie ce travail :

Mes chers parents ma mère et mon père Pour leur patience, leur amour, leurs soutien et leurs encouragements.

À ma cher sœur : *Amel*.

À mon unique cher frère : *Imad Eddine*.

À mon encadreur *Mme Chekroud Zohra* qui mérite tous mon respect et tribut.

À mes enseignants de l'école primaire jusqu'à l'université qui nous ont montré les clés de succès.

À Tous les membres de ma famille, petits et grands.

À mes chères et meilleures amies : *Nesrine et Abir* pour leur soutien moral à la réalisation de ce travail.

À tous ceux qui ont une place dans mon cœur.

Asma

Dédicace

Tout d'abord je remercie *Dieu* pour mon succès.

Je dédie ce travail à :

Ma reine, ma force, ma mère *Lemrabet Nadia*.

Mon père, qui me soutien tout au long de mon parcours et pour ses précieux sacrifices *Fateh*.

Mes chères sœurs : *Abir, Wissal, Ferial, Ranime, Noudjoud*.

Mes chers frères: *Mouhamed Amine, Abdel basset, Seif Baraa*.

Mes grands-parents *Salah et Mahfoud*

Mes grandes mères *Arifa et Zohra*, mes tantes, oncles.

Toutes mes chères copines.

Nesrine

Sommaire :

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 01

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1. Généralités sur le lait de vache	03
1.1. Définition du lait de vache	03
1.2. Composition du lait	03
1.3. Les principaux nutriments du lait	04
1.3.1. Les minéraux	04
1.3.2. Les vitamines	05
1.3.3. Protéines	06
1.4. Importance du lait	07
1.4.1. Importance alimentaire et nutritionnelle	07
1.4.2. Importance Hygiénique	07
1.5. Caractéristiques du lait	07
1.5.1. Caractéristique organoleptique	07
1.5.2. Caractéristiques physico-chimiques du lait	08
1.6. Consommation du lait en Algérie	10
2. Microbiologie du Lait	10
2.1. Origines des micro-organismes	11
2.2. Flore du lait	11

2.2.1. Flore originelle	11
2.2.2. Flore de contamination	12
2.2.3. Flore d'altération	12
2.2.4. Flore pathogène	13
2.3. Critères de la qualité du lait cru de vache	14

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Présentation du site d'accueil.....	16
2. Matériel utilisé.....	16
3. Méthode.....	18
3.1. Echantillonnage.....	18
3.2. Analyse bactériologique du lait cru de vache	19
3.2.1. Préparation de la suspension mère	19
3.2.2. Préparation des dilutions décimales	19
3.2.3. Dénombrement de la FMAT	20
3.2.4. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux.....	21
3.2.5. Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	21
3.2.6. Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	22
3.2.7. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	25
3.2.8. Recherche des salmonelles.....	26

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Analyse bactériologique du lait cru de vache	29
1.1. Flore mésophile aérobie totale (FMAT)	29
1.2. Coliformes fécaux	30
1.3. <i>Escherichia coli</i>	32
1.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	33

1.5. <i>Clostridium</i> sulfito- réducteurs	36
1.6. <i>Salmonella</i> sp	38
Conclusion	40
Références bibliographiques	41
Annexes	

Résumé :

Au cours de cette étude nous avons évalué la qualité microbiologique du lait cru de vache collecté de trois différentes régions de la wilaya de Skikda (Skikda ville, Beni Ouelbane et Beni Zid). Des analyses bactériologiques ont été réalisées sur 12 échantillons à raison d'un échantillon de chaque région par semaine pendant une période d'un mois. Les germes recherchés et /ou dénombrés sont : la flore mésophile aérobie totale, les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfito-réducteurs et *Salmonella* sp. Les résultats obtenus montrent que la charge microbienne de la flore mésophile aérobie totale varie entre $2,9.10^4$ UFC/ml et $3,63.10^6$ UFC/ml sans toutefois dépasser le seuil de contamination déterminé par la réglementation algérienne ($m=3.10^5$ UFC/ml, $M=3.10^6$ UFC/ml) à l'exception du premier échantillon de la région de Beni Zid ($3,63.10^6$ UFC/ml) qui dépasse la valeur M. Le taux des coliformes fécaux est située entre 0 et $3,21.10^3$ UFC/ml est inférieur à la norme algérienne ($m=5.10^2$ UFC/ml) dans la majorité des échantillons analysées sauf le quatrième échantillon de la région de Beni Ouelbane ($3,21.10^3$ UFC/ml) sans toutefois dépasser le seuil limite d'acceptabilité ($M=5.10^3$ UFC/ml). Les germes pathogènes *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfito-réducteurs et les salmonelles sont totalement absents dans tous les échantillons. Le lait étudié est jugé donc de bonne qualité microbiologique.

Mots clés :

Analyses bactériologiques, Lait cru, Normes, Qualité bactériologique, Skikda.

Abstract:

During this study, we evaluated the microbiological quality of raw cow's milk collected from three different regions of Skikda city (Skikda city, Beni Ouelbane and Beni Zid). Bacteriological analyzes were carried out on 12 samples at the rate of one sample from each region per week for a period of one month. The germs searched for and / or counted are: Total aerobic mesophilic flora, faecal coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfito-reducers and *Salmonella*. The obtained results show that the microbial load of Total aerobic mesophilic flora varies between $2,9.10^4$ CFU/ml and $3,63.10^6$ CFU/ml without however exceeding the contamination threshold determined by body Algerian regulations ($m=3,10^5$ CFU/ml, $M=3.10^6$ CFU/ml) with the exception of the first sample from Beni Zid region ($3.63.10^6$ CFU/ml). The rate of faecal coliforms is between 0 and $3.21.10^3$ CFU/ml and it is lower than the Algerian standards ($m=5.10^2$ CFU/ml) in the majority of the analyzed samples except the fourth sample from Beni Ouelbane region ($3,21.10^3$ CFU/ml) without however exceeding the limit of acceptability ($M=5.10^3$ CFU/ml). Pathogenic germs *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfito-reducers and *Salmonella* are completely absent in all the samples. The studied milk is therefore judged to be of a good bacteriological quality.

Key words:

Bacteriological analysis, Bacteriological quality, raw milk, Skikda, Standards.

ملخص:

خلال هذه الدراسة قمنا بتقييم الجودة الميكروبيولوجية لحليب البقر الخام الذي تم جمعه من ثلاث مناطق مختلفة بولاية سكيكدة (مدينة سكيكدة، بني ولبان وبني زيد). أجريت التحاليل البكتريولوجية على 12 عينة بمعدل عينة واحدة من كل منطقة أسبوعياً ولمدة شهر. الجراثيم التي يتم البحث عنها و / أو احتسابها هي: les coliformes ، flore mésophile aérobie totale ، *Staphylococcus aureus* ، *Salmonella sp* و *Clostridium sulfito-réducteurs* . أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الحمل الميكروبي لـ flore mésophile aérobie totale يتراوح بين $2,9 \cdot 10^4$ UFC/ml و $3,63 \cdot 10^6$ UFC/ml دون تجاوز حد التلوث الذي تحدده اللوائح الجزائرية ($m = 3 \cdot 10^5$ C/ml , $M = 3 \cdot 10^6$ UFC/ml) باستثناء العينة الأولى من منطقة بني زيد $3 \cdot 10^6$ UFC/ml والتي تتجاوز قيمة M. يتراوح مستوى coliforms fécaux بين 0 و $21 \cdot 10^3$ UFC/ml ، أقل من المعيار الجزائري ($m = 5 \cdot 10^2$ UFC/ml) في غالبية العينات التي تم تحليلها باستثناء العينة الرابعة من منطقة بني ولبان ($3,21 \cdot 10^3$ UFC/ml) دون تجاوز حد القبول ($M = 5 \cdot 10^3$ UFC/ml). الجراثيم المسببة للأمراض *Staphylococcus aureus* و *Clostridium sulfito-réducteurs* و *Salmonella* غائبة تماماً في جميع العينات. لذلك فإن الحليب الذي تمت دراسته يعتبر ذو جودة بكتريولوجية جيدة.

الكلمات المفتاحية:

الحليب الخام، الجودة الميكروبيولوجية، التحليلات البكتريولوجية، المعايير، سكيكدة.

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
ATP	Adénosine-Triphosphate
C°	Degré Celsius
D°	Degré Dornic
D/C	Double Concentration
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia. coli</i>
EPT	Eau Peptonée Tamponée
FMAT	Flore Mésophile Aérobie Totale
FAO	Food and Agriculture Organisation
FAD	Flavine Adénine Dinucléotide
FMN	Flavine Mononucléotide
g	Gramme
H₂S	Sulfure d'Hydrogène
H₂O₂	Peroxyde d'Hydrogène
H₂O	Dihydrogène Monoxyde
ISO	International Standards Organisation
J.O.R.A	Journal Officiel de République Algérienne
Kg	Kilogramme
m⁻³	1 / Mètre cube
Mm	Millimètre
ml	Millilitre
Na Cl	Chlorure de Sodium
NA	Sodium
NAD	Nicotinamide adénine dincléotide
NADP	Nicotinamide Adénine Dinucléotide phosphate
pH	Potentiel d'hydrogène

P₂O₃	Trioxycde de phosphore
PCA	Plate Count Agar
SFB	Bouillon Sélénite Cystéine
SM	Solution mère
S/C	Simple Concentration
TIAC	Toxi-infection alimentaire collectif
TSE	Eau Tryptone Sel
TSI	Triple Sugar Iron
UFC	Unité Formant Colonie
µm	Micro mètre
Vit. A	Vitamine A
Vit. B	Vitamine B
Vit. D	Vitamine D
VRBL	Lactosée Biliée au Cristal Violé et au Rouge neutre
%	Pourcent

Liste de figures

N°	Titre	page
1	Photographie du lait cru de vache	16
2	La Préparation de la Solution mère (10^{-1})	19
3	La Préparation des dilutions décimales	20
4	Enrichissement des Staphylocoques en milieu Giolitti Contoni additionné de tellurite de potassium	23
5	Chauffage des tubes contenant les dilution 10 minutes à 80°C	26
6	L'enrichissement sur Bouillon Sélénite DC	28
7	Photographie des colonies de la FMAT sur milieu PCA	29
8	Photographie des colonies des Coliformes fécaux sur gélose VRBL	31
9	Photographie du test d'indole	32
10	Résultat d'isolement sur milieu Chapman	34
11	Résultat de la coloration de Gram à l'objectif x100	34
12	test de la catalase	34
13	Résultat du test de la coagulase	35
14	Résultat de l'ensemencement du milieu Viande foie	37
15	Résultat de l'isolement sur milieu Hektoen	38
16	Résultat de l'ensemencement du milieu TSI	38

Liste de tableaux

N°	Titre	Page
1	Composition du lait de vache (Alais et al., 2008)	04
2	Les principaux propriétés des minéraux (Kabir ,2015)	05
3	Les principaux propriétés des vitamines (Kabir, 2015)	06
4	Les principaux propriétés des protéines (Kabir, 2015)	07
5	Caractéristiques physico- chimiques du lait (Veisseyre, 1979)	10
6	Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)	11
7	Sites des échantillons et dates de prélèvement	18
8	Les étapes de coloration de Gram	24
9	Les résultats de dénombrement de la FMAT	30
10	Les résultats du dénombrement des coliformes fécaux	31
11	Les résultats de la recherche d' <i>Escherichia coli</i>	33
12	Les résultats de la recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
13	Les résultats de la recherche et dénombrement de <i>Clostridium</i> sulfito- réducteurs	37
14	Les résultats de la recherche des Salmonelles	39

Introduction

Introduction

La qualité du lait de vache a été un sujet de préoccupation ces dernières années, en raison de diverses crises sanitaires et de la pression croissante exercée par les consommateurs pour des produits alimentaires plus sains et de meilleure qualité notamment que cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des Algériens. En regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présente une forte concentration en nutriments : des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines, et 87% d'eau. Il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale. En fait, le lait n'a pas seulement un intérêt alimentaire, il occupe une place centrale dans l'imaginaire des algériens (**Senoussi, 2008**). Ce n'est d'ailleurs pas par hasard qu'il est offert comme signe de bienvenue, traduisant, ainsi par l'acte de notre tradition d'hospitalité. Sur le plan alimentaire, il est à la base de nombreuses préparations culinaires traditionnelles très ancrées dans l'histoire (Jben, Klila, D'hen, L'ben, Raïb...) (**Aagaard, 1998**).

Le lait est considéré comme étant un milieu biologique complexe, celui-ci est constitué de tous les composants nécessaires au développement microbien. Sa qualité peut donc être affectée en présence de microorganismes. Cette présence microbienne indésirable et cette contamination peuvent être dues à plusieurs facteurs (pendant ou après la traite) (**Bouarissa et al., 2020**).

La problématique de la contamination bactériologique du lait de vache en Algérie revêt une importance cruciale tant sur le plan de la santé publique que sur celui de l'économie nationale. En effet, les conséquences d'une mauvaise qualité du lait peuvent être désastreuses, allant des risques sanitaires pour les consommateurs à la détérioration de la réputation des produits laitiers algériens sur les marchés nationaux et internationaux.

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**) où *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp, et *Clostridium* sp sont les plus fréquents.

C'est dans ce contexte que se situe notre travail dont l'objectif principal est d'effectuer un ensemble d'analyses microbiologiques (recherches et/ou dénombrements de la flore mésophile aérobie totale, les coliformes fécaux, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, les *Clostridium* sulfito-réducteurs et les salmonelles) sur le lait de vache cru provenant de trois régions différentes de la wilaya de Skikda pour évaluer sa qualité bactériologique afin d'estimer les dangers qu'il peut avoir sur la santé publique.

Introduction

A ce propos nous attirons votre attention que notre travail a été structuré comme suit :

- La première partie comporte un chapitre de synthèse bibliographique. Ce dernier est consacré essentiellement à présenter des généralités sur le lait de vache et sa microbiologie.
- Le deuxième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisés pour réaliser les analyses microbiologiques.
- Quant au troisième chapitre, il expose les résultats de la partie expérimentale ainsi que leur discussion. Enfin, une conclusion qui comporte une synthèse globale des résultats les plus importants de ce travail.

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1. Généralités sur le lait de vache

1.1. Définition du lait de vache

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 interrompue 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**). Il est de couleur blanche, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré (**Aboutayeb, 2009**).

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 pathogène). Il doit être conservé à la réfrigération et consommé dans les 2 heures (**Fredot, 2006**). Il doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. 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 (**Jeantet et al., 2008**).

1.2. Composition du lait

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition générale est représentée dans le (**Tableau1**). Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation, période de lactation, ainsi que l'état de santé de l'animal 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**).

Le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E (**Ghaoues, 2011**).

Tableau1 : 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 -Matières grasse -Lécithine (phospholipides) -Insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérol)	35 34 0,5 0,5	Emulsion des globules gras (3 à 5µm)
Protides -Caséine -Protéines solubles (Globulines, Albumines) -Substances azotées non protéique	34 27 2,5 1.5	Suspension micellaire de phospho caséinate de calcium (0.08-0.12µm) Solution (colloïdale) Solution (vraie)
Sels - Acide citrique - Acide phosphorique (P ₂ O ₃) - Chlorure de Sodium (Na Cl)	9 2 2,6 1,7	Solution ou état colloïdale
Constituants divers (vitamines, enzymes gaz dissous)	Trace	
Extrait sec total Extrait sec non gras	127 92	

1 .3. Les principaux nutriments du lait

1.3.1. Les minéraux

La fraction minérale est considérée mineure dans la composition du lait. En revanche, elle est importante tant d'un point de vue structural que nutritionnel et technologique. Le lait et ses

Synthèse bibliographique

dérivés constituent le principal apport de calcium et de phosphore dans la ration alimentaire. Les principaux minéraux sont calcium, phosphore, magnésium, potassium et zinc (**Tableau 2**).

Tableau 2 : les principaux propriétés des minéraux (Kabir, 2015).

Minéraux	Fonctions	Intérêt sanitaire
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. Equilibre 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.

1.3.2. Les 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 (**Tableau 3**).

Tableau 3 : les principaux propriétés des vitamines (Kabir, 2015).

Vitamines	Fonctions	Intérêt sanitaire
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 du métabolisme. La synthèse des constituants lipidiques.	Prévention de l'insomnie et de la fatigue.
Niacine	Coenzyme NAD et synthèse 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 intestinal et du calcium.	Prévention de problèmes de développement osseux.
Pyridoxine	Cofacteur de réactions des synthèses et de modification d'acides aminés.	Prévention de convulsions (déficit en sérotonine).
Thiamine	Coenzyme de réactions du métabolisme des glucides.	Prévention du bériberi (déficit natal, cardiaque...).

1.3.3. Protéines

La composition du lait en acides aminés est voisine de celle de l'œuf (produit de référence). Il contient 8 à 10 acides aminés essentiels dont principalement la lysine, la thréonine, l'histidine,

particulièrement indispensable chez le nourrisson, et la méthionine chez les personnes âgées (Jeantet et al., 2008).

Tableau 4 : Les principaux propriétés des protéines (Kabir, 2015).

Protéines	Fonctions	Intérêt sanitaire
Lysine, Thréonine, Histidine, Méthionine, Leucine, Tryptophane Phénol, Valine.	Sources d'acides aminés essentiels à la synthèse des protéines, des parois cellulaires, fibre musculaires, enzymes et hormones.	Prévention contre les retards de croissance. Résistance et défense contre les infections.

1.4. Importance du lait

1.4.1. Importance alimentaire et nutritionnelle

Le lait est un édifice physico-chimique extrêmement complexe qui contient des trésors de richesses nutritionnelles (Paccalin et Galantier, 1986). C'est un liquide très aqueux mais dont la composition pondérale en glucides, lipides et protides est remarquablement équilibrée (respectivement comme 1,5 g ; 1,0g et 1,0g), avec en plus un choix intéressant en sels, en vitamines et en enzymes et un pouvoir calorifique de 650 calories environ pour 1000 g de lait, ce qui rend le lait de vache un excellent aliment pour l'homme (Alais et Linden, 1987).

1.4.2. Importance hygiénique

Le lait par sa constitution physico-chimique et biologique, est un excellent aliment pour les mammifères et particulièrement l'homme, il le sera aussi pour les micro-organismes. Du point de vue physiologique le lait est un émonctoire de germes pathogènes, de substances dangereuses et de résidus toxiques (Fredot, 2006).

1.5. Caractéristiques du lait

1.5.1. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques constituent la base de l'appréciation de la qualité du lait (Vierling, 2003). La couleur, l'odeur, la saveur et la viscosité ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

➤ Couleur

Le lait est de couleur blanche mate, qui est due en grande partie à la matière grasse et aux pigments de carotène. La vache transforme le β -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (**Fredot, 2005**). Dans le lait les lipides se trouvent sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines. Ces agrégats diffractent la lumière et dispersent les rayons lumineux sans les absorber (**Reumont, 2009**).

➤ Odeur

Le lait n'a pas d'odeur propre, il s'en charge facilement au contact de récipients mal odorants et mal lavés. C'est surtout la matière grasse qui réalise fortement ces fixations. Lors de l'acidification du lait, l'odeur devient aigrelette sous l'influence de la formation d'acide lactique (**Chetoune, 1982**).

➤ Saveur

La saveur du lait normal frais est agréable alors que 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 parfois de même du colostrum (**Rheotest, 2010**).

➤ Viscosité

Elle est en fonction de l'espèce, on distingue :

- Un lait visqueux chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores et femme), qui est désigné par un lait albumineux.
- Un lait moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que celui de la vache), on l'appelle un lait caséineux (**Alais, 1984**).

1.5.2. Caractéristiques physico-chimiques du lait

Les caractéristiques physico-chimiques du lait définissent la qualité d'un lait frais, non contaminé.

➤ Point d'ébullition

Il est défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la solution est égale à la pression appliquée. Il est légèrement supérieur à celui de l'eau, soit : 100.5°C (**Jean et al., 2002**).

➤ Densité

La densité d'un liquide est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume d'eau. Comme la masse volumique de l'eau à 4°C est pratiquement égale à 1000Kg.m⁻³, la densité du lait à 20°C par rapport à l'eau à 4°C est d'environ 1,030. Il convient de signaler que le terme anglais «density» prête à confusion puisqu'il désigne la masse volumique et non la densité (**Pointurier, 2003**).

➤ 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 °C et - 0,55°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°C (**Goursaud, 1985**).

La congélation du lait à -0.55°C est la caractéristique la plus constante du lait et sa mesure est utilisée pour déceler le mouillage. Si le point de congélation est supérieur à -0.53°C on suspectera une addition d'eau (**Mahaut et al., 2000**).

➤ Acidité du lait

L'acidité de lait est une notion importante pour l'industrie laitière. Elle permet de juger l'état de conservation du lait. Elle résulte d'une titration qui consiste à ajouter au lait un volume nécessaire de solution alcaline titrée pour atteindre le point de virage d'un indicateur, en générale la phénophtaléine. Elle est exprimée en "degré Dornic" (°D), ce dernier exprime la teneur en acide lactique : 1°D = 0,1g d'acide lactique. L'acidité titrable est comprise entre 15 °D et 18 °D (**Alais, 1984**).

➤ pH

Le pH du lait est compris entre 6,4 et 6,8. C'est la conséquence de la présence de la caséine et des anions phosphorique et citrique, principalement. Le pH n'est pas une valeur constante, il peut varier au cours du cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation. Le colostrum a un pH plus bas, du fait de la teneur élevée en protéines (**Gaucheron et al., 2008**). Le pH du lait change d'une espèce à l'autre.

Tableau 5 : Caractéristiques physicochimiques du lait (Veisseyre, 1979).

Caractéristiques	Valeurs	
Densité à 15°C	1030-1034	
Chaleur spécifique	0,93	
Point de congélation	-0.55°C	
pH	6,6 à 6,8	
Acidité	16 à 18 (°D)	
Indice de réfraction	1,35	
Eau	900 à 910 ml	
Extrait de sec total	Matière grasse : 35-45 g	Extrait sec-lactose 47-52g

1 °D = 0,1 g d'acide.

1.6. 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 ans et par habitant (**Bekhouche-guendouz, 2011**). L'Algérie est classée comme le second pays importateur au monde de lait et de ses dérivés (**Elhassani, 2013**). La consommation des produits laitiers est en hausse continue ; l'Algérie demeure le premier consommateur du lait au sein du grand Maghreb (**Leksir, 2012**).

2. Microbiologie du Lait

Le lait (pH = 6,5) est un milieu favorable à la croissance des micro-organismes. En effet, il permet aux bactéries, aux levures et aux moisissures de s'y développer. C'est donc une denrée très périssable (**Ait Abdelouahab, 2001**), ceci est dû à la richesse de sa composition en matière grasse, en lactose, en protéines, en minéraux, en vitamines et en eau (à 87 %) le rendant susceptible d'être altéré et attaqué par différents types de micro-organismes (**Guiraud, 2003**).

Le lait ne doit pas contenir de bactéries pathogènes. Leur présence peut y représenter une menace pour la santé du consommateur. A sa sortie du trayon, le lait est généralement de bonne qualité mais commence aussi tôt à se dégrader dû à l'action des bactéries pouvant provenir de différentes sources de contamination (**Vignola, 2002**).

2.1. Origines des micro-organismes

En domaine alimentaire, il existe trois sources possibles dues à la présence de micro-organismes dans un aliment. Ils sont soit :

- Préexistants dans les matières premières ou dans la manipulation ou la transformation des aliments.
- Ajoutés accidentellement lors de la transformation ultérieure des aliments
- Ajoutés volontairement (**Ait Abdelouahab, 2001**).

2.2. Flore du lait

2.2.1. Flore originelle

Le lait contient peu de micro-organismes, lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes / ml et moins de 1 coliformes / ml) (**Tableau 6**). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores, microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles (**Larpent, 1997**).

Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées (Lacténines) mais leur action est de très courte durée (1heure environ) (**Guiraud, 1998**). D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux pour l'homme, il peut s'agir par exemple d'agents de mammites ou de germes d'infection générale, qui peuvent passer dans le lait en absence d'anomalie du pis tels que les salmonelles, les brucelles et les bacilles tuberculeux. Les germes ordinaires du pis ne présentent pas de danger sanitaire mais peuvent se développer abondamment dans le lait. Les autres peuvent être responsables de maladies ou d'intoxications graves qui sont généralement limitées par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs (**Bourgeois et al., 1996**).

Tableau 6 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).

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

2.2.2. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des micro-organismes 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).

Le lait se contamine par des microbes d'origines diverses :

✓ Les fèces et les téguments de l'animal induisent la présence des : Coliformes, des entérocoques, de *Clostridium* sp et éventuellement la présence des entérobactéries pathogènes (*Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Yersinia* sp...)

✓ Le sol : *Streptomyces* sp, *Listeria* sp, les bactéries sporulées, les spores fongiques, etc.

✓ La litière et l'alimentation induisent la présence de la flore banale variée, en particulier les lactobacilles et *Clostridium butyricum*.

✓ L'air et l'eau induisent la présence de flores diverses dont *Pseudomonas* sp, les bactéries sporulées, etc.

✓ L'équipement de traite et de stockage du lait peut induire la présence de microcoques, de levures et de la flore lactique (*Streptococcus* sp, *Lactococcus* sp, *Enterococcus* sp, *Leuconostoc* sp ...), cette flore étant souvent spécifique d'une usine.

✓ Le manipulateur : présence des staphylocoques (dans le cas d'une traite manuelle). Ce dernier peut également contaminer le lait par des germes provenant d'expectorations, de contaminations fécales, etc.

✓ Vecteurs divers (insectes en particulier) : contamination par des germes fécaux (Guiraud, 2003).

2.2.3. Flore d'altération

Seules quelques-unes des espèces présentes seront responsables de l'altération du produit, elles sont d'abord sélectionnées en fonction des conditions physico-chimiques mises en jeu (nature de produit, pH, pression partielle en oxygène, température de stockage, etc.) (Bonnefoy et al., 2002).

➤ Les levures et les moisissures

Les levures et les moisissures sont des cellules eucaryotes rattachées au règne végétal par leur structure cellulaire. Regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre que dans tous les autres produits laitiers (Alais, 1984).

➤ Les Streptocoques fécaux

Ces bactéries peuvent contaminer le lait lorsqu'il est en contact avec des matières fécales pendant la traite ou le stockage, ce qui peut entraîner une altération de lait. L'implication des streptocoques fécaux dans l'altération du lait est principalement liée à leur potentiel de fermentation et de production d'enzymes. Parmi les effets des streptocoques fécaux sur le lait, nous citons :

Production de gaz : les streptocoques fécaux sont capables de fermenter les glucides présents dans le lait, tels que le lactose, ce qui entraîne la production de gaz, notamment du dioxyde de carbone. Cela peut provoquer une augmentation de la pression à l'intérieur de l'emballage de lait, entraînant des problèmes d'emballage et une altération du produit.

Altération de la saveur : certains streptocoques fécaux peuvent produire des métabolites volatils responsables d'une odeur et d'une saveur désagréables dans le lait. Cela peut rendre le lait impropre à la consommation ou altérer sa qualité sensorielle.

Dégradation des composants du lait : les streptocoques fécaux peuvent également produire des enzymes protéolytiques et lipolytiques qui dégradent les protéines et les lipides présents dans le lait. Cela peut entraîner une diminution de la valeur nutritionnelle du lait et une altération de sa texture.

Il est important de noter que la présence des streptocoques fécaux dans le lait est considérée comme une contamination et peut constituer un risque pour la santé, car certains de ces micro-organismes peuvent être pathogènes (**Almeida et al., 2011**).

2.2.4. Flore pathogène

Les germes pathogènes auxquels on accorde une importance particulière, en raison de la gravité ou de la fréquence des risques qu'ils présentent sont cités ci-dessous :

- Les principales bactéries infectieuses : *Salmonella* sp. *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* et *Campylobacter* sp.
- Les principales bactéries toxigènes : *Staphylococcus aureus* et *Clostridium botulinum* (**Vignola, 2002**).

➤ Les coliformes

Les coliformes sont des bactéries Gram (-) non sporulées, aéro-anaérobies facultatives (**Billon et Sauve, 2009**). D'un point de vue technologique, certains coliformes sont lactiques et fermentent le lactose sur un mode hétéro fermentaire. Ils peuvent se retrouver dans tous les types de lait. Ce sont des germes qui vivent dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Leur présence est un signe de contamination lors de la traite et pendant les manipulations et transvasements multiples que subissent les produits avant la commercialisation (**Badio, 2000**).

➤ Les staphylocoques

Le genre Staphylocoque appartient à la famille des Staphylococcaceae. Ce sont des coques à Gram positif, non sporulés et immobiles. Parmi les staphylocoques coagulase positive, seules les souches productrices d'entérotoxine sont impliquées dans une intoxication alimentaire (**Leyrale et Vierling, 2007**).

Staphylococcus 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 (**Cuq, 2007**). **M**

Staphylococcus aureus est le micro-organisme pathogène le plus souvent incriminé dans des cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) par le lait et les produits laitiers. Elle déclenche des nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et maux de tête voire des conséquences plus graves chez les jeunes enfants, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées (**Grosjean et al., 2011**).

➤ Les Salmonelles

Salmonella sp est une bactérie naturellement présente dans l'intestin des animaux (en particulier chez les volailles et les porcs), des oiseaux, des reptiles, de certains animaux de compagnie et de certaines personnes. Elle est également présente dans l'environnement et peut contaminer le lait lors de la production à la ferme (**Van Kessel et al., 2004**). Les personnes qui consomment du lait contaminé par les salmonelles sont susceptibles de contracter la salmonellose. Comme dans le cas d'autres toxi-infections alimentaires les symptômes de la salmonellose ressemblent à ceux de la grippe (**Streit et al., 2006**).

2.3. Critères de la qualité du lait cru de vache

La qualité alimentaire est nécessaire à la protection sanitaire des consommateurs (**Sablonnière, 2001**). 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. Il doit être conservé immédiatement après la traite à une température inférieure ou égale à 6 °C et 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 fixé à 72 heures au maximum (**J.O.R.A, 1993**).

Synthèse bibliographique

-Le lait ne doit pas :

- Etre coloré, malpropre ou malodorant.
- Provenir d'une traite opérée moins de 7 jours après le part.
- Provenir d'animaux atteints de maladies contagieuses ou de mammites.
- Contenir des résidus d'antibiotiques, antiseptiques, des pesticides.
- Coaguler à l'ébullition
- Subir de soustraction ou de substitution de ses composants nutritifs.
- Subir de traitement, autres que le filtrage ou des procédés thermiques d'assainissement susceptibles de modifier la composition physique ou chimique sauf lorsque ces traitements sont autorisés (**J.O.R.A, 1993**).

Chapitre 2

Matériel et méthodes

1. Présentation du site d'accueil

La présente étude a été effectuée au niveau de l'unité de bactériologie alimentaire au sein du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Skikda pendant une période d'un mois, de **02/04/2023** jusqu'au **02/05/2023**.

Le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Skikda se situe à Merdj Eddib, sortie Ouest de la ville, Il a ouvert ses portes en 23 Mars 2014 après réhabilitation et il est composé de plusieurs unités :

✓ Le Rez de chaussé : qui est constitué du bureau d'accueil et d'orientation, bureau du chef de centre, le secrétariat, une salle de prélèvement, un laboratoire pour les analyses médicales, unité de dépistage du corvidé 19 et unité de CD (Centre de dépistage VIH, hépatite et syphilis).

✓ Le premier étage qui comporte aussi plusieurs unités : unité d'épidémiologie et de vaccination, unité de bactériologie alimentaire et contrôle de qualité, colimétrie, biochimie et hormonologie, parasitologie-mycologie et dépistage du paludisme en plus d'une unité de dépistage du cancer.

2. Matériel utilisé

Au cours de ce travail, nous avons utilisé le matériel suivant :

❖ Matériel biologique

Le lait cru de vache a été collecté de : Skikda ville, Beni Zid, Beni Ouelbane. **(Figure 1)**.



Figure 1 : Photographie du lait cru de vache.

Matériel et méthodes

❖ Matériel Expérimentale

- Etuve (incubateur)
- Bain marie
- Autoclave
- Microscope optique
- Anse de platine
- Bec benzène
- Pipettes pasteurs
- Pipettes graduées
- Boîtes de pétri stériles
- Tubes à essais
- Lames et lamelles
- Flacons de 250 ml stériles
- Une glacière pour le transport des échantillons

❖ Milieux de culture ; réactifs et colorants

-**Plat Count Agar (PCA)** : pour le dénombrement de la flore totale mésophile aérobie à 30°C.

- **Milieu Hektoen**: pour l'isolement des salmonelles.

-**Milieu Chapman** : pour l'isolement des staphylocoques.

- **Gélose Viande-Foie additionnée d'alun de fer et sulfite de sodium** : pour la recherche et le dénombrement des spores des anaérobies sulfito-réducteurs.

-**Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge neutre (VRBL)** : pour la recherche et le dénombrement des coliformes fécaux.

-**Triple Sugar-Iron Agar (TSI)** : il permet de mettre en évidence l'attaque du glucose, lactose et/ou du saccharose ainsi que la production d'H₂S et /ou de gaz.

-**Bouillon Urée-Indole** : il permet l'identification des germes, par la recherche de l'uréase, le tryptophane désaminase (TDA) et la production d'indole.

- **Réactif de Kovacs** : pour la recherche de l'indole.

-**Bouillon Sélénite Cystéine (SFB) double concentré (D /C) et simple concentré (S /C)** : pour l'enrichissement des salmonelles.

-**Bouillon de Giolitti Contoni additionnée de Tellurite de Potassium** : pour l'enrichissement des staphylocoques.

-**Bouillon Cœur Cerveille** : pour la réalisation du test de coagulase.

Matériel et méthodes

-**Eau Peptonée Tamponnée** : milieu de revivification, utilisé pour le pré-enrichissement des salmonelles.

-**Eau Tryptone Sel (TSE)** : diluant destiné à la préparation des solutions mères et les dilutions décimales.

- **Eau Oxygénée** : pour la réalisation de test de catalase.

-**Violet de gentiane, fuchsine, alcool, lugol et eau distillée** : pour la coloration de Gram.

-**Plasma de lapin lyophilisé** : pour la détection de la coagulase libre produite par *Staphylococcus aureus*.

-**Huile à immersion** : pour l'amélioration de l'observation microscopique à l'objectif x100.

3. Méthodes

3.1. Echantillonnage

12 échantillons ont été prélevés à partir du lait de vache cru à raison d'un échantillon par semaine de chacune de ces trois régions de la wilaya de Skikda : Beni Zid, Beni Ouelbane et Skikda ville, afin de réaliser le contrôle de leur qualité microbiologique (**Tableau 7**). Avant de faire les prélèvements, nous avons respecté certaines conditions d'asepsie recommandées pour éviter que le lait soit contaminé par des germes provenant de la peau de la mamelle ou de l'environnement.

Pour assurer un prélèvement de bonne qualité, nous avons désinfecté les mains de l'opérateur, et aussi nettoyé et séché le mamelon de chaque glande mammaire (**Beldjilali, 2015**). Les 3-4 premiers jets du lait étaient observés et jetés afin de nettoyer le canal galactophore de tous les débris qui auraient pu rentrer dans le pis par voie ascendante. Les échantillons ont été prélevés dans des flacons en verre de 250 ml. Nous avons également étiqueté chaque flacon avec des étiquettes portant le numéro de l'échantillon, la race, la date, et le lieu du prélèvement. 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 soient acheminés aux laboratoires.

Tableau 7 : Sites des échantillons et dates de prélèvement.

Régions	Echantillons	Date de prélèvement
Beni Ouelbane Beni Zid Skikda ville	01	01/04/2023
	02	08/04/2023
	03	15/04/2023
	04	22/04/2023

3.2. Analyse bactériologique du lait cru de vache

Dans cette partie nous allons essayer d'évaluer la qualité bactériologique du lait cru collecté de différentes régions de la wilaya de Skikda afin d'estimer les dangers qu'il peut avoir sur la santé publique. Pour ce faire nous avons suivi la démarche suivante :

1- Recherche et / ou dénombrement de la flore aérobie mésophile totale, des coliformes fécaux, des *Clostridium* sulfito-réducteurs et de *Staphylococcus aureus*.

2-Recherche de *Salmonella* sp.

3-Comparaison des résultats avec les normes indiquées dans le journal officiel de la république algérienne.

3.2.1. Préparation de la suspension mère

Inoculer 25ml de lait cru dans 225ml du milieu Eau Tryptone Sel (TSE) puis mélangé et homogénéisé pour obtenir une solution de concentration (10^{-1}). Cette solution de dilution 10^{-1} est appelée solution mère (SM). Elle servira à la préparation d'autres dilutions ou à ensemercer des milieux de culture pour la recherche des germes. (**Figure2**).

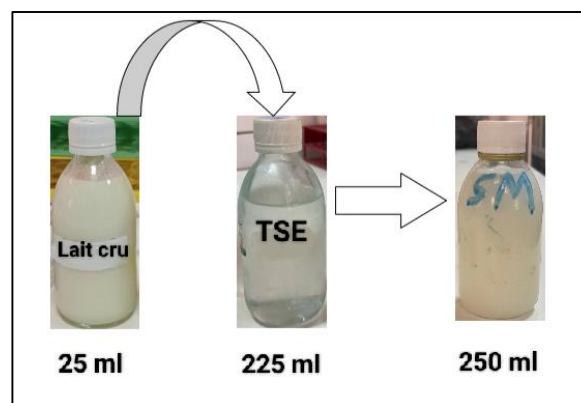


Figure 2 : La préparation de la solution mère (10^{-1}).

3.2.2. Préparation des dilutions décimales

Les dilutions serviront au dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT), ainsi qu'à la recherche et le dénombrement des coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et *Clostridium* sulfito- réducteurs pour ce faire nous suivons le protocole suivant :

-Marquer les tubes contenant 9 ml du milieu TSE (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}).

-Prélever aseptiquement 1ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette graduée stérile munie d'une poire à aspiration.

Matériel et méthodes

-Transférer le 1ml prélevé dans le 1er tube pour obtenir la dilution (10^{-2}), la pipette ne devrait pas pénétrer dans le diluant.

-Jeter la pipette utilisée dans un conteneur approprié.

-Homogénéiser le diluant avec le prélèvement en utilisant d'un agitateur de type vortex.

-Prélever 1 ml de la dilution 10^{-2} après homogénéisation à l'aide d'une nouvelle pipette.

-Transférer le 1 ml prélevé dans le 2ème tube pour obtenir la dilution (10^{-3}).

-Renouveler l'opération en changeant la pipette et en versant de nouveau 1 ml dans un nouveau tube de TSE, et ainsi de suite, jusqu'à la concentration 10^{-5} (**Figure 3**).

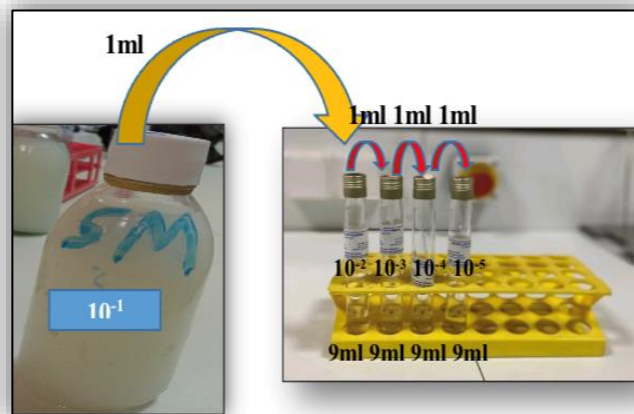


Figure 3 : La préparation des dilutions décimales.

3.2.3. Dénombrement de la FMAT

La flore mésophile aérobie totale (**FMAT**) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'unités formant une colonie (**UFC**) présentes dans un produit ou sur une surface. La flore totale regroupe des micro-organismes saprophytes, d'altération et peut inclure des germes pathogènes. Les micro-organismes apparaissent sous formes de colonies de taille et de formes différentes.

➤ Principe

Pour le dénombrement de la flore totale on effectue un ensemencement en masse sur gélose glucosée à l'extrait de levure également appelée plate count agar (PCA) (**Bourgeois, 1996**).

➤ Mode opératoire

- ✓ Prélever 1ml de la solution mère et de ses dilutions (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) et déposé à l'aide d'une pipette pasteur goutte à goutte sur toute la surface de la boîte de pétri.

Matériel et méthodes

- ✓ Verser par la suite la gélose PCA (**≈15ml**) maintenue en surfusion, puis effectuer des mouvements circulaires pour homogénéiser l'inoculum avec le milieu de culture.
- ✓ Laisser solidifier.
- ✓ Couler une deuxième couche de gélose (**≈5ml**) pour empêcher le développement d'éventuelle flore de contamination superficielle après ensemencement et laisser encore solidifier.
- ✓ Incuber les boîtes à 30°C pendant 72 heures.

➤ **Lecture**

- ✓ Dénombrer colonies blanchâtres ayant poussées en profondeur.
- ✓ La lecture se fait au bout de 72 heures sur les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies.

3.2.4. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux

La recherche et le dénombrement des coliformes fécaux a été effectué sur milieu gélosé lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (V.R.B.L) selon **la norme NF V08-017**.

➤ **Principe de la gélose VRBL**

Le milieu gélosé lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (**V.R.B.L**), conforme à la **norme NF V 08-14**, est un milieu sélectif qui a été utilisé pour le dénombrement des coliformes. Il repose sur l'aptitude des coliformes à fermenter le lactose. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des bactéries Gram positives et certaines bactéries Gram négatives par la présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires.

➤ **Mode opératoire**

- ✓ Transférer 1ml de la suspension mère et de ses dilutions décimales dans des boîtes de pétri stériles.
- ✓ Couler environ 15ml de gélose VRBL refroidi à 44 -47°C.
- ✓ Faire des mouvements en huit afin d'assurer une parfaite homogénéisation.
- ✓ Laisser solidifier, puis couler à nouveau environ 5ml du même milieu pour former une deuxième couche et laisser solidifier.
- ✓ Incuber les boîtes dans l'étuve pendant 48h à 44°C.

➤ **Lecture**

Toutes les colonies rouges (Lactose+) d'un diamètre de 0,5mm apparues après 48h d'incubation sont considérées comme étant des coliformes thermo tolérants ou fécaux.

3.2.5. Recherche d'*Escherichia coli*

La présence d'*Escherichia coli* a été confirmée par ensemencement des colonies suspectes en milieu urée-indole.

➤ Principe du milieu urée- indole

Le milieu urée indole permet la mise en évidence de l'uréase et la production d'indole. Cette enzyme transforme l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacé du milieu en présence de rouge de phénol. La production d'indole est mise en évidence par l'addition de réactif Kovacs en donnant un anneau rouge après 24h d'incubation à 37°C en cas de réaction positive (**Roland et al., 1947**).

➤ Mode opératoire

Repiquer à l'aide d'une pipette pasteur stérile 3 à 5 colonies caractéristiques des coliformes fécaux de chaque boîte retenue sur milieu urée- indole et incuber le milieu ensemencé pendant 24h à 37°C.

➤ Lecture

Après incubation rajouter 1 à 2 gouttes du réactif Kovacs, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'*Escherichia coli*.

3.2.6. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

➤ Principe

Le milieu liquide Giolitti Contoni est très utilisé comme milieu d'enrichissement pour les staphylocoques. Il contient de la tellurite additionnée de potassium dont sa réduction en tellure par les staphylocoques se traduit par l'apparition d'une couleur noire (**Bonnefoy et al., 2002**). Le milieu Chapman mannite est utilisé comme milieu d'isolement sélectif pour les staphylocoques. Il contient une forte teneur en chlorure de sodium (Na cl) (7.5 %) et inhibe la croissance de nombreuses bactéries autres que les *Micrococcus* et *Staphylococcus* (**Guiraud, 1998**).

➤ Mode opératoire

Selon la norme **NF V 08-057** la recherche de *Staphylococcus aureus* se fait en suivant les étapes suivantes :

• Enrichissement

- ✓ Homogénéiser l'échantillon à analyser.
- ✓ Inoculer les tubes avec 1 ml des dilutions (10^{-1} , 10^{-2}).
- ✓ Couler 15 ml de bouillon Giolitti Contoni additionnée d'ampoule et demi de tellurite de potassium.
- ✓ Incuber les tubes 48h à 37°C.
- ✓ S'il y a noircissement des tubes (tubes positifs) nous passons à l'isolement sur milieu Chapman. (**Figure 4**).



Figure 4 : Enrichissement des *Staphylocoque* en milieu Giolitti Contoni additionnée de tellurite de potassium.

• Isolement

- ✓ Couler des boîtes de pétri stériles avec la gélose Chapman et laisser solidifier.
- ✓ A l'aide d'une anse de platine, prélever un inoculum à partir des tubes positifs et ensemercer sur gélose Chapman par striés.
- ✓ Incuber à 37 °C pendant 24h.

➤ Lecture

L'apparition des colonies bombées de couleur jaune et entourées d'un halo clair indique la présence des staphylocoques.

• Tests confirmatifs

1. Coloration de Gram

➤ Principe

La coloration de Gram est fondée sur l'action successive d'un colorant d'aniline, le cristal violet ou le violet de Gentiane, d'iode puis d'un mélange d'alcool et d'acétone.

Un complexe iodo-cristal violet se forme ; il sera solubilisé par l'alcool à 70°C lors de la phase de décoloration, uniquement pour les bactéries à Gram (-).

Le deuxième colorant, dit de contraste, la safranine ou la fuchsine, va colorer en rose les bactéries à Gram (-) ; les bactéries Gram (+), non décolorés par l'alcool, ont conservé leur couleur violette (Chast, 2005).

➤ Mode opératoire

✓ Réalisation de frottis

- Prélever une colonie poussée sur milieu Chapman à l'aide d'une anse de platine stérile.
- Déposer la colonie sur une lame propre contenant une goutte de l'eau distillée stérile et mélanger bien avec l'anse de platine pour homogénéiser le tout.



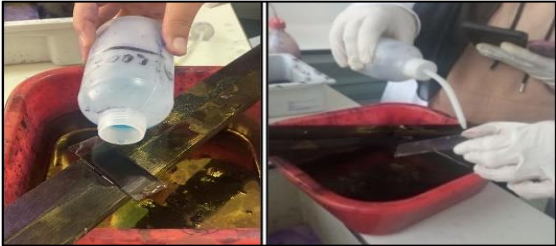

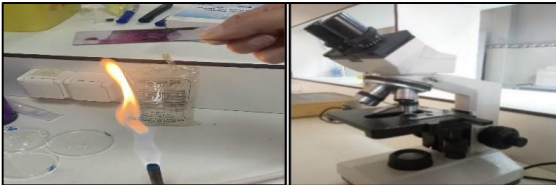
Matériel et méthodes

- Sécher et fixer le frottis avec la chaleur de bec benzène.

✓ Procédure

Les étapes de la coloration de Gram sont indiquées dans le (Tableau 8).

Tableau 8 : les étapes de coloration de Gram.

Les étapes	Les figures correspondantes
<p>Coloration primaire</p> <p>Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (crystal violet) sur le frottis fixé.</p> <p>Laisser agir 1 minute, et jeter l'excès de colorant.</p>	
<p>Fixation par le lugol</p> <p>Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis.</p> <p>Le lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries, Laisser agir 1 minute et jeter la solution de lugol.</p>	
<p>Décoloration à l'alcool</p> <p>Décolorer en faisant couler la solution de décoloration sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes). La solution de décoloration contient un mélange d'alcool et d'acétone, rincé à l' H2O.</p>	
<p>Contre-coloration</p> <p>Couvrir les lames avec la fuschine, pendant 1minute, rincer à l'eau courante.et enlevé le surplus d'eau.</p>	
<p>Observation</p> <p>la lame est séchée puis observée au microscope optique à l'objectif x 100 Avec l'huile d'immersion.</p>	

➤ Lecture

- ❖ Bactéries Gram négatives : **Coloration rose.**
- ❖ Bactéries Gram positives : **Coloration violette.**

2. Test de catalase

Sur une lame stérile déposer une colonie poussée sur Chapman et à l'aide d'une pipette pasteur rajouter quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

➤ Lecture

L'apparition de bulles d'air indique que le test de la catalase est positif.

3. Test de coagulase

Ensemencer des colonies poussées sur Chapman dans un tube stérile contenant 10 ml de cœur cervelle et incubé pendant 24 h à 37°C. Après incubation et dans un tube stérile mélanger 0.1ml de solution cœur cervelle avec 0.3 ml de plasma de lapin lyophilisé et incubé 24h à 37°C.

➤ Lecture

La coagulation du plasma de lapin indique que le test de la coagulase est positif.

3.2.7. Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs

➤ Principe

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont des bacilles Gram positif anaérobies stricts capables de sporuler, réduisant les sulfites en sulfure (**Delarras, 2007**). Ce sont des hôtes normaux de l'intestin, ils peuvent également être d'origine tellurique (**Bonnefoy et al., 2002**).

Le milieu de culture utilisé pour le dénombrement de *Clostridium* sulfito-réducteurs est le milieu gélosé viande foie fondu mélangé avec une ampoule d'alun de fer ainsi que de sulfite de sodium à 5% et refroidie à 45°C±1°C (**ISO 15213, 2003**).

➤ Mode opératoire

La technique de la recherche et du dénombrement est inspirée de **la Norme ISO 15213(2003)**.

- ✓ Soumettre les tubes contenant les dilutions 10⁻¹ et 10⁻² à un chauffage à 80°C pendant 10 minutes pour détruire les formes végétatives (**Guiraud et al., 2004**) (**Figure 5**).
- ✓ Refroidit les tubes immédiatement pour activer les spores des clostridies.
- ✓ Mélanger aseptiquement dans des tubes vissés 1 ml de chaque dilution 10⁻¹ et 10⁻² avec 15 ml du milieu de culture en surfusion à 45°C.
- ✓ Laisser solidifier, puis incubé à 37 °C±1°C pendant 24 à 48 heures.



Figure 5 : Chauffage des tubes contenant les dilutions 10 minutes à 80°C.

➤ Lecture

Seules les colonies caractéristiques entourées d'un halo noir ont été comptées (**Guiraud, 1998**).

- ❖ Le nombre des germes recherchés et /ou dénombrés (FAMT, coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et *Clostridium* sulfito-réducteurs) est donné par la formule suivante inspirée de la **Norme XP V 08-102 :**

$$N = \sum C \cdot V (n1 + 0.1n2) \cdot d$$

N = nombre des germes par gramme.

∑C : Somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives et dont l'une contient au moins 15 colonies (30 colonies pour la FAMT).

n1 : Nombre de boîtes utilisés pour la première dilution.

n2 : Nombre de boîtes utilisés pour la deuxième dilution.

V : volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte.

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

3.2.8. Recherche des Salmonelles

➤ Principe

La recherche des Salmonelles consiste à déterminer la présence ou de l'absence du genre *Salmonella* dans 25 ml du produit (lait cru de vache). Quatre étapes sont à distinguer :

Matériel et méthodes

- **Pré-enrichissement**

C'est l'étape permettant la croissance et la multiplication des salmonelles, y compris de celles en dormance. Cette étape permet également aux bactéries stressées de récupérer leur stabilité.

- **Enrichissement sélectif**

Cette étape permet la croissance et la sélection des bactéries du genre *Salmonella* pour qu'elles soient isolées par la suite.

- **Isolement sur gélose sélective**

Un isolement sur des milieux sélectifs permet de visualiser les colonies caractéristiques.

- **Étape confirmative**

C'est l'étape de confirmation qui consiste en la sélection d'une ou plusieurs colonies caractéristiques en vue de leur identification biochimique.

➤ **Mode opératoire**

La recherche de *Salmonella* a été effectuée selon la **norme NF V 08 6- 052**.

- **Pré-enrichissement**

-Ensemencer 25 ml de la suspension mère dans 225 ml d'eau peptonée tamponnée (EPT).

- Incuber à l'étuve à 37° C pendant 16 à 20 heures.

- **Enrichissement**

L'enrichissement est effectué sur bouillon sélénite cystéine (SFB) à partir du milieu de pré-enrichissement de la façon suivante :

- 10ml pour le flacon SFB simple concentration (**S/C**).
- 100ml pour le flacon SFB double concentration (**D/C**).
- L'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24h. (**Figure 6**).

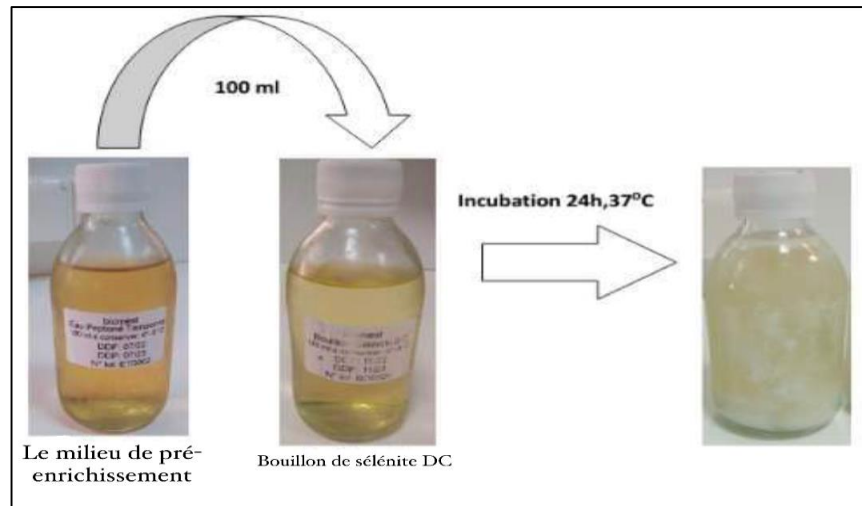


Figure 6 : L'enrichissement sur Bouillon Sélénite DC.

- **Isolement sur gélose sélective**

Chaque flacon d'enrichissement fera l'objet d'un isolement en double (02 boîtes pour chaque flacon), un inoculum de chaque bouillon d'enrichissement a été ensemencé en stries sur milieu Hektoen pour isoler les salmonelles. Toutes les boîtes seront incubées à 37°C pendant 24h.

- **Confirmation**

Repiquer 5 colonies typiques ou suspectes, le plus souvent avec une couleur verdâtre ou bleuâtre, sur milieu gélosé TSI et incuber les boîtes pendant 24h à 37°C. Dans le cas contraire procéder à une purification sur gélose nutritive avant d'entamer l'identification biochimique.

- **Lecture**

Les salmonelles se présentent sous forme de colonies le plus souvent verdâtres ou bleuâtres à centre noire sur milieu Hektoen.

Chapitre 3

Résultats et discussion

1. Analyse bactériologique du lait cru de vache

1.1. Flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Les colonies de la FMAT obtenues sur gélose PCA sont de formes rondes, convexes, lisses, de tailles variées et de couleur blanchâtre crémeuse (**Figure7**). Cette flore est un reflet assez tangible des conditions d'hygiène générale. Elle nous renseigne sur la propreté des manipulations, l'efficacité des procédés de préparation et les conditions de conservation et la fraîcheur des produits (**Guy, 2000**).



Figure 7 : photographie des colonies de la FMAT sur milieu PCA.

Les valeurs enregistrés dans le tableau (9) montrent que le nombre de colonies est situé entre $3,92.10^5$ et $8,32.10^5$ UFC/ml pour le lait de la région de Skikda ville ; entre $2,98.10^5$ et $3,63.10^6$ UFC/ml pour le lait de la région de Beni Zid et entre $2,9.10^4$ et $9,38.10^5$ UFC/ml pour le lait de la région de Beni Ouelbane.

Les résultats enregistrés au cours de ce travail indiquent que tous les échantillons du lait prélevés, à l'exception de l'échantillon de la première semaine de la région de Beni Zid, sont de bonne qualité microbiologique, vu les critères Algériens qui fixent le seuil de contamination entre m et M. Sachant que m (3.10^5 UFC/ml) est un seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante (le premier et le troisième échantillon de la région de Beni Ouelbane) , M (3.10^6 UFC/ml) représente le seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique (**J.O.R.A ,2017**), ce qui est le cas du premier échantillon de la région de Beni Zid.

Lorsque la traite est effectuée en respectant les règles d'hygiène, donc avec un lavage correct des mamelles et un matériel de traite bien conçu, le lait contient habituellement moins de 10^5

Résultats et discussion

germes/ml. Un nombre supérieur peut donc être considéré comme un indice d'une mauvaise hygiène à la ferme (**Richard, 1981**).

Tableau 9 : Les résultats de dénombrement de la FMAT.

Région Semaine	Skikda ville	Beni Zid	Beni Ouelbane	Norme (m)	M
	Nombre de germes (UFC/ml)				
01	$3,92.10^5$	$3,63.10^6$	$2,9.10^4$	3.10 ⁵	3.10 ⁶
02	$7,49.10^5$	$3,49.10^5$	$9,38.10^5$		
03	$8,32.10^5$	$4,56.10^5$	$9,01.10^4$		
04	$6,85.10^5$	$2,98.10^5$	$7,95.10^5$		
	m		M		
Satisfaisant		Acceptable		Non satisfaisant	

m : la norme ; M : seuil limite d'acceptabilité (10m)

1.2. Coliformes fécaux

Les colonies des coliformes fécaux obtenues sur gélose VRBL sont de tailles variées (égale ou supérieure à 0,5 mm), rondes, de couleur rouge à rose foncé avec une surface lisse et un aspect convexe et régulier (**Figure 8**).

Les coliformes sont considérés comme une flore normale du tractus intestinal des humains et des animaux. Ils sont utilisés comme des indicateurs de qualité bactériologique des laits et ses dérivés (**Dieng, 2001**). En revanche elles peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux (**Baazize, 2005**). Ce sont des témoins de mauvaises conditions hygiéniques pendant ou après la transformation du produit (**Ghazi, 2011**).



Figure 8 : Photographie des colonies des coliformes fécaux sur gélose VRBL.

Selon le tableau 10, les valeurs enregistrées du nombre des coliformes fécaux sont situées entre 0 et $3,26.10^2$ UFC/ml pour le lait de la région de Skikda ville, entre $1,72.10^2$ et $2,94.10^2$ UFC/ml pour le lait de la région de Beni Zid et entre $1,07.10^2$ et $3,21.10^3$ UFC /ml pour le lait de la région de Beni Ouelbane.

Nous avons noté que le nombre des coliformes fécaux présents dans le lait de vache cru des trois régions pendant toute la période d'étude est inférieur à la norme ($m = 5.10^2$ UFC/ml), à l'exception du quatrième échantillon de la région de Beni Ouelbane ($3,21.10^3$ UFC/ml) sans toutefois dépasser le seuil limite d'acceptabilité ($M= 5.10^3$ UFC/ml). Ceci indique que la majorité des échantillons analysés sont jugés de qualité satisfaisante par rapport aux coliformes fécaux, vu les critères Algériens qui fixent le seuil de contamination entre m et M (J.O.R.A, 2017).

Tableau 10 : Les résultats du dénombrement des coliformes fécaux.

Semaine \ Région	Skikda ville	Beni Zid	Beni Ouelbane	Norme (m)	M
	Nombre de germes UFC/ml				
01	Absence	$2,58.10^2$	$1,07.10^2$	5.10^2	5.10^3
02	$2,23.10^2$	$1,72.10^2$	$2,45.10^2$		
03	$3,26.10^2$	$2,94.10^2$	$1,32.10^2$		
04	$2,63.10^2$	$1,86.10^2$	$3,21.10^3$		
		m	M		
Satisfaisant		Acceptable		Non satisfaisant	

m : la norme ; M : seuil limite d'acceptabilité (10m)

Résultats et discussion

La contamination du lait par les coliformes est liée à l'animal (mamelles sales ou infectées) ou au personnel (hygiène des équipements ou type de traite) (FAO, 1995). Selon Oumer *et al.*, (2017), La présence de coliformes fécaux à des taux élevés dans le lait indique que ce dernier a été contaminé par les matières fécales ayant comme source les trayons, le pis, l'équipement de traite ou une eau de nettoyage contaminée. En fait, 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 ce dernier est souillé. Les étables par contre avec mécanisation de la traite et lavage systématique des mamelles en utilisant une vaisselle en métal présentent des faibles taux des coliformes thermo-tolérants et minimisent les risques de contamination (Ghazi et Niar, 2011). Magnusson *et al.*, (2007) rapportent que les laitières fortement souillées contiennent plus de coliformes et la prévalence de mammites augmente dans ce cas suggérant une contamination des trayons et de lait plus importante. D'autres sources de contaminations sont également à considérer telles que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite, ce qui n'était pas notre cas.

1.3. *Escherichia coli*

Nous avons noté une absence totale d'*Escherichia coli* dans tous les échantillons analysés (Tableau 11 et Figure 9). L'absence d'*Escherichia coli* dans le lait cru de vache est un résultat important pour la sécurité alimentaire, car *E. coli* est une bactérie qui peut causer des maladies gastro-intestinales chez les humains (Croxen, 2013).

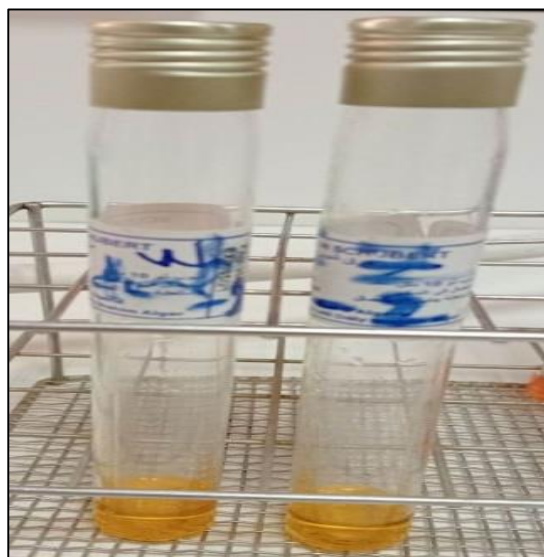


Figure 9 : Photographie du test d'indole (absence d'un anneau rouge).

Tableau 11 : Les résultats de la recherche d'*Escherichia coli*.

Région semaine	Skikda ville	Beni Zid	Beni Ouelbane	Norme (m)
01	Absence	Absence	Absence	Absence
02	Absence	Absence	Absence	
03	Absence	Absence	Absence	
04	Absence	Absence	Absence	

Une étude menée en France en 2014 a examiné 220 échantillons de lait cru de vache provenant de 305 fermes et n'a détecté la présence d'*E. coli* que dans 0,4% des échantillons (Lailier, 2014). De même, une étude menée en Italie en 2015 a examiné 305 échantillons de lait cru de vache et n'a détecté la présence d'*E. coli* que dans 1,6% des échantillons (Pezzotti, 2015). Ces résultats indiquent que l'absence d'*E. coli* dans le lait cru de vache est généralement très élevée, bien que des études aient détecté des niveaux plus élevés d'*E. coli* dans certaines régions ou dans des exploitations laitières spécifiques (Nappi, 2014).

1.4. *Staphylococcus aureus*

Les colonies obtenues sur milieu Chapman sont de forme ronde, de grande de taille par rapport au colonies typiques de *staphylococcus aureus*, surface lisse et de couleur dorée avec virage de la couleur du milieu (Figure 10). La différenciation des staphylocoques est basée sur leur capacité à fermenter ou non le mannitol. S'il y a fermentation cela induit une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence du rouge de phénol (indicateur du pH). L'étude microscopique des souches isolées a été réalisée après une coloration de Gram et a révélé la présence de cocci Gram positif de forme sphérique de 0,5 à 1,5 µm de diamètre, ayant une disposition en amas irréguliers (Figure 11), évoquant l'aspect caractéristique de grappes de raisin (Buyser, 2005). La totalité des échantillons analysés sont catalase (+), ce qui indique la présence des *Staphylococcus* sp qui produisent l'enzyme de la catalase (Quinn et al., 1994) (Figure 12).

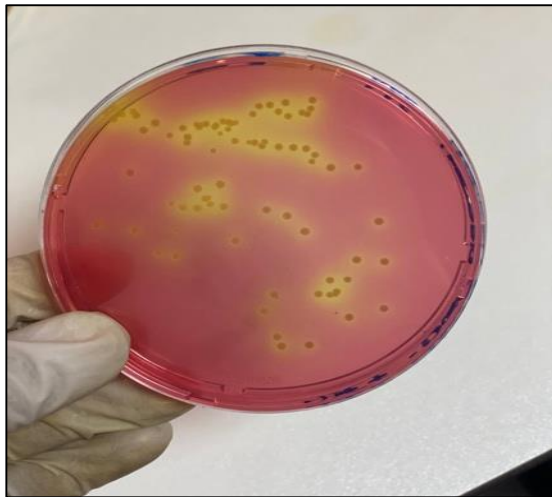


Figure 10 : Résultat d'isolement sur milieu Chapman.

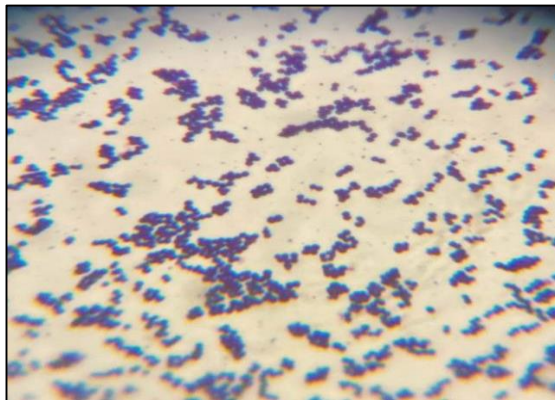


Figure 11 : Résultat de la coloration de Gram à l'objectif X 100.

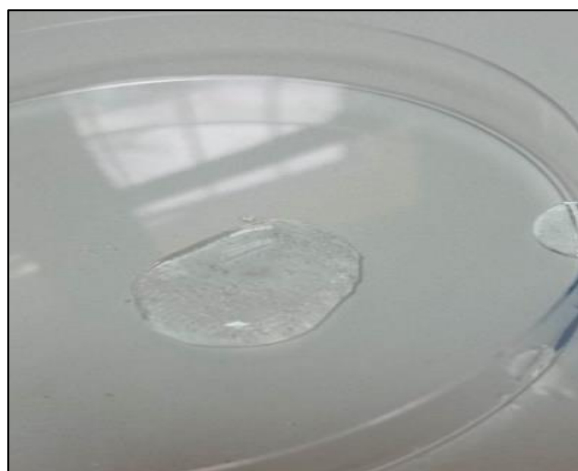


Figure 12 : test de la catalase (test positif).

Résultats et discussion

Toutes les souches isolées des Staphylocoques sont coagulase négatifs. Les staphylocoques coagulase négatifs, sont généralement considérés comme non pathogènes, bien qu'ils puissent causer des infections opportunistes chez les personnes immunodéprimées (**Becker et al., 2014**) (**Figure13**). Nous avons enregistré donc une absence totale de *Staphylococcus aureus* dans tous les échantillons analysés (**Tableau 12**), ce qui est conforme aux normes admises par la réglementation Algériennes (**J.O.R.A, 2017**). Ces échantillons sont donc jugés satisfaisants par rapport à *Staphylococcus aureus*.



Figure13 : Résultat du test de la coagulase (test négatif).

Tableau 12 : résultats de la recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*.

Région Semaine	Skikda ville	Beni Zid	Beni Ouelbane	Norme (m)	M	
	Nombre de germes UFC/ml					
01	Absence	Absence	Absence	10 ²	10 ³	
02	Absence	Absence	Absence			
03	Absence	Absence	Absence			
04	Absence	Absence	Absence			
m		M				
Satisfaisant		Acceptable		Non satisfaisant		

m : la norme ; M : seuil limite d'acceptabilité (10m)

L'absence de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru est un indicateur important de la qualité microbiologique du lait, car cette bactérie est une cause fréquente des infections humaines et animales. Les *Staphylococcus aureus* peuvent causer des infections cutanées, des pneumonies et des infections du système nerveux central chez les humains, tandis que chez les bovins, ils peuvent causer des mammites (**Schmitt et al. , 2012**). Les principales sources de contamination sont en premier lieu la mamelle, les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production, d'autres sources de contaminations sont également à considérer telles que la machine à traire (**Thieulon, 2005**).

Plusieurs études ont montré que les *Staphylococcus aureus* sont relativement rares dans le lait cru, en particulier lorsque les bonnes pratiques d'hygiène sont suivies dans les exploitations laitières. Une étude menée en France sur 225 échantillons de lait cru a révélé que seulement 3,1% des échantillons étaient positifs pour *Staphylococcus aureus* (**Schmitt et al., 2012**).

Dans notre étude on peut justifier cette absence des *Staphylococcus aureus* par la bonne santé des vaches, et notamment par l'absence d'infections des mamelles et les pratiques d'hygiène strictes lors de la collecte et du traitement du lait cru.

1.5. *Clostridium* sulfito- réducteurs

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont capables de réduire les sulfites (sulfite de sodium, par exemple) présents dans le milieu de culture en sulfures ; ceux-ci se combinent avec un sel de fer pour donner du sulfure de fer noir en donnant des colonies entourées d'un halo noir s'il ya une contamination notée dans le lait cru (**Daria et al., 2014**).

Dans cette étude nous avons noté une absence totale de contamination par *Clostridium* sulfito - réducteurs dans tous les échantillons analysés (**Figure 14 et Tableau 13**). Ces derniers sont donc conformes à la norme du journal officiel de la république algérienne (**J.O.R.A, 1998**) (≤ 50 UFC/ml).



Figure 14 : Résultat de l'ensemencement du milieu viande-foie (Absence d'un halo noir).

Tableau13 : Les résultats de la recherche et dénombrement de *Clostridium* sulfito-réducteurs.

régi <u>o</u> n Semaine	Skikda ville	Beni Zid	Beni Ouelbane	Norme (m)
01	Absence	Absence	Absence	≤50UFC/ml
02	Absence	Absence	Absence	
03	Absence	Absence	Absence	
03	Absence	Absence	Absence	

L'absence des *Clostridium* sulfito-réducteurs dans les laits crus de vache testés indique que ces derniers sont de bonne qualité microbiologique et sont satisfaisants du point de vue hygiénique qui est dû à une bonne santé des vaches des étables et une bonne hygiène de la traite (**Benzakour et al., 2009**). L'absence totale des *Clostridium* sulfito-réducteurs ou leur présence à un niveau inférieur au seuil toléré se traduit par l'absence d'une contamination extérieure due aux mauvaises pratiques de production du lait cru, sachant que ces germes peuvent se trouver dans l'ensilage et dans l'environnement immédiat des animaux et sont essentiellement abrités par leur tractus intestinal (**Dréan et al., 2015**). Leur présence peut traduire un manque d'hygiène, car ces bactéries sont très répandues dans la nature (le sol, l'alimentation des bétails, l'environnement des étables et l'eau contaminée) (**Gledel, 1987**).

1.6. *Salmonella* sp

Les colonies obtenues sur gélose Hektoen sont de forme ronde, de tailles variées, surface lisse et couleur orange avec virage de la couleur du milieu (**Figure 15**). Le résultat de l'ensemencement de la gélose TSI est négatif, cela signifie que la bactérie n'a pas fermenté le glucose, le lactose ou le saccharose présents dans le milieu de culture (**Figure 16**).



Figure 15 : Résultat de l'isolement sur milieu Hektoen.

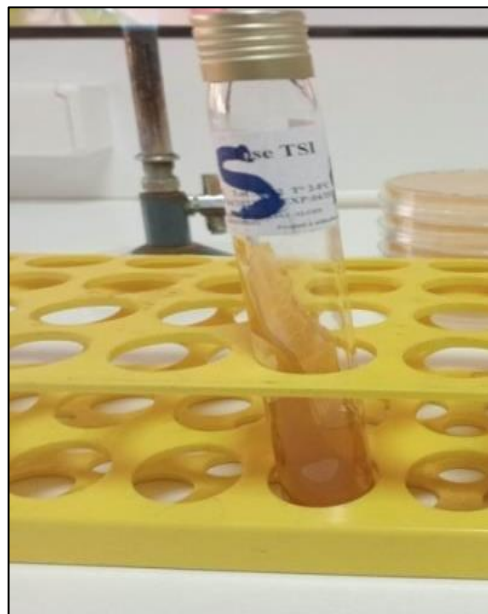


Figure 16 : Résultat de l'ensemencement du milieu TSI (Test négatif).

Les analyses de la recherche des salmonelles indiquent leur absence totale dans les 12 échantillons analysés (**Tableau 14**). Ils sont donc conformes aux normes admises par la

Résultats et discussion

réglementation algérienne (J.O.R.A, 2017), ($m=0\text{UFC}/25\text{ml}$) et de qualité satisfaisante par rapport aux salmonelles. Ces résultats indiquent une bonne santé de la vache et du pis ainsi qu'une bonne qualité d'hygiène, de traite et d'élevage.

En général, l'isolement des salmonelles dans le lait cru est difficile à mettre en évidence (Afif et al., 2008). La présence des salmonelles dans le lait peut être expliquée par des élevages infectés qui constituent un réservoir potentiel de contamination du lait et des produits dérivés à base de lait cru. Cependant, il semblerait que la contamination ait lieu plus fréquemment à partir du milieu extérieur, de l'environnement ou par contact avec les animaux infectés au moment de la traite que par voie intra-mammaire (Brisabois et al., 1997).

Tableau 14 : les résultats de la recherche des salmonelles.

Région semaine	Skikda ville	Beni Zid	Beni Ouelbane	Norme (m)
01	Absence	Absence	Absence	Absence dans 25ml de lait
02	Absence	Absence	Absence	
03	Absence	Absence	Absence	
04	Absence	Absence	Absence	

Conclusion

Conclusion

La mise en place d'un contrôle bactériologique rigoureux du lait cru est essentielle pour garantir la sécurité alimentaire et la qualité des produits laitiers. Cette mesure permet de prévenir les risques liés à la présence des bactéries pathogènes et de maintenir la valeur nutritionnelle du lait.

Dans notre travail nous avons réalisé des analyses bactériologiques pour évaluer la qualité bactériologique du lait cru de vache collecté de trois différentes régions de la wilaya de Skikda qui comprennent la numération de la flore mésophile aérobie totale, la recherche et la numération des coliformes fécaux, des *Staphylococcus aureus* et des *Clostridium* sulfito-réducteurs ainsi que la recherche des salmonelles. Ces analyses ont permis de déterminer le niveau de contamination bactérienne du lait cru, et de prendre des mesures correctives pour améliorer sa qualité.

Les résultats obtenus ont révélé que la totalité des échantillons analysés sont contaminés par la FMAT avec des charges microbiennes variables sans toutefois dépasser le seuil de contamination fixé par les critères Algériens ($m=3.10^5$ UFC/ml, $M= 3.10^6$ UFC/ml), à l'exception du premier échantillon de la région de Beni Zid où nous avons enregistré une charge microbienne de $3,63.10^6$ UFC/ml et qui dépasse la valeur de M.

La majorité des échantillons analysés sont également contaminés par les coliformes fécaux avec des valeurs inférieures à la norme Algérienne ($m= 5.10^2$ UFC/ml), sauf le quatrième échantillon de la région de Beni Ouelbane ($3,21.10^3$ UFC/ml) sans toutefois dépasser le seuil d'acceptabilité déterminé par la réglementation Algérienne ($M= 5.10^3$ UFC/ml).

Nous avons aussi enregistré l'absence totale des germes pathogènes pour l'homme (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfito-réducteurs et *Salmonella* sp).

A la lumière de ce qui a été dit, nous concluons que le lait de vache cru analysé des trois régions la wilaya de Skikda est de bonne qualité bactériologique par rapport aux paramètres étudiés et conforme aux normes indiquées par la réglementation Algérienne.

En somme, il est essentiel de maintenir une surveillance continue et une mise à jour régulière des normes algériennes en matière de contrôle bactériologique du lait cru, afin de s'aligner sur les avancées scientifiques et technologiques. Cette évolution garantit une protection optimale de la santé publique et une amélioration constante de la qualité des produits laitiers en Algérie.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Aagaard K., Jepsen L. and Andersen H., 1998.** Raw milk quality in Denmark, Scand, Dairy Inform, 3, 22-24.
- **Aboutayeb R. (2009).** Technologie du lait et dérivés laitiers <http://www.azaquar.com>.
- **Afif A., Faid M. et Najimi M. (2008).** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. Reviews in Biology and Biotechnology Vol 7.N°1.pp : 2-7.
- **Aggad H, Bridja M, Aek B, Benaouali M, Djebli A. 2010.** Some quality aspects of pasteurized milk in Algeria. World J. Dairy Food Sci., 2010, 5, 21-24.
- **Ait Abdelouahab.N, 2001.** Microbiologie alimentaire. Edition : 1.04.4362. Alger.
- **Alais C., 1984.a** La micelle de caséine et la coagulation du lait. In Science du lait : Principes des techniques laitières. Ed. Sepaic. Paris. 723-764p.
- **Alais C., 1984.b** Sciences du lait. Principes de techniques laitières. 3ème édition, Ed. Publicité. France.814p.
- **Alais C., Linden G., 1987.** Biochimie alimentaire : Abrégé. Masson, Paris, p.p. 143 – 169.
- **Alias C., Linden G., Miclo L. 2008.** Biochimie alimentaire. 6ème édition. Paris. pp : 86-88.
- **Almeida,ALE;Silva Sobrinho ,SA ; Manzi ,GM ;Lima,NLL;Zeola ,NMBL; Endo ,V.;Barbosa,JC,2011 .**Caractéristiques quantitative de la viande d'agneau nourris aux graines de tournesol età la vitamine .J.Anim,SCI.,89 (e-suppl 1).
- **Baazize D. (2005).** Hygienic and sanitary quality of raw cow's milk. Memory ofthe Magisterium in Hygiene and Quality of Milk, Saad Dahleb University of Blida- Algeria.
- **Badio., (2000) :** La qualité du lait et produits laitiers. Communication à l'atelier de restitution de l'étude sur la filière lait au Sénégal. GRET / ENDA-GRAF Dakar.
- **Becker K, Heilmann C, Peters G.** Coagulase-negative staphylococci. Clin Microbiol Rev. 2014; 27(4):870-926.
- **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.
- **Beldjilali, F., 2015.** Contribution à l'étude microbiologique et sanitaire du lait cru de brebis de la région ouest de l'Algérie 164.
- **Benzakour A, Berny EH, Elmoualdi L, Labioui H, Ouhsine M et Yachioui M., 2009.** Étude physicochimique et microbiologique de laits crus. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 148.pp: 7-16.
- **Billon P., Sauve O. (2009) :** Traite des vaches laitières. 3ème édition, France, 555 p. Des exemples ; genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

Références bibliographiques

- **Bonnefoy C., Guillet F., Leyral G., et Verne-Bourdais, E. (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires Dion, 245p.
- **Bonnefoy C., Guillet F., Luyral G., Bourdis E-V. (2002) :** Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires. Aquitaine : Doin, Paris. 248p.
- **Bouarissa N., Herizi S, (2020).** Analyse physico-chimique et microbiologique du lait cru collecter au niveau de deux régions Akbou et Sidi Aich(Bijaia) mémoire de fin de cycle en vue l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en génie biologique. 61p.
- **Bourgeois, C.M. MESCLE, J.F, ZUCCA, J. 1996.** Microbiologie Alimentaire (tome1).2ème édition. Lavoisier, Tec Doc. Paris, p 274-275.
- **Brisabois A., Lavarge V., Brouillard A., de Buyser M.L., Collettec. , 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.
- **Buyser M.L., Sutra L. (2005).**Staphylococcus aureus. In : Federighi M. Bactériologie alimentaire-compendium d'hygiène des aliments.Economica, Paris, 2 :
- **Chetoune S, 1982.** Amélioration de la qualité bactériologique du lait cru, thèse d'ingénieur en agronomie. Mostaganem : ITA, 88p.
- **Cohen N, Barkia A. 2011.** Toxi-infections alimentaires : Rapport du Maroc. Congrès Maghrébin sur les TIAC- 2ème édition. Hammamet.
- **Croxen MA, Law RJ,Scholz R.**Recent advances in Understanding enteric pathogenic Escherichia coli .Clin microbiol Rev.2013 ;26(4) :822-880.
- **Cuq JL., 2007.** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. 20-25 p.
- **Daria A., Larionova., Svetlana V., Malysheva., Carlos Van Peteghem., Sarah De Saeye, José Diana Di Mavungu.,(2014).**Guide de Bonnes Pratiques d'hygiène de la Nutrition Animale (GBPNA) – OQUALIM – Version Finalisée soumise le 18/10/2016.
- **Delarras C.2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire, Tec et Doc ,476p.
- **Dréan, P., McAuley C. M., Moore, S. C., Fegan, N., Fox, E. M. (2015).** Characterization of the spore-forming *Bacillus cereus* sensu lato group and *Clostridium perfringens* bacteria isolated from the Australian dairy farm environment. BMC microbiology 15, 38.
- **Dieng M., 2001,** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché dakarais Th. Méd. Vét., Dakar, n°10, 91 p.

Références bibliographiques

- **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, (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier, 14-379p.
- **Fredot E, 2006 :** Connaissance des aliments-bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, lavoisier : 25(397 page).
- **Gaucheron, F. (2004).** Minéraux et produits laitiers. Éditions Lavoisier, Paris.
- **Ghaoues S, 2011.** Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien .Mémoire de magister. Université MENTOURI - Constantine .3-12p. (129)
- **Ghazi K.et 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.
- **Gledel J., 1987.** Aspect microbiologique : matière première de l'industrie laitière. Ed Tecet Doc. Paris .pp: 213-223.
- **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.
- **Grosjean J., Clavé D., Archambaud M., et Pasquier C.2011 :** Bactériologie et virologie pratique, de boeck 2ème Edition révisée .290 :73-7K.
- **Guiraud J.P. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris.
- **Guiraud J.P., Rose J-P. 2004.** Pratiques des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR, 2004, 300.
- **Guiraud, J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire « microbiologie des principaux produits alimentaires » .Ed ; Dunod. Paris, Pp 136-137-651.
- **Guy S.N., 2000.** les points à risque de la contamination microbiologique de la viande de poulet de chair dans la région de Dakar .Th D SC Vet.université Cheikh Anta Diop de Dakar .
- **Jean, G .laveault, D.2002.** Introduction aux théories des tests en psychologie et en sciences de l'éducation (2em éd). Bruxelles:de boeck.
- **Jeantet R. Croyennec T. Mahant M. Schuck P.Brulé G. (2008).** Les produits laitiers, 2eme Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. PP : 1-9.
- **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, Universit d'Oran 1, Algérie, 195 p.

Références bibliographiques

- **Larpent, J.P. (1997).**Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire (TEC&DOC) : P 10-73.
- **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.
- **Leyral G. Vierling É., 2007.** Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires. 4^{ème} édition. Ed. Biosciences et techniques. 87p.
- **Magnusom M, Christiannos et Svensson B., 2007.** Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factor-affecting contamination of raw milk. Journal of dairy science. N° 90. pp: 2745-2754.
- **Mahaut M., Jeantet R., Schuck P., Brule G. 2000.** Les produits industriels laitiers. Ed, TEC & DOC, Lavoisier, paris, pp. 2-14.
- **Mathieu J. 1998.** Initiation à la physico-chimie du lait .Ecole nationale des industries du lait et des viandes de la Roche-Sur-Faron. Ed. Tec & Doc : Lavoisier, Paris.p12-210.
- **Oumer E, Tsegaye S, Damtew A, Feleke A. 2017.** Hygienic Practices and Bacteriological Quality of Cow Raw Milk from Selected Smallholder Dairy Farms of Mersa Town, North Wollo, Ethiopia. Euro. J. Exp. Bio., 7: 22.
- **Paccalin J., Galantier M., 1986.** Valeur nutritionnelle du lait et des produits laitiers, p.p. 93-121, In : Luquet F.M. 1986. Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre, 3 : Qualité – énergie et tables de composition. Techniques et Documentation–Lavoisier, Apria, Paris, 445.
- **Pointurier H, 2003** : La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France : 64, 388 p.
- **Pougheon, S., et Goursaud, J. (2001).** Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G, Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566pages).
- **Quinn P. J, Carter M. E, Markey B. K, & Carter G. R. 1994.** Clinical Veterinary Microbiology. Mosby-Year Book Europe.
- **Reumont P, (2009).**Licencié Kinésithérapie.
- **Rheotest M, 2010** : Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaireRHEOTEST®LKŔProduitsalimentairesetaromatisants<http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>.
- **Richard J, 1981.** Le lait matière première de l'industrie laitière. Tech ET doc. LAVOISIER. p190.
- **Roland F., Bourbon. D., Sztrum S.,** Différenciation rapide des enterobactériacées sans action sur le lactose, Ann.Inst. Pasteur, 1947, vol. 73, P 941-916.

Références bibliographiques

- **Roudaut H. et Lefrancq E. (2005)** : Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.
- **Sablonnière B.2001**. Technologie alimentaire. Paris : Ellipses, 189p.
- **Schmitt, J., Tauer, C., Jaffré, J., & Lebeau, B. (2012)**. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) along the production chain of raw milk soft cheeses in France. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 4867-4873.
- **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.
- **Streit J.M., Jones R., Toleman M.A., Stratchounski L.S. & Fritsche T.R. (2006)**: Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns among gastroenteritis-causing pathogens recovered in Europe and Latin America and *Salmonella* isolates recovered from bloodstream infections in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 2003. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 27: 378-386.
- **Thielon M., 2005**. Lait pathogènes staphylocoques. *Revue de la chambre d'agriculture du Cantal*. 1-2
- **Van Kessel J.S., Karns J.S., Gorski L., McCluskey B.J. & Perdue M.L. (2004)**: Prevalence of *Salmonellae*, *Listeria monocytogenes*, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *Journal of Dairy Sciences*, 87:2822-2830.
- **Veisseyre, 1979** : Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation ! 3^e ed. Paris : La Maison Rustique, 1979, 714 p.
- **Vierling E, 2003** : Aliment et boisson-Filière et produit, 2^e ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine : 11(270 pages).
- **Vignola, C. (2002)**. Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada, Pp 3-75.
- **Vignola, C.L. (2002)**. Science et technologie du lait. Transformation du lait. École polytechnique de Montréal, ISBN, 29-34 (600 p).

Normes et textes réglementaires :

- **Norme NF V 08-017** : dénombrement des coliformes fécaux et d'Eschérichia Coli (annexe NF V 08-015 et NF V08-016).
- **Norme NF08-051** relative au dénombrement des micro-organismes-méthode par comptage des colonies obtenues à 30°C.
- **Norme NF V 08 – 057 – 1** relative au dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C – 1 : technique avec confirmation des colonies.
- **Norme NF V 086- 052** relative à la méthode de routine pour la recherche des Salmonella.
- **Norme XP V 08-102** : règles générales pour le comptage des colonies et l'expression des résultats: cas des dénombrements en milieu solide.
- **JORA, 1993.** (Journal Officiel de la République Algérienne). Arrêté n°69 du 27/10/1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. 16 p.
- **JORA, 1998.** (Journal officiel de la république algérienne). Arrêté interministériel du 27 /05/1998 relative aux spécifications microbiologique de certaines denrées. Ministère du commerce N°35.
- **Journal Officiel de la République Algérienne N° 39** de Chaoual 1438 correspondant au 2 juillet 2017, arrêté du 26 Rabie Ethani 1438 correspondant 25/1/2017 modifiant l'arrêté du 19 Joumada Ethania 1935 correspondant au 20 avril 2014 portant désignation des membres du conseil d'administration du fonds de garantie des crédits de la petite et moyenne entreprise.
- **ISO 15213, 2003:** specifies a horizontal method for enumeration of anaerobic sulphite-reducing bacteria. 1st edition, 06 pages. Technical Committee: ISO / TC 34 / SC 9 Microbiology, exploring by ICS: 07.100.30 Food microbiology, published on 2003-05.
- **FAO.1995.** le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentaire et nutrition n°28.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture et produits :

✚ Plate Count Agar (PCA) :

- Peptone de caséine 5g
- Extrait de levure. 2,5 g
- Glucose. 1g
- Agar 18g
- Eau distillée. 1000ml
- pH : 7.0 ; Autoclaver 15min à 120°C

✚ Milieu Chapman :

- Extrait de viande de bœuf 5 g
- Peptone 10g
- Chlorure de sodium. 75g
- Mannitol. 10g
- Rouge de phénol 25g
- Agar 15g
- Eau distillée. 1000ml
- pH : 7,5 ; Autoclaver 15min à 120°C

✚ Milieu Hektoen :

- Peptone pepsique de viande. 15g
- Extrait de viande 3g
- Extrait de levure. 3g
- Lactose. 12g
- Salicine. 2g
- Saccharose 12g
- Chlorure de sodium 5g
- Sels biliaires. 4g
- Bleu de bromothymol. 0,064mg
- Fuchsine acide. 0,1g
- Agar 18g
- Eau distillée. 1000ml
- PH du milieu : $7,4 \pm 0,2$; Autoclaver 15min à 120°C

✚ Gélose viande –foie :

- Peptone viande-foie 30g

Annexes

- Glucose 2g
- Amidon soluble. 2g
- Agar 20g
- pH final : 7,6 + 0,2 à 25°C

Gélose VRBL (gélose Lactosée Biliée au cristal Violé et au Rouge neutre) :

- Peptone de viande 7g
- Extrait de levure. 3 g
- Lactose. 10g
- Sel biliaires 2g
- Chlorure de sodium 5g
- Rouge neutre 0,03g
- Cristal violet. 18g
- Agar 12g
- Eau distillée. 1000ml
- pH du milieu : 7 ,3 ; Autoclaver 15min à120°C

Gélose TSI (Triple Sugar Agar) :

- Peptone de viande. 15g
- Proteose peptone 5g
- Extrait de viande 3g
- Extrait de levure 3g
- Glucose 1g
- Saccharose 10g
- Lactose 10g
- Citrate de fer (III) ammoniacal 0,3g
- Na Cl (58,44g / mol) 5g
- Sodium thiosulfate 0,30g
- Rouge de phénol 0,05g

Milieu urée- indole :

- L-Tryptophane. 3g
- Phosphate diacide de potassium 1g
- Phosphate monoacide de potassium 5g
- Chlorure de sodium 10g
- Urée 20g
- Alcool à 95°C 10ml
- Solution de rouge de phénol à 1%. 2,5ml

Annexes

-Eau. 1000ml

✚ Réactif de Kovacs :

-Para-dimethyl-amino-benzaldhyde. 5g

-Alcool amylique primaire (Pentanol-1). 75g

-Acide chlorhydrique pur. 1000g

✚ Bouillon SFB S/C (sélénite acide de sodium) :

-Peptone 5g

-Tryptone 5g

-Mannitol 4g

-Phosphate disodique. 4g

-L-cystine. 0,2g

-Eau distillée. 1000ml

-pH du milieu : $7,04 \pm 0,2$; Autoclaver 15min à 120°C

✚ Milieu Giolitti Cantoni :

-Tryptone. 10g

-Extrait de levure. 5g

-Extrait de viande. 5g

-Chlorure de sodium 5g

-Chlorure de lithium 5g

-Mannitol 20g

-Glycine. 1,2g

-Pyruvate de sodium 3g

✚ Sulfite de sodium :

-Sulfite de sodium 63g

-Eau distillée. 950ml

✚ Alun de fer :

-Alun de fer. 1,20g

-Eau distillée. 950ml

✚ Eau Tryptone Sel (TSE) (diluante) :

-Tryptone. 1g

-Chlorure de sodium 8,5g

-Eau. 1000 ml

Annexe 2 :

Le journal Officiel de la République Algérienne n° 39 du 2 JUILLET 2017

ANNEXE I
Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

J- Lait et produits laitiers

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^6$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^2	10^3
	Coliformes thermotolérants	5	2	$5 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^3$
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10^4	10^5
	Enterobacteriaceae	5	0	10	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	
Lait UHT et lait stérilisé	Germes aérobies à 30 °C	5	0	10/0,1ml	
Lait en poudre et lactosérum en poudre	Enterobacteriaceae	5	2	10	10^2
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10^2
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Fromages au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10^4	10^5
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^3	10^4
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^2	10^3
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10^2
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Crème au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^3	10^4
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	