

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université MENTOURI – Constantine –
Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires

I.N.A.T.A.A.

Département de Biotechnologie Alimentaire

N° d'ordre :
N° de série :

Mémoire

De Magister en Sciences Alimentaires

Option : Biotechnologie Alimentaire

Thème

**QUALITE MICROBIOLOGIQUE DU LAIT CRU DESTINE A LA
FABRICATION D'UN TYPE DE CAMEMBERT DANS UNE
UNITE DE L'EST ALGERIEN**

Présenté par

Mme. Benhedane Née Bachtarzi Nadia

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président :	AGLI A.	Professeur	I.N.A.T.A.A, UMC.
Promotrice :	AMOURACHE L.	Docteur	I.N.A.T.A.A., UMC.
Examinatrices :	BARKAT M.	Docteur	I.N.A.T.A.A, UMC.
	KHARROUB K.	Docteur	I.N.A.T.A.A., UMC.

Année Universitaire : 2011/2012

REMERCIEMENTS

En guise de reconnaissance, je veux remercier toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce travail.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame Amourache L., qui m'a donné la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et les conseils m'ont permis de réaliser ce travail.

Je tiens à remercier les membres du jury :

Monsieur le professeur Agli. N., qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Madame Kharroub K. et Madame Barkat M., qui ont accepté de juger ce travail.

J'exprime à Monsieur Sefari H., Directeur Général de la laiterie Safilait, Madame Sefari A., responsable du laboratoire et Monsieur BelHenache responsable de la production une infinie reconnaissance pour avoir bien voulu nous accueillir et contribuer à la réalisation de notre travail.

Je dois à Monsieur Boukerrou A., Directeur du Laboratoire Régional Vétérinaire, Madame Boukerrou H. et Madame Guerraichi L., une grande reconnaissance pour nous avoir fait profiter de leurs connaissances en matière d'analyses microbiologiques.

Mes remerciements vont également à Monsieur le professeur Cerf O., pour son aide et son soutien.

J'adresse l'expression de ma vive et respectueuse gratitude à Madame Dehkal G., qui nous a fait bénéficier de son aide et de ses conseils très fructueux.

Comme je tiens à remercier le personnel de la bibliothèque de l'INATAA et toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Je dédie ce mémoire

A l'être le plus cher à mon cœur, à celle qui m'a guidée pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, à celle qui fut toujours à mes côtés, qui a illuminé mes nuits sombres et a ensoleillé mes jours avec son inépuisable affection, à ma mère à qui je voue tous mes sentiments que son âme repose en paix.

SOMMAIRE

Résumés	Page
---------	------

LISTE DES TABLEAUX
LISTE DES FIGURES
LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION	01
---------------------------	----

Partie I. Synthèse Bibliographique

1. Généralités sur le lait.....	03
1.1 Définitions du lait	03
1.2 Composition du lait.....	03
1.3 Variations dans la composition du lait.....	08
1.4 Quelques caractéristiques physico-chimiques du lait.....	10
1.5 Le lait de vache : matière première dans la fabrication du Camembert.....	11
2. Microbiologie du lait cru.....	12
2.1 Flore originelle.....	13
2.2 Flore de contamination.....	13
2.3 Principales activités microbiennes dans le lait.....	18
2.4 Contrôle de la qualité du lait destiné à la fabrication du Camembert.....	20
2.5 Contrôle bactériologique du lait cru.....	22
2.6 Altération du lait.....	30
3. Hygiène de la traite.....	31
3.1 Trayeur.....	31
3.2 Animal.....	32
4. Conservation du lait à la ferme.....	32

Partie II. Matériel et Méthodes

1. Echantillonnage.....	35
1.1 Lieu et saison de prélèvement	35
1.2 Prélèvements.....	35
1.3 Techniques de prélèvement.....	35
2. Analyses physico-chimiques.....	36
2.1 Détermination de la matière grasse.....	36
2.2 Détermination de l'acidité titrable.....	36
2.3 Détermination de la densité.....	36

3. Analyses microbiologiques.....	36
4. Méthodes statistiques.....	42
4.1 Statistiques élémentaires.....	42
4.2 Corrélations.....	42
4.3 Identifications biochimiques.....	42

Partie III. Résultats

1. Résultats des caractéristiques physico-chimiques	43
1.1 Acidité	43
1.2 Densité.....	43
1.3 Matière grasse	43
2. Résultats des analyses microbiologiques.....	44
2.1 Flore totale mésophile aérobie.....	44
2.2 Flore thermorésistante	45
2.3 Flore psychrotrophe.....	46
2.4 Streptocoques fécaux.....	47
2.5 Coliformes totaux.....	49
2.6 Coliformes fécaux.....	50
2.7 Salmonelles.....	51
2.8 Staphylocoques.....	51
3. Corrélation entre flores.....	54

Partie IV. Discussion

1. Caractéristiques physico-chimiques.....	57
1.1 Acidité.....	57
1.2 Densité et taux butyreux.....	57
2. Analyses microbiologiques.....	59
2.1 Flore totale mésophile aérobie.....	59
2.2 Flore thermorésistante.....	60
2.3 Flore psychrotrophe	61
2.4 Streptocoques fécaux.....	62
2.5 Coliformes totaux.....	63
2.6 Coliformes fécaux.....	64
2.7 Salmonelles.....	65
2.8 Staphylocoques.....	66

3. Corrélations entre les flores.....	68
CONCLUSION.....	69
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	71
ANNEXES	

Nom et prénom : **Benhedane née Bachtarzi Nadia** Année universitaire : **2011-2012**
Thème : **Qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de Camembert dans une unité de l'Est algérien**
Nature du diplôme : **Magister en Sciences Alimentaires**
Option : **Biotechnologie Alimentaire**

Résumé- Des échantillons de lait cru de vache (30), destinés à la fabrication d'un fromage type Camembert dans une laiterie de l'Est Algérien, ont été analysés durant la période de forte lactation (février à avril 2011).

Les résultats des caractéristiques physico-chimiques (densité et acidité) sont proches des normes, seul le taux butyreux est faible, avec une moyenne de 30,9 g/l, il dépend essentiellement du facteur alimentaire.

L'analyse microbiologique a porté sur 9 groupes microbiens : parmi les groupes indicateurs d'hygiène (flore totale, psychrotrophes, thermorésistants, coliformes et *Escherichia coli*) et certains groupes potentiellement pathogènes (*Staphylococcus aureus*, salmonelles). Les niveaux de contamination ont été interprétés sur la base des critères microbiologiques définis par l'arrêté interministériel du 24 janvier 1998. Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale, des psychrotrophes et des thermorésistants permet de souligner la forte contamination des échantillons analysés avec des moyennes respectives de $28,8 \cdot 10^6$ UFC/ml, $12,3 \cdot 10^5$ UFC/ml et $44,2 \cdot 10^4$ UFC/ml. Les échantillons de laits sont également contaminés par les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux avec des taux moyens respectifs de $50,3 \cdot 10^5$ UFC/ml, $36,7 \cdot 10^4$ UFC/ml et $55,4 \cdot 10^5$ UFC/ml. Le germe *E.coli* est présent dans 64% des laits analysés.

La présence de germes pathogènes est essentiellement attribuée aux staphylocoques avec une moyenne de $37,5 \cdot 10^2$ UFC/ml, 80% des souches isolées sont coagulase positive. L'étude de leurs profils de sensibilité aux antibiotiques a montré une fréquence de résistance de (100%) vis-à-vis de la pénicilline G, très peu de résistance vis-à-vis de l'oxaciline (8%), de la tétracycline (17%) et de l'association triméthoprime+sulfaméthoxazole (17%). Aucune résistance n'a été observée pour la céfoxitine, l'érythromycine, l'enrofloxacin et la vancomycine. Par ailleurs, on relève l'absence de salmonelles dans tous les échantillons. Au vu des normes algériennes (JORA, 1998), la qualité hygiénique de tous les échantillons de laits analysés, est mauvaise. Les laits sont fortement pollués, révélant des pratiques d'hygiène douteuses, que même des conditions de réfrigération optimales du lait, ne peuvent, en aucun cas, masquer. Ces résultats ne peuvent que renforcer la conviction de l'urgence d'un appui technique dans ce domaine, couplé à la révision du mode de paiement du lait : la prise en compte quotidienne de critères aussi élémentaires que les taux butyreux et protéiques et la contamination par les microorganismes. Il y va sûrement de la durabilité en Algérie d'une filière laitière qui soit apte à distinguer les diverses déclinaisons d'un produit aussi variable et périssable que le lait.

Mots clés : Lait, qualité, microbiologie, hygiène.

Abstract-

Samples of raw milk (30), for the manufacture of Camembert type cheese at a dairy in eastern Algeria, were analyzed during the period of high lactation (February-April 2011).

The results of physico-chemical characteristics (acidity and density) are close to the standards, only the fat content is low, with an average of 30.9 g / l, it depends mainly on the dietary factor.

Microbiological analysis is focused on 9 microbial groups: among the groups hygiene indicators (total bacteria, psychrotrophic, thermophilic, coliform and *Escherichia coli*) and some groups potentially pathogens (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*). Contamination levels were interpreted on the basis of microbiological criteria set by the ministerial decree of 24 January 1998. Enumeration of total aerobic mesophilic flora, psychrotrophic and thermophilic of serves to underscore the severe contamination of the samples analyzed with respective averages of $28,8 \cdot 10^6$ CFU / ml, $12,3 \cdot 10^5$ CFU / ml and $44,2 \cdot 10^4$ CFU/ml. Milk samples are contaminated with total coliforms, fecal coliforms and fecal streptococci with average respective $50,3 \cdot 10^5$ CFU / ml, $36,7 \cdot 10^4$ CFU / ml and $55,4 \cdot 10^5$ CFU/ml. The germ *E. coli* is present in 64% of milk analyzed.

The presence of pathogens is mainly attributed to staphylococci with an average of $37,5 \cdot 10^2$ CFU /ml, 80% of isolates were coagulase positive. The study of their susceptibility patterns to antibiotics showed a frequency of resistance (100%) vis-à-vis penicillin G, very little resistance vis-à-vis the oxaciline (8%) of tetracycline (17%) and trimethoprim + sulfamethoxazole association (17%). No resistance was observed for cefoxitin, erythromycin, enrofloxacin, and vancomycin. Moreover, we note the absence of *Salmonella* in all samples. In view of the Algerian standards (JORA, 1998), the hygienic quality of all milk samples analyzed, is bad. Milks are heavily polluted, revealing questionable hygiene practices, that even the best cooling conditions of milk, can not, under any circumstances, hide. These results can only strengthen the conviction of the urgent need for technical support in this area, coupled with the revision of payment of milk: the inclusion criteria daily as basic as the milk fat and protein and contamination by microorganisms. There will surely sustainability in Algeria of a dairy industry that is capable of distinguishing the various versions of a product as variable and perishable as milk.

Keywords: Milk, Quality, Microbiology, Hygiene.

ملخص

تم تحليل عينات من الحليب الخام (30)، لصنع نوع من جبن الكامبير في شرق الجزائر، خلال فترة الرضاعة العالية (من شباط الى نيسان 2011). نتائج الخصائص الفيزيائية والكيميائية هي قريبة من المعايير، إلا أن نسبة الدهون منخفضة، بمتوسط قدره 30.9 غ/ل ويرجع ذلك أساسا إلى العوامل الغذائية.

ويركز التحليل الميكروبيولوجي على المجموعات الميكروبية (9): من بين المؤشرات الصحية مجموعات (بكتيريا مجموع، المحبة للبرودة، صامد للحرارة، القولونية). وبعض المجموعات المسببة للأمراض يحتمل أن تكون (العنقوديات المخثرة إيجابية، والسالمونيلا القولونية). وفسرت مستويات التلوث على أساس معايير الميكروبيولوجية التي حددها قرار وزاري من 24 يناير 1998. تعداد بكتيريا مجموع، والمحبة للبرودة، وصامد للحرارة من يعمل على التأكيد على تلوث شديد في العينات التي تم تحليلها مع متوسطات كل من $UFC/ml\ 28 \cdot 8 \cdot 10^6$ ، $UFC/ml\ 12 \cdot 3 \cdot 10^5$ و $44 \cdot 2 \cdot 10^4$ UFC/ml . الملوثة عينات اللبن مع مجموع القولونيات، القولونيات البرازية والعقديات البرازية مع متوسط كل منها $UFC/ml\ 50 \cdot 3 \cdot 10^5$ ، $UFC/ml\ 36 \cdot 7 \cdot 10^4$ و $UFC/ml\ 55 \cdot 4 \cdot 10^5$. وكولاي جرثومة موجودة في 64% من الحليب التي تم تحليلها.

ويعود الجزء الأكبر من وجود مسببات الأمراض إلى العنقوديات بمتوسط $UFC/ml\ 37 \cdot 5 \cdot 10^2$ ، وكان 80% من العزلات مخثرة إيجابية. وأظهرت دراسة أنماط قابليتها للمضادات الحيوية وتيرة المقاومة (100%) للينسلين، ومقاومة قليلة جدا بالمقارنة تجاه 8% oxaciline من التتراسيكلين (17%) وتريميثوبريم + سلفاميثوكسازول (17%). وقد لوحظ عدم وجود مقاومة لسيفوكسين، الاريثروميسين، enrofloxacin، وفانكوميسين. وعلاوة على ذلك، نلاحظ عدم وجود السالمونيلا في جميع العينات.

في ضوء المعايير الجزائرية (جورا، 1998)، الجودة الصحية لجميع عينات الحليب التي تم تحليلها هي سيئة، وكشف عن تلوثا شديدا، الممارسات الصحية مشكوك فيها، أنه حتى في أفضل الظروف تبريد الحليب، لا يمكن، تحت أي ظرف من الظروف، تخفيه. ويمكن لهذه النتائج إلا تعزيز القناعة بالحاجة الملحة لتقديم الدعم التقني في هذا المجال، إلى جانب إعادة النظر في دفع الحليب: معايير الاشتمال يوميا أساسية مثل الحليب والدهون والبروتينات والتلوث بواسطة الكائنات الحية الدقيقة. هناك سوف تحقق بالتأكيد الاستدامة في الجزائر لصناعة الألبان التي هي قادرة على التمييز بين الإصدارات المختلفة من منتج كما متغير والقابلة للتلف مثل الحليب.

كلمات البحث: الحليب، الجودة، علم الأحياء المجهرية، والنظافة.

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau n°1 : Composition moyenne du lait de vache (Alais et <i>al.</i> , 2008)	7
Tableau n°2 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)	13
Tableau n°3 : Germes contaminant le lait cru (Jakob et <i>al.</i> , 2009)	15
Tableau n°4 : Sources et niveaux de contamination du lait (Cremona, 2003)	16
Tableau n°5 : Synthèse des principales activités métaboliques microbiennes dans les produits laitiers (Vignola, 2002)	23
Tableau n°6 : Relation entre la flore thermorésistante du lait cru et la durée moyenne de conservation du lait pasteurisé (en jours) (FAO, 1995)	26
Tableau n°7 : Récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite (Charron, 1986)	34
Tableau n°8 : Résultats des caractéristiques physico-chimiques des laits analysés et normes du lait cru de vache.	43
Tableau n°9 : Niveaux des différentes flores dénombrées dans les 30 échantillons de lait (UFC/ml)	44
Tableau n°10 : Résultats des caractères biochimiques des souches isolées du milieu SS purifiées sur Mac Conkey à partir des 30 échantillons de lait cru	52
Tableau n°11 : Résultats en pourcentage de la lecture de l'antibiogramme des souches de staphylocoques, coagulase positive, isolées à partir des échantillons de lait cru.	54
Tableau n°12 : Corrélations entre les 7 flores observées sur les 30 échantillons (après transformation logarithmique log UFC/ml)	55
Tableau n°13 : Coefficients de détermination (R^2)	55

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure n°1 : Critères de fromageabilité du lait (Jakob et Hänni, 2004)	12
Figure n°2 : Evaluation de la propreté des vaches (Levesque, 2004) (Etat1 propre ; 2 relativement propre ; 3 souillé; 4 très souillé)	17
Figure n°3 : Les critères de qualité du lait et leurs impacts (Cauty et Perreau, 2009)	21
Figure n°4 : Evolution de la flore bactérienne d'un lait réfrigéré (Auclair, 1979)	24
Figure n°5 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore totale (UFC/ml)	45
Figure n°6: Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore totale (UFC/ml)	45
Figure n°7 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore thermorésistante (UFC/ml)	46
Figure n°8 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore thermorésistante (UFC/ml)	46
Figure n°9 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore psychrotrophe (UFC/ml)	47
Figure n°10: Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore psychrotrophe.	47
Figure n°11 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en streptocoques fécaux (UFC/ml).	48
Figure n°12 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en streptocoques fécaux (UFC/ml)	48
Figure n°13 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en coliformes totaux (UFC/ml)	49
Figure n°14 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en coliformes totaux (UFC/ml)	49
Figure n°15 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en coliformes fécaux (UFC/ml)	50
Figure n°16 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en coliformes fécaux (UFC/ml)	50
Figure n° 17 : Résultat de la présence du germe <i>E.coli</i> dans les laits étudiés	51

Figure n° 18 :	Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en staphylocoques (UFC/ml)	51
Figure n° 19 :	Résultat de la coagulase	53
Figure n° 20 :	Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en staphylocoques (UFC/ml)	53
Figure n°21 :	Corrélation entre la flore psychrotrophe et les coliformes totaux (après transformation logarithmique).	56

LISTE DES ABREVIATIONS

- **AFNOR** : Association Française de Normalisation
- **ADH** : Arginine Dihydrolase
- **CIPC** : Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles
- **CL** : Clarck et Lubs
- **DSA** : Direction des Services Agricole
- **°D** : degré Dornic
- **FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nation
- **FIL** : Fédération International de Laiterie
- **INRA** : institut national de la recherche Agronomique
- **JORA** : Journal Officiel République Algérienne
- **LDC** : Lysine décarboxylase
- **MG** : Matière Grasse
- **ONIL** : Office National Interprofessionnel Du Lait
- **ONPG** : Orthonitrophenyl β -D-galactopyranoside
- **ODC** : Ornithine décarboxylase
- **TDA** : Tryptophane désaminase
- **TB** : Taux butyreux
- **TP** : Taux protéique
- **UFC** : Unité Formant Colonie
- **VP** : Voges-Proskauer

Introduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an (Kirat, 2007). Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière Lait connaît une croissance annuelle de 8%. Avec un taux de collecte inférieur à 15%, cette filière reste, cependant, fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (SILAIT, 2008).

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

En effet, selon l'Office National Interprofessionnel du lait en 2009, la production de lait cru a permis de par son intégration dans le processus de transformation au niveau des laiteries d'abaisser la facture d'importation de poudre de lait à environ 400 millions de dollars, contre 750 millions en 2008 (Bouziani, 2009).

Cependant, la production du lait de vache, se heurte souvent au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs. Les conditions d'hygiène au niveau des fermes, le maintien de la chaîne du froid tout le long du circuit de la production jusqu'à l'arrivée du lait à la laiterie, comportent autant de sources de contaminations à maîtriser afin de préserver la qualité hygiénique du lait (Faye et Loiseau, 2002).

La laiterie Safilait, dans sa démarche qualité est convaincue de la nécessité d'allier ses partenaires producteurs et collecteurs, à l'application des bonnes pratiques de production, afin d'améliorer la qualité des laits crus réceptionnés. En effet, avec un taux d'intégration du lait cru de près de 65%, comprenant une gamme de produits exclusivement à base de lait de vache, l'importance que revêt le concept qualité de la matière première, en l'occurrence le lait cru, est considérable dans l'aboutissement de produits dérivés de qualité.

Ces aspects relatifs à l'amélioration de la qualité (microbiologique et physico-chimique) du lait cru de vache, ont été cependant, peu étudiés. Or, les caractéristiques de l'élaboration de la qualité globale (physique, chimique et hygiénique) de ce produit et les spécificités du contexte d'élevage bovin en Algérie, auraient dû imposer, bien plutôt, la conduite de travaux de recherche appliqués à cette problématique.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude. Elle se donne comme objectif d'évaluer le degré de contamination microbiologique de la matière première, le lait cru de mélange, destiné à la fabrication du fromage à pâte molle type Camembert (100% lait de vache), dans l'optique d'identifier les défaillances en amont de la filière au niveau des fermes.

Notre recherche concernera les germes témoins de défaut d'hygiène: flore totale, flore psychrotrophe, flore thermorésistante, coliformes totaux, coliformes fécaux, *Escherichia coli* et streptocoques fécaux, ainsi que les germes pathogènes : *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*.

Partie I.

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

1. GENERALITES SUR LE LAIT

1.1 Définitions du lait

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant :

« Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum » (Alais, 1975).

Le *Codex Alimentarius* en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Selon Deforges et *al.* en 1999, le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes.

1.2 Composition du lait

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition générale est représentée au tableau n°1. Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (Roudaut et Lefrancq, 2005).

1.2.1 L'eau

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. En elle, sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (Mathieu, 1998).

1.2.2 Matière grasse

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre (Luquet, 1985). Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K (Goursaud, 1985).

La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe, dans la phase dispersante qu'est le lait écrémé (Boutonnier, 2008).

Cet état globulaire est fragile ; toute altération de la membrane par voie chimique, physique et microbienne conduit à la déstabilisation de l'émulsion. Cette évolution peut être accidentelle, elle se traduit alors le plus souvent par une séparation de la phase grasse sous forme d'huile ou d'agrégats et/ou par l'apparition de flaveurs indésirables (rancidité-oxydation) ; lorsqu'elle est dirigée, elle permet la concentration de la phase grasse sous forme de beurre après barattage, ou sous forme d'huile de beurre et de matière grasse laitière anhydre après chauffage et centrifugation (Madji, 2009).

1.2.3 Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait (Goursaud, 1985). Les protéines se répartissent en deux phases : une phase micellaire et une phase soluble. La phase micellaire représente la caséine totale (environ 80% des protéines du lait) du lait. Elle est formée par quatre protéines individuelles:

- Alpha-caséines ou caséines α_{s1} 36 % et α_{s2} 10 %
- Bêta-caséine ou caséine β 34 %
- Kappa-caséine ou caséine κ 13 %
- Gamma-caséines ou caséine γ 7 % (produits de la protéolyse de la β -caséine) (Goy et *al.*, 2005).

Une micelle de caséine contient environ 92 à 93% de protéines, les caséines, et 8% de minéraux. La partie minérale de la micelle comporte 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrate et de magnésium (2,9 % de Ca, 0,1% de Mg, 4,3% d'ions phosphate, 0,5% d'ions citrate) (Cayot et Lorient, 1998). La présence de phosphate de calcium lié à la caséine est l'une des forces responsables de la stabilité de la structure des micelles de caséine (Marchin, 2007).

Une propriété importante des micelles est de pouvoir être déstabilisée par voie acide ou par voie enzymatique et de permettre la coagulation. Elle constitue le fondement de la transformation du lait en fromage et en laits fermentés (Ramet, 1985). L'autre fraction protéique (environ 17%) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine (Cayot et Lorient, 1998).

1.2.4 Les glucides

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre. C'est un disaccharide constitué par de l' α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (Luquet, 1985):



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

- Fermentation lactique : due aux bactéries lactiques naturelles ou ajoutées (ferments lactiques) qui utilisent le lactose en le transformant en acide lactique. Cette fermentation lactique est souvent accompagnée d'une production plus au moins grande de substances secondaires (ex. diacétyl) responsables de l'arôme des produits laitiers (Gordon et Loisel, 1991).

- Fermentation propionique : due aux bactéries propioniques qui transforment le lactose en acide propionique et en acide acétique responsables de la saveur des fromages à pâte cuite et en gaz carbonique induisant l'ouverture de ces fromages (Luquet, 1985).

- Fermentation butyrique : par des bactéries du genre *Clostridium* qui utilisent l'acide lactique déjà produit en le transformant en acide butyrique, responsable d'odeurs putrides et de goût piquant, et en gaz carbonique et hydrogène. Ces substances induisent le gonflement tardif des fromages, en particulier à pâte cuite.

- Fermentation alcoolique : due à des levures qui hydrolysent le lactose en glucose et galactose et qui transforment ensuite le glucose en alcool éthylique. Cette fermentation est utilisée en particulier dans la fabrication du kéfir, boisson issue de la fermentation du lait, contenant peu d'alcool et légèrement gazeuse.

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

1.2.5 Matière minérale

La matière minérale du lait (7g à 7,5g/l) est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique. Il est possible de doser les matières minérales ou cendres du lait par une méthode de calcination à 550°C (Luquet, 1985).

Les minéraux sont présents, soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Les ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions (Mathieu, 1998).

Il existe un équilibre entre les formes solubles et colloïdales, d'une part, et entre les formes ionisées et non dissociées d'autre part. Cet état est précaire parce qu'il est sensible à divers facteurs, notamment au pH, à la température, et à la concentration ou à l'addition de calcium. Toute altération de ces équilibres modifie la stabilité du lait, notamment les propriétés de la caséine native.

En raison de la présence concomitante de lactose et de phosphopeptides (produits d'hydrolyse de la caséine), les minéraux sont, de tous les éléments du lait, ceux qui sont les mieux adsorbés et retenus. A cet égard, le rapport calcium/phosphore (Ca/P) du lait de vache (voisin de 1,2), bien qu'inférieur à celui du lait maternel (voisin de 2,2), est de loin supérieur à celui des autres denrées alimentaires, faisant du lait une excellente source de calcium et un bon correctif des rations pauvres en calcium (FAO, 1995).

1.2.6 Biocatalyseurs

1.2.6.1 Enzymes

Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Plus de 60 enzymes principales ont pu être isolées du lait ou dont l'activité a été déterminée. La moitié d'entre elles sont des hydrolases (Blanc, 1982 ; Pougheon, 2001).

Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

- Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipases, protéases). Ainsi, on distingue des protéases originelles du lait ; la plasmine est le composant majoritaire (elle provient du sang et migre via la glande mammaire), et des protéases d'origine microbienne. Le genre *Pseudomonas* et tout particulièrement l'espèce *Pseudomonas fluorescens*, synthétise des protéases exocellulaires thermostables. Il est également à souligner que dans les laits de mammites, le nombre de cellules somatiques peut être considérablement accru, le niveau de protéolyse est nettement plus élevé que dans les laits normaux (Miranda et Gripon, 1986).

- Rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et lysozyme).
- Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase, acétylsterase, sont des enzymes thermosensibles) et d'espèces (test de la xanthine-oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre) (Pougheon, 2001).

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

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

1.2.6.2 Vitamines

Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique.

On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait et
- les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (Debry, 2001).

1.3 Variations dans la composition du lait

Le lait qui arrive à l'usine, constitue une matière première dont la composition n'est pas fixe. Ce caractère rend donc l'utilisation de cette matière première assez difficile, diminue les rendements et modifie les caractères organoleptiques des produits finis.

Deux grands types de variation existent, au stade de l'animal et au stade du traitement du lait. La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs (Stoll, 2003).

Ces principaux facteurs de variation sont bien connus. Ils sont soit intrinsèques liés à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire, etc.), soit extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation). Cependant, si les effets propres de ces facteurs ont été largement étudiés, leurs répercussions pratiques sont parfois plus difficiles à interpréter compte tenu de leurs interrelations (Wolter, 1988).

1.3.1 Facteurs intrinsèques

1.3.1.1 Facteurs génétiques

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

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

1.3.1.2 Stade de lactation

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

1.3.1.3 Age et nombre de vêlage

Veisseyre en 1979, montre que la quantité de lait augmente généralement du 1^{er} vêlage au 5^{eme}, puis diminue sensiblement et assez vite à partir du 7^{eme}.

Le vieillissement des vaches provoque un appauvrissement de leur lait, ainsi la richesse du lait en matière sèche tend à diminuer. Ces variations dans la composition sont attribuées à la dégradation de l'état sanitaire de la mamelle ; en fonction de l'âge, le nombre de mammites croit et la proportion de protéines solubles augmente en particulier celles provenant du sang (Mahieu, 1985).

1.3.1.4 Etat sanitaire

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

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

1.3.2 Facteurs extrinsèques

1.3.2.1 Alimentation

L'alimentation joue un rôle important ; elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse et de protéines. En effet, selon Coulon et Hoden en (1991), le taux protéique varie dans le même sens que les apports énergétiques, il peut aussi être amélioré par des apports spécifiques en acides aminés

(lysine et méthionine). Quant au taux butyreux, il dépend à la fois de la part d'aliment concentré dans la ration, de son mode de présentation et de distribution (finesse de hachage, nombre de repas, mélange des aliments).

1.3.2.2 Saison et climat

L'effet propre de la saison sur les performances des vaches laitières est difficile à mettre en évidence compte tenu de l'effet conjoint du stade physiologique et des facteurs alimentaires (Coulon et *al*, 1991).

A partir des travaux réalisés par Spike et Freeman en (1967) cité par Coulon et *al*. en (1991), il a été montré que la production laitière est maximale au mois de juin et minimale en décembre. A l'inverse, les taux butyreux et protéique du lait sont les plus faibles en été et les plus élevés en hiver. Chez des vaches de type pie noire, ils atteignent 3g/Kg pour le taux butyreux et près de 2g/Kg pour le taux protéique.

1.4 Quelques caractéristiques physico-chimiques du lait

1.4.1 La densité

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (Vierling, 2008).

1.4.2 L'acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (Mathieu, 1998). C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes (CIPC lait, 2011).

On exprime couramment l'acidité d'un lait en degrés Dornic ; ce dernier étant le nombre du dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer 10 millilitres de lait en présence de phénolphtaléine.

Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités titrables différentes et inversement. C'est dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration (Dieng, 2001).

1.4.3 Le point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre $-0,54\text{ °C}$ et $-0,55\text{ °C}$ (Mathieu, 1998).

La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ $0,0055\text{ °C}$ (Goursaud, 1985).

1.4.4 Le pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH, car :

$$\text{pH} = \log 1 / [\text{H}_3\text{O}^+]$$

A la différence avec l'acidité titrable qui elle mesure tous les ions H^+ disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait (CIPC lait, 2011).

Un lait mammiteux, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un $\text{pH} > 7$ et le colostrum un pH voisin de 6 (Luquet, 1985).

1.5 Le lait de vache : matière première dans la fabrication du Camembert

La fabrication du fromage à pâte molle type Camembert exige l'emploi d'un lait de haute qualité bactériologique et physico-chimique. Ainsi, dans les pays à grande tradition fromagère tel que la France, ce fromage est élaboré, soit directement à partir du lait cru, soit à partir du lait pasteurisé.

Remeuf et *al.*, en 1991 soulignent que la fromageabilité du lait c'est à dire l'aptitude à la transformation du lait en fromage est dépendante d'un certain nombre de paramètres (figure n°1) dont :

- Sa composition chimique (richesse en caséines) ;
- Son comportement vis-à-vis de l'enzyme coagulante la présure;
- Son aptitude au développement des bactéries lactiques (présence de résidus d'antibiotiques) ;
- Enfin, sa charge microbienne et la nature de sa microflore.

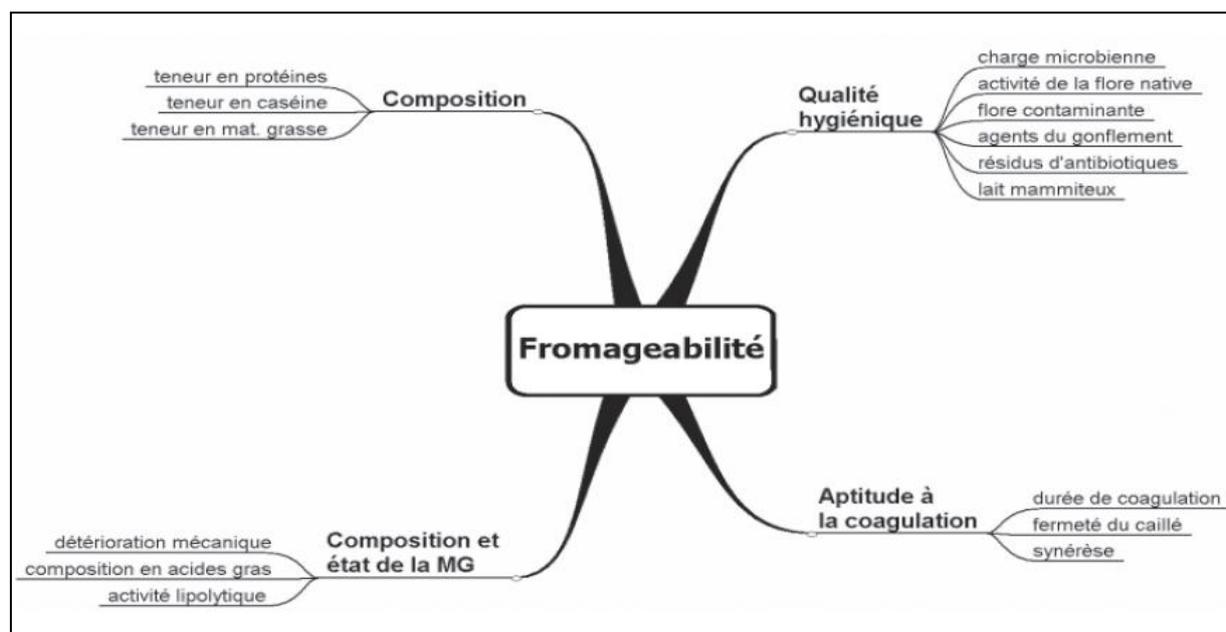


Figure n°1 : Critères de fromageabilité du lait (Jakob et Hänni, 2004).

2. MICROBIOLOGIE DU LAIT CRU

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

Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (Institut de l'élevage, 2009).

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (Agabriel et *al.*, 1995), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (Robinson, 2002). Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par

millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml (Ramet, 1985).

Dans cette microflore contaminante, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première (Adda et al, 1982).

2.1 Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (Cuq, 2007).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (Vignola, 2002). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles.

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Varnam et Sutherland, 2001). Le tableau n°2 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau n°2 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002)

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

2.2 Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement : entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, microcoques, corynébactéries, *Bacillus*, etc., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière (tableau n°3).

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (Leyral et Vierling, 2007).

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

Hormis les maladies de la mamelle, le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (tableau n°4) (FAO, 1995).

2.2.1 Contaminations du lait cru au stade de la production

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au mieux dans l'heure qui suit la traite.

Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelques jours) (Guiraud et Galzy, 1980).

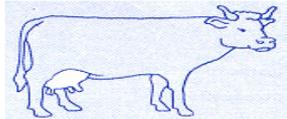
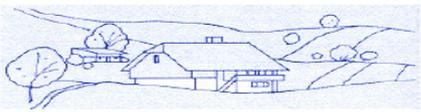
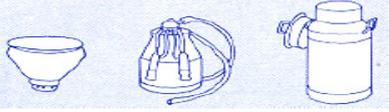
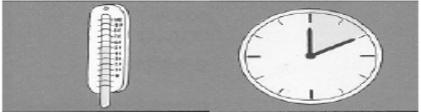
Tableau n°3 : Germes contaminant le lait cru (Jakob et al., 2009).

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

2.2.1.1 Contamination par l'animal

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

Tableau n°4 : Sources et niveaux de contamination du lait (Crema, 2003)

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

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

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

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

La propreté des vaches a un impact significatif sur la santé du pis et en particulier sur le taux de mammites environnementales. Le maintien de la propreté du pis et des membres des vaches permet de diminuer la propagation d'agents pathogènes de l'environnement vers le canal du trayon. Selon la zone de l'animal qui est souillée, on peut déterminer que les lieux dans l'étable où le niveau de propreté est inadéquat et ainsi apporter les correctifs nécessaires (figure n°2) (Levesque, 2004).

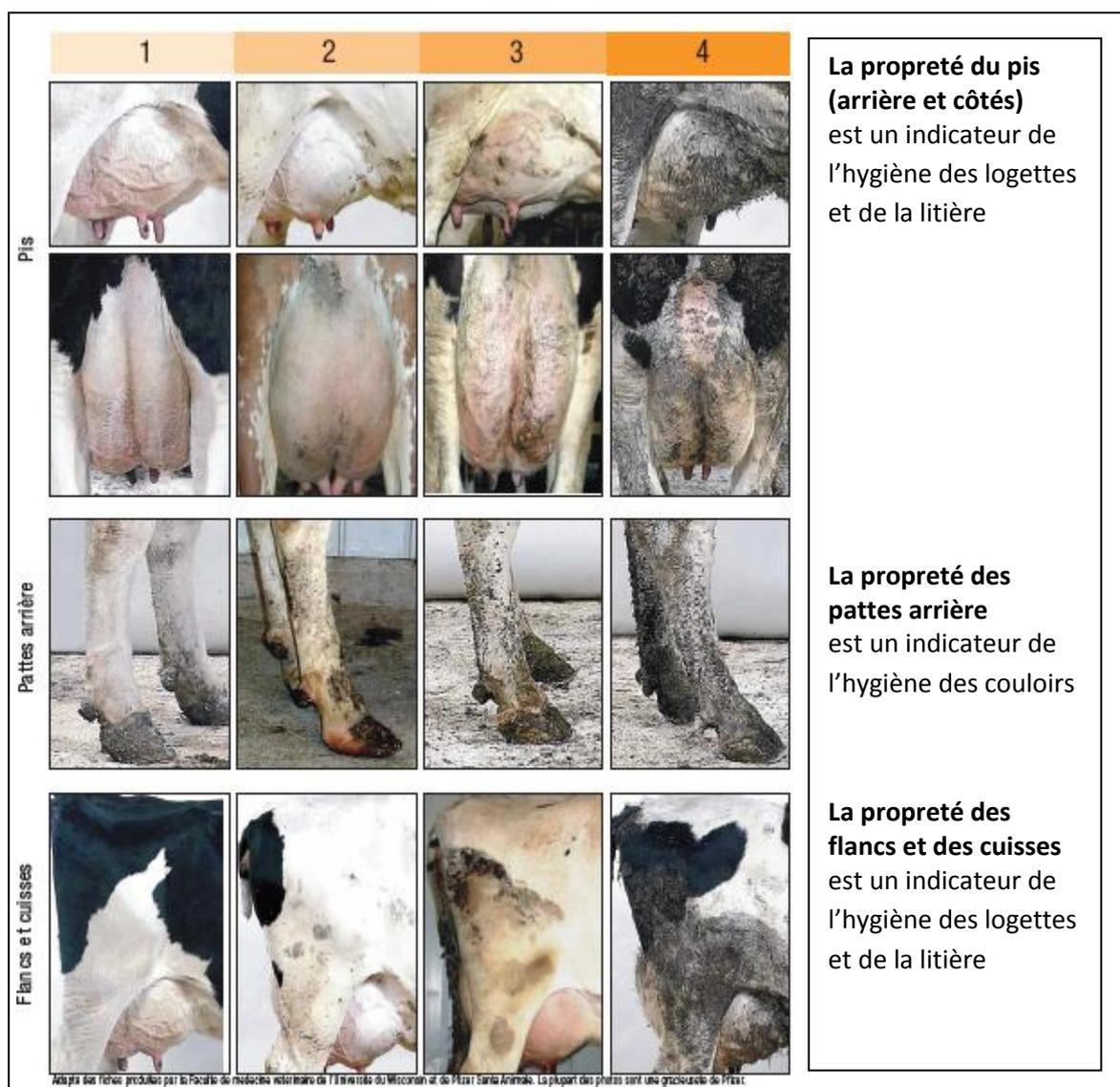


Figure n°2 : Evaluation de la propreté des vaches (Levesque, 2004).
(Etat1 propre ; 2 relativement propre ; 3 souillé; 4 très souillé)

2.2.1.2 Contamination au cours de la traite

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

Dans le lactoduc et l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque que seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents. Les niveaux des flores d'altération sont alors du même ordre de grandeur que ceux des groupes utiles.

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

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

2.2.1.3 Contamination au cours du transport

La collecte et le transport se font grâce à des camions-citernes réfrigérés qui récoltent régulièrement le lait dans les fermes. Ils doivent respecter un certain nombre de règles légales afin de livrer un lait de bonne qualité, notamment par le maintien du lait au froid qui a pour but d'arrêter le développement des microorganismes. Il constitue un traitement de stabilisation (Weber, 1985).

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

2.3 Principales activités microbiennes dans le lait

Les altérations du lait sont associées à la multiplication de levures, moisissures et bactéries. Cependant et compte tenu de leurs caractères écologiques, les contaminations bactériennes sont les plus fréquentes et les plus importantes et leurs potentialités de développement les plus à craindre.

Ces processus de dégradation sont possibles, lorsque les conditions du milieu environnant sont favorables à la prolifération microbienne et à l'activité enzymatique. De graves défauts de goût et d'odeur peuvent apparaître par accumulation des produits issus, soit du métabolisme cellulaire, soit de l'action de systèmes enzymatiques complexes sur les constituants du lait. Le plus fréquemment, il s'agit de lait acide, amer,

fruité, rance, malté, à gout étranger (Kim et *al.*, 1982). Les principales activités microbiennes sont regroupées dans le tableau n°5.

2.3.1 Fermentation homolactique et hétérolactique avec acidification du lait

Un tel processus conduit à la coagulation de la caséine et à la prise en masse du lait. Selon la température du lait et les bactéries impliquées, le phénomène de coagulation sera plus ou moins rapide : de 10°C à 37°C, le germe le plus fréquemment impliqué est *Streptococcus lactis* avec plus rarement association avec des coliformes, entérocoques, microcoques et lactobacilles.

Au dessus de 37°C, les germes en cause sont *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis* et *Lactobacillus bulgaricus*. A des températures inférieures à 10°C, le processus est plus lent, la prise en masse nécessite un délai relativement important. Le caillot peut être dégradé dans une seconde étape par les espèces psychrotrophes protéolytique : *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, microcoques ... (Guiraud et Galzy, 1980 ; Leyral et Vierling, 2007).

Après pasteurisation, l'acidification est produite par des germes thermotolérants ou des sporulés ayant résisté comme les *Clostridium* et les *Bacillus*. Lorsque des bactéries lactiques hétérofermentaires interviennent, il y a en plus des acides organiques, de nombreux composés volatils variés (aldéhydes, cétones, alcools) (Guiraud, 2003). Ces composés, lorsqu'ils sont élaborés en quantité limitée, sont parfois recherchés, car ils contribuent à former le bouquet caractéristique de beaucoup de produits laitiers ; mais lorsqu'ils sont présents à forte concentration, ils engendrent des mauvais goûts et odeurs. Un exemple classique est donné par le diacétyle qui à l'état très dilué est responsable d'un goût de noisette et à l'état plus concentré se traduit par une amertume marquée (Kim et *al.*, 1982).

2.3.2 Protéolyse

Au cours de leurs activités métaboliques, certains microorganismes, grâce à l'action de leurs protéases, dégradent des fractions protéiques du lait. Ce phénomène produit la libération de sous produits très variés, dont des peptides à longue ou courte chaîne à l'origine des goûts amers, des flaveurs non désirées et atypiques ou de textures inadéquates des fromages contaminés. Les germes incriminés sont *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* ainsi que d'autres germes de la flore banale à Gram négatif (Vignola, 2002 ; Guiraud, 2003).

Le genre *Pseudomonas*, avec comme espèce principale *P.fluorescens*, est dominant dans les laits conservés à basse température, les comportements des enzymes sécrétées sont loin d'être homogènes mais elles sont très thermorésistantes (Chilliard et Lamberet, 1984).

Dans d'autres cas, la protéolyse est recherchée, elle est contrôlée et joue un rôle primordial dans l'obtention d'une texture caractéristique et de saveurs désirées de divers types de fromage lors de l'affinage (Vignola, 2002), l'activité protéolytique des bactéries lactiques en est le meilleur exemple, ces bactéries dotées d'un système protéolytique complexe comprenant des protéases situées à la surface cellulaire, et une large gamme de peptidases intracellulaires, qui lorsqu'elles sont libérées dans le caillé fromager participent efficacement à l'affinage du fromage (Roudj et al., 2009).

2.3.3 Lipolyse

La lipolyse est une réaction enzymatique de dégradation de la matière grasse qui se traduit dans le lait par une augmentation de la teneur en acides gras libres. Au-delà de certains seuils, cette augmentation peut provoquer l'apparition de défauts de goûts (rance, savon...) dans les produits laitiers (Heuchel et al., 2003).

Dans un lait cru réfrigéré, la flore dominante est représentée par les psychrotrophes. 70% ou plus de cette population possèdent une activité lipolytique. Cependant, elle n'est perceptible au goût qu'à partir des teneurs de 10^6 à 10^7 germes/ml, c'est-à-dire pour des laits crus considérés comme très pollués (Richard, 1983 ; Chilliard et Lamberet, 1984).

L'activité lipolytique est exploitée dans la production du Brie, du Saint-paulin et de nombreux fromages à pâtes molles, elle est alors contrôlée (Vignola, 2002).

2.4 Contrôle de la qualité du lait destiné à la fabrication du Camembert

La qualité du lait est déterminée sur la base de six critères différents : le nombre de germes, le nombre de cellules somatiques, la présence de résidus d'antibiotiques ou de désinfectants, le point de congélation et la propreté visible (figure n°3).

Le nombre de germes est utilisé pour mesurer la contamination par les bactéries. Le matériel de traite peut constituer une importante source de contamination. De même, le refroidissement insuffisant du lait entraîne une augmentation du nombre de germes. Les exigences pour ce critère varient selon le devenir du lait. Ainsi, ils seront plus sévères dans le cas de fabrication de fromage au lait cru que lorsqu'il y a pasteurisation.

Le nombre de cellules somatiques est un indicateur important de la sante du pis. Un lait chargé en cellules présente un taux de protéines solubles élevé, une faible teneur en caséine, une protéolyse et une lipolyse accrue. En conséquence, le rendement fromager est diminué et des difficultés de coagulation apparaissent.

Pour le traitement des animaux malades, l'emploi de médicaments vétérinaires, notamment d'antibiotiques, peut s'avérer nécessaire. Il est, toutefois, strictement interdit de fournir du lait contenant des substances inhibitrices dépassant les normes légales. A cette fin, chaque livraison de lait est analysée quant à la présence de résidus d'antibiotiques.

Les désinfectants sont nécessaires pour garder l'installation exempte de bactéries. Grâce à un rinçage à l'eau claire, les restes de ces produits sont éliminés. Si ce rinçage n'est pas effectué ou est insuffisant, des restes de ces produits peuvent aboutir dans le lait.

Le point de congélation du lait indique la présence d'eau ajoutée dans le lait. Le plus souvent, c'est dû à la négligence dans le nettoyage de l'installation de traite, de sorte que de l'eau de rinçage se mélange au lait. Mais il peut être le résultat d'une fraude.

La propreté visible est déterminée par le filtrage du lait à l'aide du matériel filtrant adéquat. Un filtre sale indique que le pis et son environnement sont insuffisamment propres.

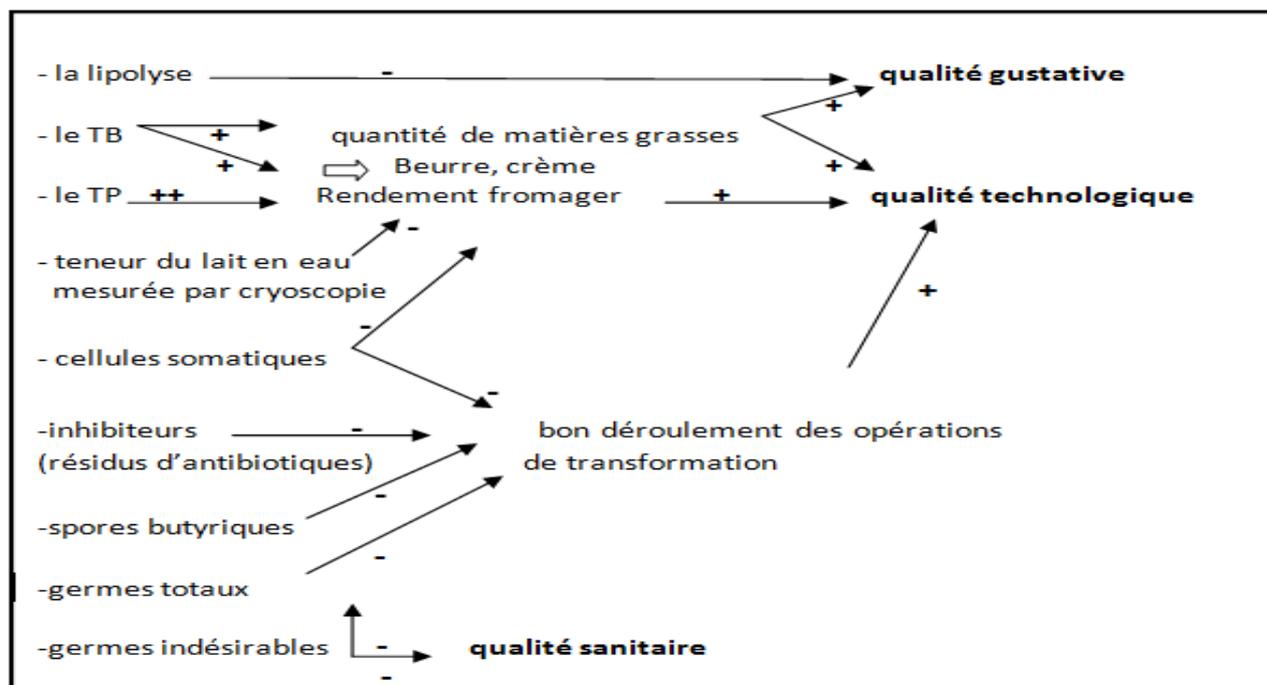


Figure n°3 : Les critères de qualité du lait et leurs impacts (Cauty et Perreau, 2009).
(+) effet positif ; (-) effet négatif

La composition du lait est contrôlée par deux critères : la teneur en matière grasse et la teneur en protéines. La valeur économique du lait dépend surtout de ces composants. Ils constituent la base de la production de fromage, de yaourt, de beurre, de crème, etc. (Gabli, 2005 ; Michel, 2005 ; Cauty et Perreau, 2009).

Ces six critères définissent les trois composantes de la qualité du lait (figure n°3) :

- La qualité technologique, elle dépend de la composition chimique (TB, TP), de la qualité bactériologique et de l'aptitude à la transformation ;
- La qualité sanitaire, le lait doit provenir de vaches saines, ne présentant aucune trace d'antibiotiques, d'antiseptiques, ou de pesticides
- La qualité gustative : bonne saveur, absence de goût désagréable, pas de rancissement (Cauty et Perreau, 2009).

2.5 Contrôle bactériologique du lait cru

L'appréciation de la qualité bactériologique du lait cru consiste en la recherche des germes pathogènes, des germes utiles et des germes nuisible à la conservation. Ces micro-organismes peuvent proliférer dans le lait qui constitue un excellent milieu de culture. Selon l'intérêt de l'étude, on oriente donc notre recherche. Dans ce cas précis, on s'intéresse aux germes pathogènes et aux germes indésirables qui génèrent des problèmes de transformation fromagère et qui peuvent être gênants pour le consommateur.

2.5.1 Flore mésophile aérobie totale

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

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

Tableau n°5 : Synthèse des principales activités métaboliques microbiennes dans les produits laitiers (Vignola, 2002)

Composants	Réactions	Produits	Microorganismes
Glucide est le premier (substrat privilégié) β-galactosidase	Lactose Glucose + Galactose	Acide lactique Acide lactique + CO ₂ Acides mites + CO ₂ Ac. Propionique + CO ₂ Ac. Butyrique + CO ₂ Polysaccharides Alcool Désacidification	Bactéries lactiques homo fermentaires Bactéries lactiques hétéro fermentaires Bactéries entériques <i>Propionibacterium</i> sp. <i>Clostridium</i> sp. Bactéries filantes Levures Levures et moisissures
Protéines protéases	Protéines Longs peptides (amertume) Courts peptides Acides aminés	Acides aminés ou dérivés (fruités, maltés...) Composés soufrés Composés ammoniacaux Amertume Polypeptides	Psychrotrophes Levures et moisissures <i>Propionibacterium</i> sp. <i>Brevibacterium</i> sp. Ferments lactiques Bactéries filantes
Lipides Lipases	Lipides Glycérol + Acides gras libres	Rancidité	Psychrotrophes Levures et moisissures <i>Propionibacterium</i> sp. <i>Brevibacterium</i>

L'évolution de la flore microbienne dans le lait diminue avec l'abaissement de la température, tel que représenté sur la figure n°4. Un lait pauvre en germes, peut se conserver 3 jours à 4°C. Le 3^e jour, le seuil de population bactérienne atteint 10^6 bactéries/ml. C'est le seuil critique d'altération. Si le lait contient plus de 50 000 germes par ml, ce seuil critique est atteint le 2^e jour à 6°C, au cours d'un laps de temps qui s'écoule entre la traite et le traitement du lait à l'usine (Bourgeois et al, 1996).

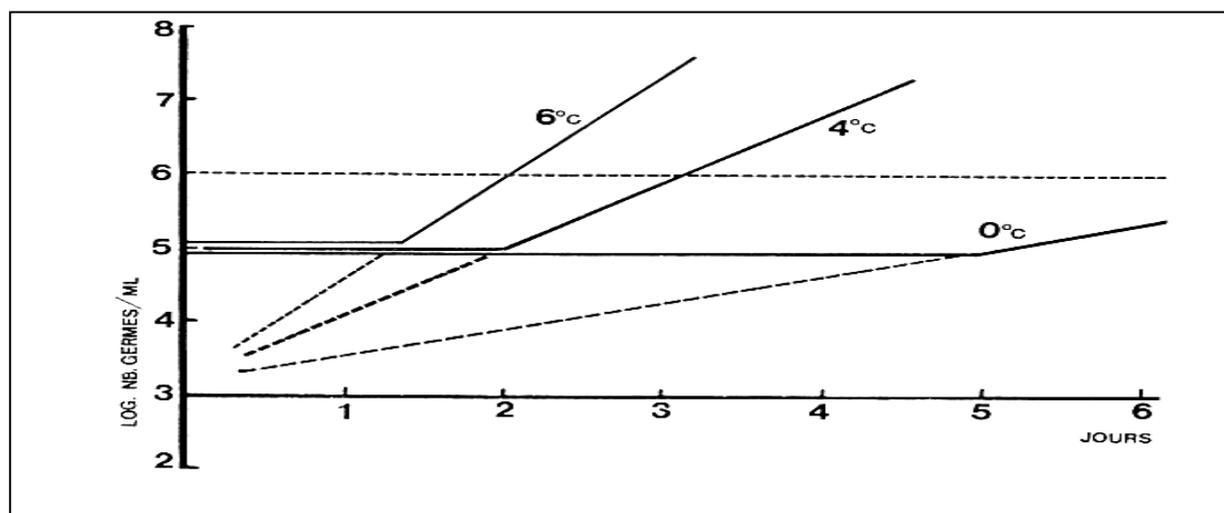


Figure n°4: Evolution de la flore bactérienne d'un lait réfrigéré (Auclair, 1979).

Cependant, la corrélation entre la flore totale et certaines flores spécifiques, comme les coliformes et les bactéries thermorésistantes, est assez faible. Aussi, la seule mesure des germes totaux ne suffit pas à bien évaluer les risques liés à ces groupes microbiens qu'il convient, alors, de dénombrer pour améliorer le diagnostic (Institut de l'élevage, 2009).

2.5.2 Les germes responsables des défauts de fabrication

Il s'agit principalement de psychrotrophes et de thermorésistants. Ces deux types de germes entraînent des défauts organoleptiques, des problèmes de protéolyse (dégradation des protéines) responsables de la baisse du rendement fromager et de la lipolyse.

2.5.2.1 Flore psychrotrophe

La conservation du lait au froid aboutit à une sélection des germes psychrotrophes capables de se multiplier à des températures égales ou inférieures à 7°C. Ces germes proviennent du sol, des eaux ou des fourrages.

Ils ne constituent pas un groupe taxonomique à part, mais, présentent quelques caractères en commun : aérobies, Gram négatif, non sporulés (Mocquot et Auclair, 1967 ; Thomas, 1973). Ces bactéries appartiennent à certains genres : *Pseudomonas* (*Ps. fluorescens*, *Ps. putrefaciens...*), *Alcaligenes* (*A. viscolactis*, *A. tolerans...*), *Flavobacterium* (*F.lactis*, *F.malodosis*), ainsi que des entérobactéries des genres *Enterobacter*, *Serratia* et *Hafnia*. Les espèces bactériennes Gram positif, sont moins fréquentes. On rencontre notamment des *Bacillus* et des *Clostridium* (Auclair, 1979).

Les bactéries lactiques sont largement représentées au sein du groupe des psychrotrophes. Ce sont des bacilles ou des cocci à Gram positif, non sporulés, dépourvus de catalase, produisant de l'acide lactique selon un métabolisme homo ou hétéro-fermentaire. Les lactobacilles présentent une activité jusqu'à une température de +2°C (Bornert, 2000).

Selon Schultz, (1958) cité par Dehkal, (1982), 90% des souches psychrotrophes sont, soit lipolytiques, soit protéolytiques, 60% possèdent ces deux caractères. Les protéases extracellulaires de ces bactéries sont, sans doute, les enzymes qui ont été les plus étudiées. Il s'agirait, pour la plupart, de métalloprotéases (inhibition par des agents chélateurs). Elles résistent remarquablement à haute température. Cependant, certaines d'entre elles ont un minimum de stabilité au voisinage de 55°C (Auclair, 1979).

Leur action peut se manifester dans le lait cru, car elles sont produites dès le début de la phase de croissance, elle est particulièrement importante à basse température. Chez *Ps. fluorescens*, par exemple, l'élaboration d'enzyme est six fois plus forte à 3°C qu'à 28°C (Lenoir et al., 1974 ; Auclair et Lenoir, 1980).

Une activité lipasique extracellulaire a été trouvée dans la plupart des bactéries psychrotrophes, et des défauts des produits laitiers liés à cette activité ont été reconnus. Il s'agit d'abord de la rancidité due à l'hydrolyse des triglycérides et à l'apparition d'acides gras libres et occasionnellement de défauts dus à la formation de composés carbonylés et d'autres produits volatils (Bourgeois et al, 1996).

Certaines lipases sont inactivées entre 52,5°C et 57,5°C, mais les lipases de la plupart des bactéries psychrotrophes sont thermostables. Ainsi, l'enzyme de *Pseudomonas fragi* n'est complètement inactivée qu'après un chauffage de 100°C pendant 3mn, celle d'*Achromobacter lipoliticum* exige un traitement de 99°C durant 40 mn (Lenoir et al., 1974).

2.5.2.2 Flore thermorésistante

Un certain nombre de bactéries sont capables de résister aux traitements thermiques usuels utilisés dans le but d'assainir ou de conserver le lait. Elles sont dites thermorésistantes (Guiraud, 2003). Leur développement ultérieur peut altérer les produits et, parfois, être dangereux pour la santé. On distingue :

- La flore thermorésistante totale, définie comme la flore résiduelle après un traitement à 63°C pendant 30 minutes ou un traitement équivalent tel que la pasteurisation HTST (High Temperature Short Time 72 °C pendant 15 secondes).
- La flore moyennement thermorésistante, qui n'est pas détruite par chauffage à 75°C pendant 12 secondes.
- La flore fortement thermorésistante, qui n'est pas détruite par chauffage à 80°C pendant 10 minutes. Elle comprend notamment des spores bactériennes, dont beaucoup nécessitent des températures supérieures à 100°C pour être inactivées (FAO, 1995). Les spores butyriques en sont un exemple. En effet, ils germent lors de l'affinage des fromages et provoquent des fermentations à l'origine de la formation de gaz (CO₂ et hydrogène) qui font gonfler, voire éclater certains fromages à pâte cuite (Cauty et Perreau, 2009).

Cette flore est apportée dans le lait par le sol, les ensilages, les fèces et les résidus dus à l'insuffisance de nettoyage et de désinfection des matériels en contact avec le lait (Mourgues et al, 1983). Au même titre que les coliformes, elle est une bonne indicatrice de l'hygiène de la machine à traire (Institut de l'élevage, 2009).

Mourgues et Auclair (1973), ont démontré qu'en l'absence de toute recontamination post-pasteurisation, la durée de conservation du lait pasteurisé est limitée par des bactéries provenant du lait cru, donc thermorésistantes (tableau n°6).

Tableau n°6 : Relation entre la flore thermorésistante du lait cru et la durée moyenne de conservation du lait pasteurisé (en jours) (FAO, 1995).

Nombre de thermorésistants	Durée de conservation à			
	6°C		8°C	
	pour atteindre 30 000 germes/ml	avant défaut de goût	pour atteindre 30 000 germes/ml	avant défaut de goût
1 000	20	27	11	17
10 000	12	23	7	13
100 000	4	18	3	10

2.5.3 Les marqueurs ou bactéries témoins de contamination fécale

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

2.5.3.1 Coliformes

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles Gram-, asporulés, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies anaérobies facultatifs) qui fermentent le lactose avec production de gaz. Il s'agit d'un groupe disparate non défini sur le plan taxonomique qui comprend les genres *Escherichia* (avec espèces *coli*, *intermedium*, *freudii*), *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Cuq, 2007). Leur développement est freiné par l'abaissement du pH et leur croissance stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. Ils sont peu résistants à la chaleur (Le Minor et Richard, 1993).

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

- les non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 30°C.
- les fécaux dont l'origine essentielle est le tube digestif, qui sont plus thermotolérants (détectés à 44°C). *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe.

Dans le domaine de la microbiologie des denrées alimentaires, *E. coli* sert en général d'indicateur de contaminations fécales : elle se développe à une température de 44°C, et produit de l'indole. En fabrication fromagère, on rencontre les colibactéries surtout en tant qu'agent causal du défaut «mille trous». Ceci pouvant être dû soit à une contamination excessive du lait, soit à un stockage du lait à une température trop élevée ou encore à une mauvaise acidification due à la présence de substances inhibitrices (Jakob et Winkler, 2009).

Le contrôle d'*E. coli* s'effectue au cours du processus de fabrication. Pour les fromages à pâte mi-dure, le contrôle se fait dans le fromage avant saumurage. En ce qui concerne les fromages au lait cru ou partiellement thermisés, le contrôle s'effectue dans le fromage après saumurage et pour les fromages à pâte molle au lait thermisé ou pasteurisé, il se fait sur produit fini avant commercialisation (Jakob et *al.*, 2009).

2.5.3.2 Streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux (*Enterococcus* ou streptocoques du groupe D) sont des commensaux de l'intestin. *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain (Clausen et *al.*, 1977; Gleeson et

Gray, 1997). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains (Olivieri, 1982), à des concentrations variant de 10^5 à 10^8 bactéries/g (Gleeson et Gray, 1997 ; Edberg et *al.*, 2000; Hancock et Gilmore, 2000).

Quant aux streptocoques du groupe D susceptibles de contaminer le lait, ils sont plutôt typiques des déjections animales, comme *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *S. gallolyticus* et *S. alactolyticus* (Clausen et *al.*, 1977 ; Farrow et *al.*, 1984 ; Bitton, 1999). Ces espèces colonisent les intestins du bétail, des chevaux et de la volaille bien qu'elles puissent parfois être présentes chez l'humain, en particulier *S. bovis* (Ruoff et *al.*, 1989 ; Devriese et *al.*, 1998). Leur détection témoigne, généralement d'une pollution fécale ancienne (Clausen et *al.*, 1977).

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

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

2.5.4 Flore pathogène

L'origine des contaminations par les bactéries pathogènes varie en fonction de la nature du produit et de son mode de production et de transformation.

La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, et elle fait, alors, suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux, personnel) (Brisabois et *al.*, 1997). Parmi ces germes nous avons :

2.5.4.1 Salmonelles

Ces entérobactéries lactose-, H_2S + sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elles ne font pas partie de la flore commensale du tube digestif de leurs hôtes, mais le portage asymptomatique reste fréquent et représente la plus grande voie de dissémination des bactéries dans l'environnement et

dans les aliments (Guy, 2006). Dans le genre *Salmonella*, plus de 2000 sérotypes ont été décrits, tous présumés pathogènes pour l'homme.

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie voire leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40°C. Elles survivent aux basses températures et donc résistent à la réfrigération et à la congélation. En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 sec). Elles sont capables de se multiplier dans une plage de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique, lorsque celle-ci entraîne des concentrations en acide lactique supérieures à 1% et un pH inférieur à 4,55 (Jay, 2000 ; Guy, 2006).

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

2.5.4.2 Staphylocoques

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

S.aureus est un germe mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C, il est capable de se multiplier à des valeurs de pH comprises entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de croissance de 7,0 à 7,5. Comme beaucoup d'espèces de staphylocoques, *S.aureus* est un germe halotolérant, qui peut se multiplier en présence de concentrations élevées de chlorure de sodium (en général jusqu'à 10%) (Cuq, 2007).

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

gerçures sont les principaux réservoirs et les germes sont transférés dans les trayons sains à l'occasion de la traite.

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

Si le lait cru reste la principale source de contamination des produits laitiers en staphylocoques, il faut préciser que ces germes sont détruits par la pasteurisation. Par contre, ils sont peu gênés par l'acidification des fromages pas plus que par des taux élevés de sel ; par conséquent, la plupart des fromages réunissent, durant les 24 premières heures de fabrication des conditions souvent favorables à la croissance des staphylocoques s'il y en a au départ (Fatet, 2004).

Le pouvoir pathogène de certaines espèces de staphylocoques est dû à la production d'une enterotoxine, elle n'est détruite ni par la pasteurisation du lait, ni au cours de l'affinage des fromages. L'entérotoxine staphylococcique étant un métabolite secondaire, sa production nécessite une température minimale de 8-10°C, elle est synthétisée en fin de phase exponentielle et au cours de la phase stationnaire de croissance (El Atyqy, 2008). Le nombre minimum de germes nécessaires à la production de suffisamment de toxine pour provoquer l'empoisonnement est évalué selon les auteurs à 5.10^5 ou 5.10^6 germes/g.

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

2.6 Altération du lait

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

2.6.1 Phase de latence (bactériostatique)

Du fait des substances antibactériennes du lait et des bactériocines produits par les bactéries lactiques, les autres germes tendent à stagner ou à régresser. C'est une phase d'adaptation. Le lait peut alors se conserver pendant longtemps sous

réfrigération. Toutefois, cette durée est réduite considérablement à une température élevée (Petransxiene et Lapied, 1981).

2.6.2 Phase d'acidification

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

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

2.6.3 Phase de neutralisation

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

2.6.4 Phase d'alcalinisation

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

3. HYGIENE DE LA TRAITE

Le lait est une denrée fragile dont le devenir industriel (lait en nature, beurre, fromage) dépend de sa qualité. La production d'un lait de qualité n'exige ni des installations coûteuses dans la ferme, ni des transformations ruineuses dans le système commercial et industriel ; il faut surtout un suivi rigoureux et permanent des bonnes pratiques d'hygiène tout le long du circuit de sa production notamment à la traite (Crapelet et Thibier, 1973). Ces recommandations concernent (tableau n°7):

3.1 Trayeur

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

3.2 Animal

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

4. CONSERVATION DU LAIT A LA FERME

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

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

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

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

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

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

Tableau n°7: Récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite (Charron, 1986)

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

Partie II.
MATERIEL ET
METHODES

1. Echantillonnage

1.1 Lieu et saison de prélèvement

L'étude a été menée durant la période s'étalant de février à avril 2011, au niveau de la laiterie « Safilait » située dans le constantinois. Cette laiterie est conventionnée avec 35 collecteurs et 620 éleveurs laitiers. Elle réceptionne environ 10.000.000 de litre de lait cru par an. Elle dispose d'une gamme variée en produits à base de 100% lait de vache, parmi lesquels, figure le fromage à pâte molle type Camembert objet de notre étude.

1.2 Les prélèvements

Les analyses physico-chimiques et microbiologiques portent sur un nombre total de 30 échantillons ($n=30$ population normale). Les prélèvements pour analyses microbiologiques sont au nombre de 3 pour chaque échantillon. Les prises d'essais sont réalisées le matin (après réception de la quantité totale du lait qui servira à fabriquer le fromage) à partir du tank de réception, à des moments différents (avec un écart d'environ 15 minutes) pour une meilleure représentativité des échantillons.

Une moyenne arithmétique des résultats des 3 prélèvements est reportée sur le tableau en annexe n°3. Les résultats des analyses physico-chimiques des laits sont également obtenus par la moyenne de 3 prélèvements, ils sont portés en annexe n°2.

Il faut préciser que chacun des échantillons est une unité représentative d'une quantité de lait de mélange (environ 3000 à 4000 litre) destinée à fabriquer un lot de fromage. Cependant l'origine de ces laits n'est pas la même, il n'existe donc pas de traçabilité de la matière première, les critères de sélection des laits destinés à fabriquer le fromage reposent sur la densité et l'acidité de ces derniers.

1.3 Techniques de prélèvement

Le prélèvement pour analyses microbiologiques s'effectue à partir du robinet disposé à la partie inférieure de la cuve, dans un flacon stérile bouché au coton cardé ou avec un bouchon à vis. Le robinet est flambé au préalable, nous éliminons les premiers jets et nous remplissons le flacon au 2/3 de sa capacité. Les prélèvements sont aussitôt refroidis dans un réfrigérateur, jusqu'au moment de l'analyse avec un délai n'excédant pas plus de 8 heures (Guiraud, 2003).

Le prélèvement pour analyses physico-chimiques nécessite l'emploi d'une louche qu'on plonge à l'intérieur du tank par son ouverture supérieure.

2. Analyses physico-chimiques

2.1 Détermination de la matière grasse par la méthode acido-butyrométrique (norme AFNOR, 1980)

Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool isoamylique, la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux (le mode opératoire est donné en annexe n°7)

2.2 Détermination de l'acidité titrable

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,11 moles/l.

La présence de phénolphtaléine, comme indicateur coloré, indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pale). Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) où : 1 ° D représente 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait (le mode opératoire est donné en annexe n° 8) (Mathieu, 1998).

2.3 Détermination de la densité

La densité est mesurée à l'aide d'un thermo-lactodensimètre étalonné de manière à donner (par simple lecture du trait correspondant au point d'affleurement) la densité de l'échantillon de lait à analyser. Elle est ramenée à 20°C par la formule suivante :

Densité corrigée = densité lue + 0,2 (température du lait - 20°C) (Mathieu, 1998).

3. Analyses microbiologiques

La composition des milieux de culture est portée en annexe n°1.

- Les techniques de dénombrement sont effectuées selon le manuel d'usage relatif aux analyses et tests des produits laitiers (Petransxiene et Lapied, 1981).

3.1 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale :

Les microorganismes aérobies et aérobies anaérobies facultatifs se développent dans un milieu nutritif gélosé défini non sélectif incubé à 37°C pendant 48 heures. Ils apparaissent sous forme de colonies de tailles et de formes différentes. Des levures et des moisissures peuvent également se développer, ces dernières peuvent être différenciées (le mode opératoire est donné en annexe n°9).

3.2 Dénombrement des bactéries psychrotrophes :

Les germes psychrotrophes sont des microorganismes qui en se développant dans les conditions ci-dessous, donne sur un milieu gélosé (gélose nutritive), des colonies dénombrables après une incubation à $6,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 10 jours (annexe n°10).

Elles sont recherchées en vue d'apprécier leur nombre et leur évolution lors de la conservation à basse température du lait cru. La mise en évidence de cette flore est fréquemment significative d'une activité protéolytique et lipolytique (Weber, 1985).

3.3 Dénombrement de la flore thermorésistante :

Sont appelés germes thermorésistants d'un lait ceux qui subsistent dans ce lait après un chauffage pendant 30 minutes à une température de $63 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Ces conditions correspondent à celles de la basse pasteurisation (LTLT= Low Temperature Long Time) dans l'industrie laitière. Ces microorganismes se développent dans un milieu nutritif gélosé défini non sélectif incubé à 37°C pendant 48 heures

En comparant le dénombrement de la flore banale du lait cru et celui de la flore thermorésistante de ce même lait après pasteurisation, on peut estimer les contaminations présentes avant le traitement thermique ou l'insuffisance de ce dernier (Petransxiene et Lapied, 1981). Ces bactéries sont mises en évidence selon la technique décrite en annexe n°11.

3.4 Dénombrement des coliformes:

Le dénombrement des coliformes peut se faire soit sur milieu solide tel que le V.R.B.G (violet cristal rouge neutre bile glucosée) ; soit sur milieu liquide le bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (BLBVB).

On a utilisé le milieu VRBG avec un ensemencement en masse de 1 ml de chaque dilution, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

3.5 Dénombrement des coliformes fécaux :

La numération des coliformes fécaux est effectuée avec le même milieu VRBG après 48 heures d'incubation à 44°C .

Nous avons également ensemencé deux tubes du milieu liquide (BLBVB), chacun par 1ml de chaque dilution. Incubation des tubes à 44° pendant 48 heures (test présomptif).

3.6 Identification d'*E.coli* par le test de Mac Kenzie :

Ce test permet la détection simplifiée d'*Escherichia coli* par la production d'indole à 44°C (mode opératoire annexe n° 12).

3.7 Dénombrement des streptocoques fécaux :

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

Dans le lait et les produits laitiers, les streptocoques du groupe D sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique NPP (nombre le plus probable). La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs :

- *Le test présomptif* : réservé à la recherche des streptocoques sur milieu de Rothe l'agent sélectif dans ce milieu est l'azide de sodium,
- *Le test confirmatif* : réservé à la confirmation proprement dite sur milieu EVA LITSKY, des tubes trouvés positifs au niveau des tests de présomption. Les agents sélectifs dans le milieu de confirmation sont l'azide de sodium et l'éthyle violet (le mode opératoire est porté en annexe n°13).

- Recherche du caractère hémolytique

A partir des cultures en milieu liquide Eva Litsky, nous avons procéder à l'isolement du germe sur une gélose au sang de mouton défibriné, les boites sont incubées à 37°C pendant 48 heures.

3.8 Recherche des salmonelles :

Du fait de leur rareté et de l'endommagement des cellules, il s'applique un processus de revivification et de multiplication, correspondant à un pré-enrichissement sur eau peptonée tamponée puis un enrichissement des cellules sur bouillon de sélénite de sodium cystine. Un isolement est effectué par la suite sur divers milieux gélosés sélectifs (mode opératoire en annexe n°14). La dernière phase est celle de l'identification des *Salmonella* isolées sur galeries classiques.

Nous avons utilisé pour cela les galeries biochimiques classiques d'identification, (ONPG, LDC, ODC, ADH, urée-indol-TDA, citrate de Simmons, VP, Mannitol-Mobilité, Kligler-Hajna, nitrate réductase). Les techniques sont extraites du manuel Le Minor et Richard (1993).

a. Recherche de la β -galactosidase :

A une suspension dense des bactéries testées en eau distillée stérile, un disque imprégné d'Ortho-Nitro-phényl- β -Galactoside (ONPG) est ajouté puis incubée à 37°C pendant 24 heures. L'apparition d'une couleur jaune indique l'hydrolyse de l'ONPG et donc la présence d'une β -galactosidase.

b. Milieu « glucose-lactose-H₂S » Kligler-Hajna :

Il est utilisé pour l'identification des entérobactéries à Gram négatif. Il permet de mettre en évidence en 24 heures les fermentations du glucose, du lactose, et la production d'H₂S.

c. Test Citrate :

Le milieu au citrate de Simmons est un milieu minéral synthétique tamponnée avec comme source d'azote un sel d'ammonium et comme source unique de carbone et d'énergie du citrate, dont l'utilisation en aérobiose par certaines bactéries se traduit par leur croissance et l'alcalinisation du milieu (virage au bleu du milieu indique une réaction positive). Les entérobactéries, qui exigent des facteurs de croissance (auxotrophes, par ex. : *Salmonella Typhi* et les *Shigella*), ne peuvent pas pousser sur ce milieu.

d. Réaction de Voges-Proskauer (milieu de Clark-Lubs) :

Les bactéries dites Voges-Proskauer positives (VP⁺) possèdent une voie métabolique particulière dans la fermentation des hexoses. A partir de l'acide pyruvique, produit d'oxydation du glucose, elles peuvent former de l'acétylméthylcarbinol (acétoïne).

La présence de ces deux composés est décelée par la réaction de VP : en milieu (Clark et Lubs) fortement alcalin, ils sont oxydés en diacétyl, qui réagit avec le groupement guanidine des peptones pour produire un complexe de couleur rose rouge cerise ; α -naphtol accélère cette réaction colorée. La réaction VP est révélée par l'addition du réactif VP1 et VP2.

e. Dégradation du Mannitol Milieu Mannitol- Mobilité :

Ce milieu est utilisé pour la différenciation rapide des entérobactéries. Il permet de rechercher simultanément l'utilisation du mannitol et la mobilité. La mobilité est interprétée par un envahissement du milieu à partir de la pique d'inoculation et la fermentation du mannitol est traduite par un virage au jaune du milieu de culture.

f. Recherche des décarboxylases et dihydrolase (LDC, ODC, ADH) par alcalinisation de milieux liquides:

Les décarboxylases présentant un intérêt taxonomique sont:

- La lysine-décarboxylase ou LDC (lysine → cadavérine) ;
- l'ornithine – décarboxylase ou ODC (ornithine → putrescine) ;
- l'arginine – décarboxylase et dihydrolase ou ADH (arginine → agmatine et ornithine).

La synthèse de ces enzymes est favorisée par un pH acide (3,5-5,5) et des conditions d'anaérobiose.

Ce procédé utilise des milieux liquides tels que celui de Falkow sans peptone. Ce milieu renferme un amino-acide (lysine ou ornithine ou arginine), du glucose, de l'extrait de levure et du bromocrésol pourpre comme indicateur de pH (jaune à pH= 5,2-violet pourpre à pH=6,8).

Dans un premier temps, les *Enterobacteriaceae* fermentent le glucose. Cette acidification des milieux favorise l'activité des décarboxylases (LDC et/ou ODC et/ou ADH).

Les décarboxylations éventuelles entraînent une alcalisation des milieux (virage violet de l'indicateur), surtout en anaérobiose. Un milieu témoin sans amino-acide doit être acidifié (virage au jaune de l'indicateur).

g. Milieu Urée Indole :

Ce milieu permet de rechercher l'uréase, la production d'indole et la tryptophane désaminase (TDA).

A partir d'une culture en milieu urée indole pendant 24 heures à 37°C, on peut rechercher la production de l'indole à l'aide du réactif de Kovacs (anneau rouge), et la tryptophane désaminase par le rajout de quelques gouttes du réactif de TDA. La coloration en rouge violacé du milieu (urée indole) indique la présence d'une uréase.

h. Recherche de la nitrate-réductase :

Par définition, les *Enterobactériaceae* possèdent une nitrate-réductase (= NR), sauf rares exceptions. Cette enzyme est capable de catalyser la réaction de réduction des nitrates (NO_3^-).

A une culture en milieu nitraté âgée de 18-24 heures, on rajoute le réactif nitrate I (acide sulfanilique), puis le réactif nitrate II (α -naphtylamine). La coloration en jaune indique que le milieu ne contient plus de nitrate, la bactérie possède donc l'enzyme.

3.9 Dénombrement des staphylocoques

Le dénombrement est effectué sur milieu Chapman par étalement en surface de 0,1 ml de chaque dilution. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

a. Recherche du caractère pathogène

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

- Recherche de la catalase

La catalase permet la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit par la souche. Sa recherche consiste à mettre en contact la colonie avec de l'eau oxygénée à 10 volumes. Une effervescence due à un dégagement gazeux traduit la présence de cette enzyme.

- Recherche de la coagulase

Elle se fait par l'addition de 0,5 ml de plasma de lapin à 0,5ml de la culture bactérienne. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures. La formation d'un coagulum indique la présence d'une coagulase.

b. Recherche de la sensibilité aux antibiotiques

Nous avons recherché la sensibilité des souches de staphylocoques coagulase positive, isolées et purifiées aux antibiotiques, par l'étalement d'une suspension bactérienne à 0,5 Mc Farland en surface du milieu Müeller Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile. On laisse les boîtes séchées puis on dépose les disques d'antibiotiques (vancomycine (30µg), pénicilline (10µg), oxacilline (1µg), cefoxitine (30µg), érythromycine (15µg), triméthoprime+sulfaméthoxazole (1,25µg/ 23,75µg), enrofloxacin (5µg), et tétracycline (30µg)). L'incubation se fait à 37°C durant 24heures.

Nous avons mesuré les diamètres des auréoles (zones d'inhibition de croissance de la souche microbienne) avec un pied à coulisse, les zones mesurées correspondent à une sensibilité de la souche aux antibiotiques.

-Lecture du test :

Les souches pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur au seuil de résistance (annexe n°16) sont considérées comme résistantes.

Les souches pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur au seuil de sensibilité sont considérées comme sensibles et les souches pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre le seuil de résistance et le seuil de sensibilité sont considérées comme intermédiaires. Les souches «intermédiaires» ont été regroupées avec les souches résistantes.

4. Méthodes statistiques

4.1 Statistiques élémentaires

Pour chaque type de flore et pour tous les échantillons sont calculés la moyenne, l'écart type, le minimum et le maximum avec le logiciel Excel version 2007 (Microsoft). Les représentations graphiques des résultats, en histogrammes, en secteurs ont été réalisées avec le logiciel XLSTAT version 2012.

4.2 Corrélations

Le coefficient de corrélation est calculé à partir des dénombrements après transformation logarithmique, pour estimer le lien entre les différentes flores des échantillons. L'existence d'un lien entre deux flores est considéré réel si le coefficient de corrélation est significatif au seuil de 5%, (ce qui correspond à, $r = 0,361$ pour un nombre d'échantillons ($n=30$) sur la table de Pearson), avec un coefficient de détermination élevé ($R^2 > 0,68$) et un graphique associé cohérent (Cauquil, 2011 ; Rakotomalala, 2012). Ces calculs sont effectués avec le logiciel XLSTAT version 2012.

4.3 Identifications biochimiques

Pour les identifications des souches purifiées à partir des résultats des tests biochimiques, nous avons utilisé le logiciel API 2.2, ce dernier permet le calcul des probabilités du germe se rapprochant le plus des résultats obtenus.

Partie III.
RESULTATS

1. Résultats des caractéristiques physico-chimiques

Les résultats des caractéristiques physico-chimiques sont consignés, au tableau n°8. Les résultats des 30 échantillons sont portés en annexe n° 2.

Tableau n°8 : Résultats des caractéristiques physico-chimiques des laits analysés et normes du lait cru de vache.

Paramètres	MG (g/l)	Densité à 20°C	Acidité (°D)
Minimum	28	1,028	16
Maximum	34	1,031	20,5
Moyenne	30,9	1,029	17,8
Ecart-type	1,2	0,001	1
Normes FIL-AFNOR	34-36	1,030-1,032 (lait de mélange)	16-18

MG : matière grasse.

1.1 Acidité

L'acidité des échantillons de laits crus est globalement acceptable avec une moyenne de $17,8 \pm 1^\circ\text{D}$ (tableau n°8), l'écart type 1°D montre une faible variabilité des résultats ; six échantillons soit, 20% ont une acidité dépassant 18°D avec une valeur maximale de $20,5^\circ\text{D}$, ces acidités titrables dépassent la norme FIL-AFNOR de l'acidité du lait frais fixée entre $16-18^\circ\text{D}$.

1.2 Densité

La densité moyenne des laits mesurée à 20°C est de $1,029 \pm 0,001$ (tableau n°8), les fluctuations autour de la moyenne sont très faibles avec un écart type de (0,001). On note que 21 échantillons soit, 70% ont une densité inférieure à la norme avec une valeur minimale de 1,028.

1.3 Matière grasse

La teneur en matière grasse varie entre 28 et 34g/l , avec une moyenne de $30,9 \pm 1,2$ g/l (tableau n°8), les variations liées à ce taux sont relativement faibles, cependant ces taux restent en dessous des normes FIL-AFNOR du lait, qui tolèrent des valeurs se situant entre 34 à 36 g/l. Seul un échantillon de lait présente un taux butyreux de 34g/l.

2. Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques des laits analysés exprimés en UFC/ml sont présentés, dans le tableau n°9. Ils représentent la charge en différentes microflore recherchées dans les laits crus analysés. Les résultats des analyses microbiologiques des 30 échantillons de laits crus, sont portés en annexe n°3.

Tableau n°9 : Niveaux des différentes flores dénombrées dans les 30 échantillons de lait (UFC/ml)

Flores (UFC/ml)	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type	Normes (UFC/ml) (JORA, 1998)
FTMA (10 ⁶)	0,8	98,0	28,8	22,8	10 ⁵
f.ther. (10 ⁴)	0,01	294,0	44,2	76,0	3.10 ⁴
f.psy. (10 ⁵)	1,6	33,0	12,3	10,3	
strept. f. (10 ⁴)	1,3	250,0	55,4	74,2	Absence/0,1 ml
staph. (10 ²)	0	260,0	37,5	54,2	Absence
col.t. (10 ⁵)	4,0	360,0	50,3	66,0	
col.f. (10 ⁴)	0	220,0	36,7	57,4	10 ³
salmonelles	Absence				Absence

FTMA : flore totale aérobie mésophile ; f.ther. : flore thermorésistante ; f.psy. : flore psychrotrophe ; strept.f.:streptocoques fécaux ; staph.: staphylocoques ; col.t.: coliformes totaux ; col.f. : coliformes fécaux.

2.1 Flore totale mésophile aérobie

Les échantillons prélevés présentent une charge en microorganismes de la flore totale qui varie de 0,8.10⁶ à 98.10⁶ UFC/ml, pour une moyenne de 28,8.10⁶ ± 22,8.10⁶ UFC/ml (tableau n°9). Ces résultats sont importants et très variables (figure n°5).

En effet, selon (JORA, 1998), ces seuils de contaminations en flore totale dépassent la norme fixée à 10⁵UFC/ml. Ils sont également supérieurs aux charges maximales tolérées par les deux réglementations françaises et américaines qui sont respectivement de 5.10⁵ UFC/ml et 3.10⁵ UFC/ml (Alais, 1984).

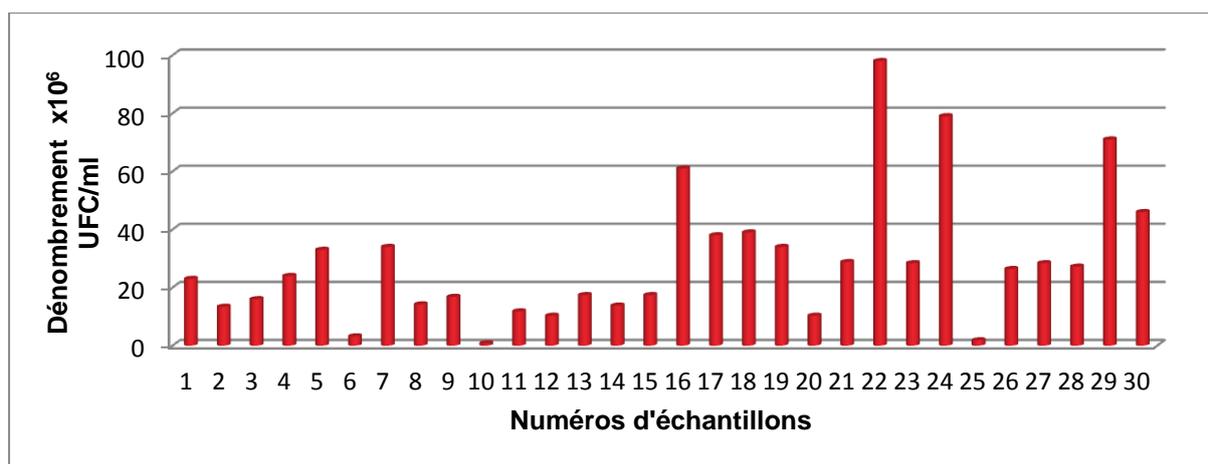


Figure n°5 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore totale (UFC/ml).

La fréquence des résultats est majoritaire avec un taux de 33% pour, des dénombrements situés entre $10 \cdot 10^6$ à $20 \cdot 10^6$ UFC/ml (figure n°6).

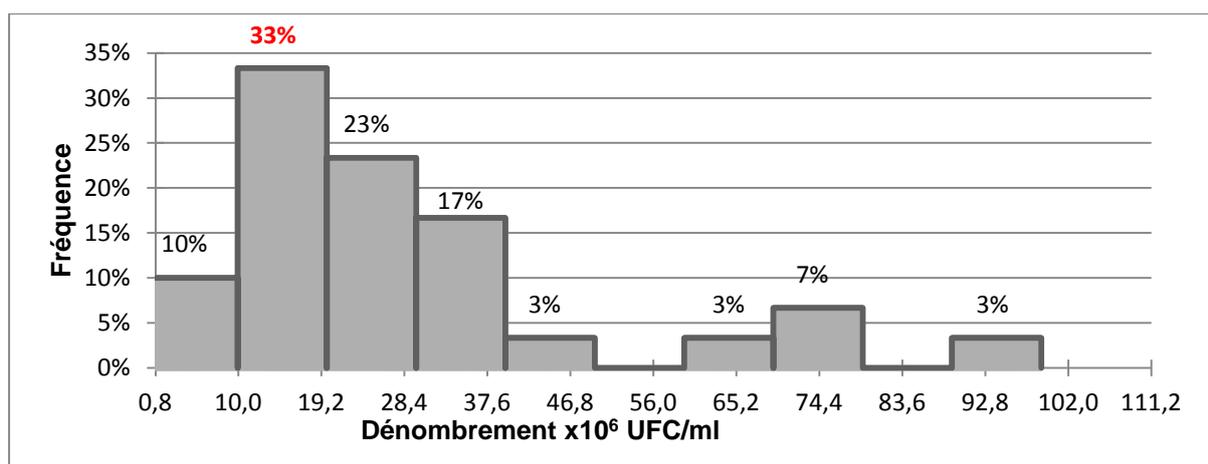


Figure n°6 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore totale (UFC/ml).

2.2 Flore thermorésistante

Les laits crus présentent une charge en flore thermorésistante qui varie entre $0,01 \cdot 10^4$ UFC/ml et $294 \cdot 10^4$ UFC/ml pour une moyenne de $44,2 \cdot 10^4 \pm 76 \cdot 10^4$ UFC/ml (tableau n°9), ce qui reflète une très grande hétérogénéité dans les résultats obtenus (figure n°7).

Le seuil retenu pour analyser les résultats en flore thermorésistante, est celui du lait pasteurisé fixé selon la norme à $3 \cdot 10^4$ UFC/ml (JORA,1998).

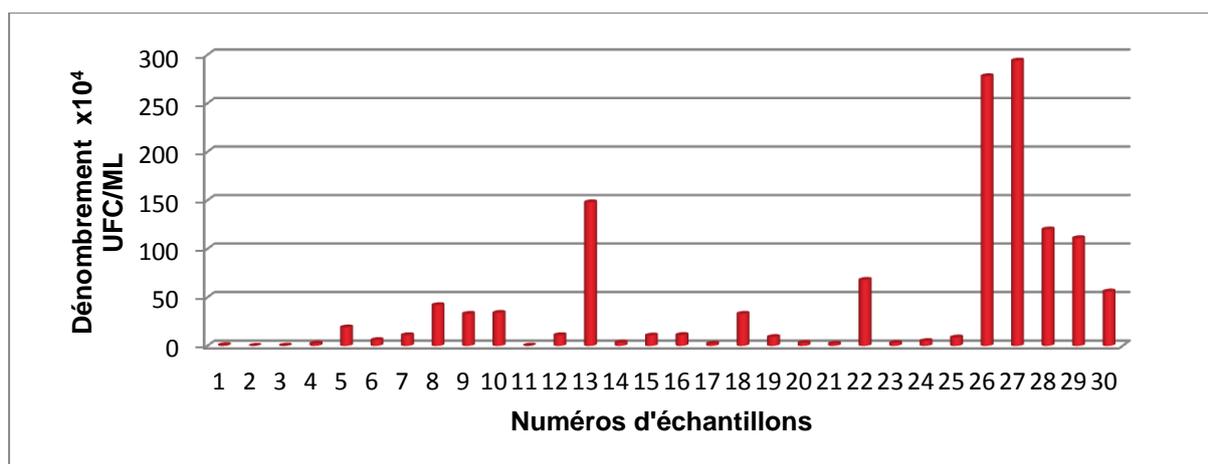


Figure n°7 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore thermorésistante (UFC/ml).

La charge en thermorésistants de 30% des échantillons présente des résultats inférieurs à la norme (barre en rouge figure n°8). Cependant 70% des laits crus ont une charge en thermorésistants dépassant la norme et sont donc susceptibles d'entraîner des altérations post-pasteurisation du lait. La fréquence des résultats se situant entre $0,01 \cdot 10^4$ UFC/ml et $30 \cdot 10^4$ UFC/ml est de 63%.

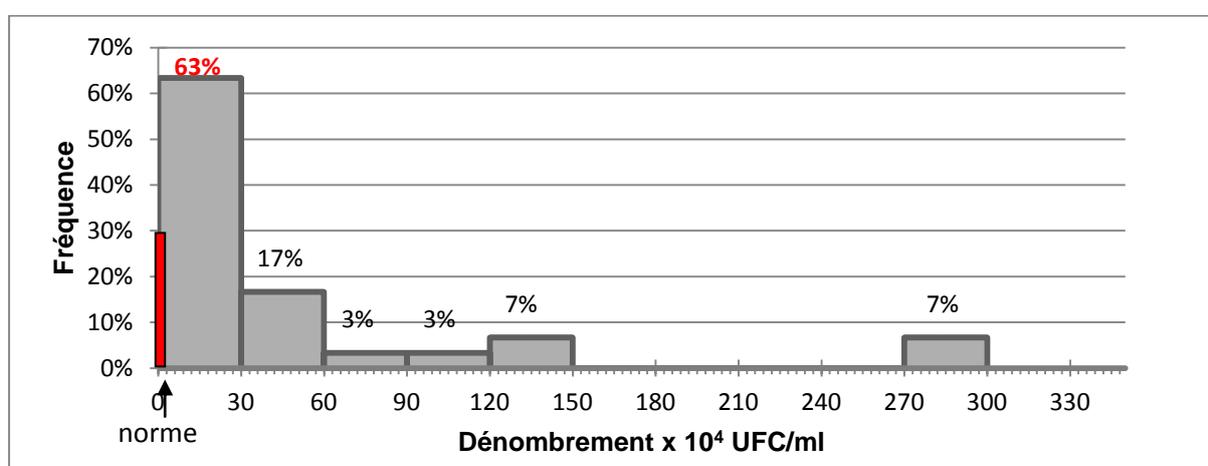


Figure n°8 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore thermorésistante (UFC/ml).

2.3 Flore psychrotrophe

La charge des laits crus analysés en psychrotrophes est variable (figure n°9), les valeurs minimales et maximales sont respectivement de $1,6 \cdot 10^5$ UFC/ml et $33 \cdot 10^5$ UFC/ml pour une moyenne de $12,3 \cdot 10^5 \pm 10,3 \cdot 10^5$ UFC/ml (tableau n°9).

En l'absence de norme algérienne pour la flore psychrotrophe, pour ces laits réfrigérés fortement pollués, le seuil défini pour la flore totale soit, 10^5 UFC/ml (JORA, 1998) a été choisie pour apprécier les résultats obtenus.

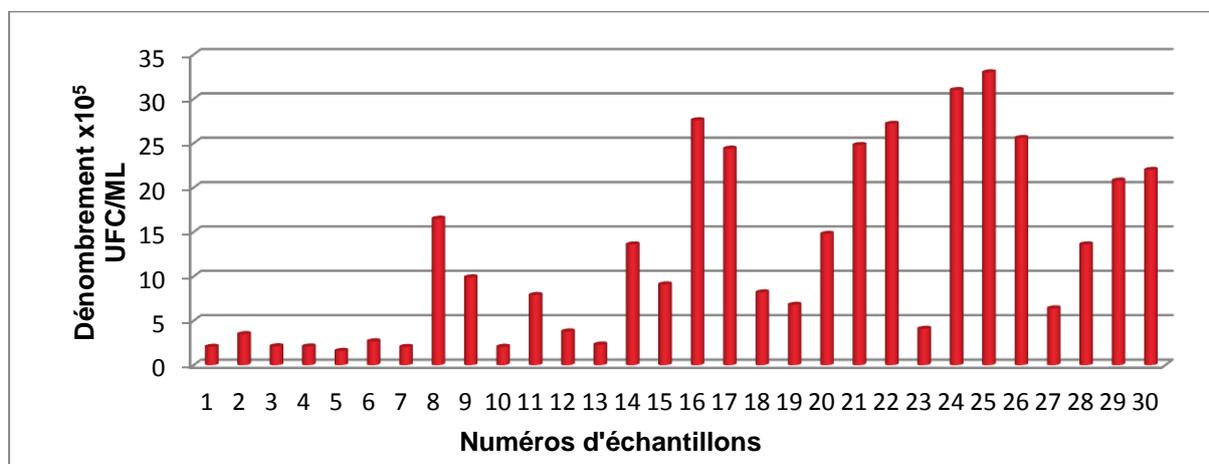


Figure n°9 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore psychrotrophe (UFC/ml).

Tous les échantillons présentent une charge en flore psychrotrophe importante dépassant la charge bactérienne tolérée (10^5 UFC/ml).

La fréquence de contamination est de 27%, pour des dénombrements situés entre $1,6 \cdot 10^5$ UFC/ml et $3,5 \cdot 10^5$ UFC/ml, elle est la plus élevée (figure n°10).

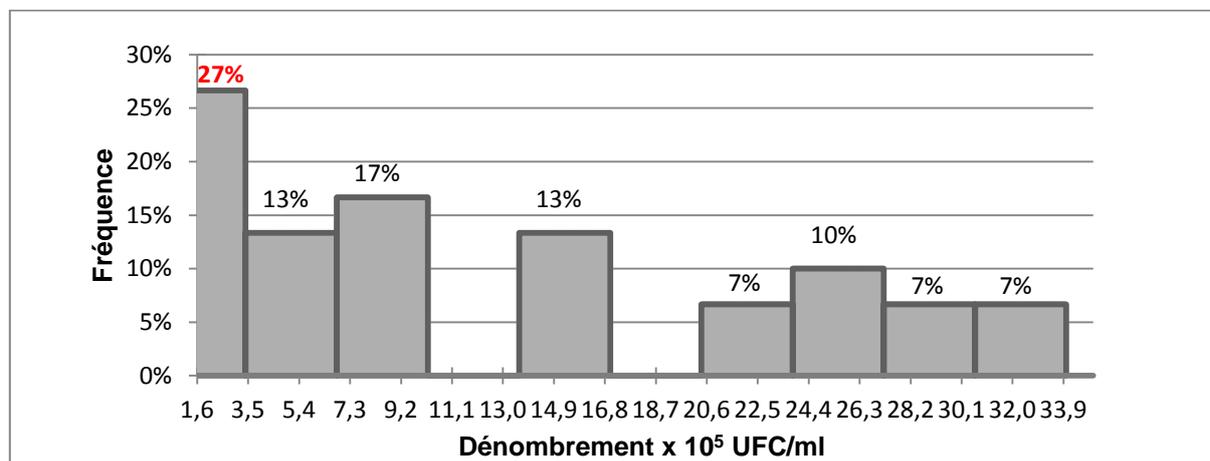


Figure n°10: Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en flore psychrotrophe.

2.4 Streptocoques fécaux

La charge en streptocoques fécaux présente une très forte variabilité (figure n°11), allant de $1,3 \cdot 10^4$ UFC/ml à $250 \cdot 10^4$ UFC/ml, avec une moyenne de

$55,4.10^4 \pm 74,2.10^4$ UFC/ml (tableau n°9). La norme algérienne pour les streptocoques fécaux est l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru.

Tous les échantillons présentent une charge supérieure à la norme (JORA, 1998). Ces germes sont des indicateurs de contaminations fécales, l'indice de manipulations non hygiéniques.

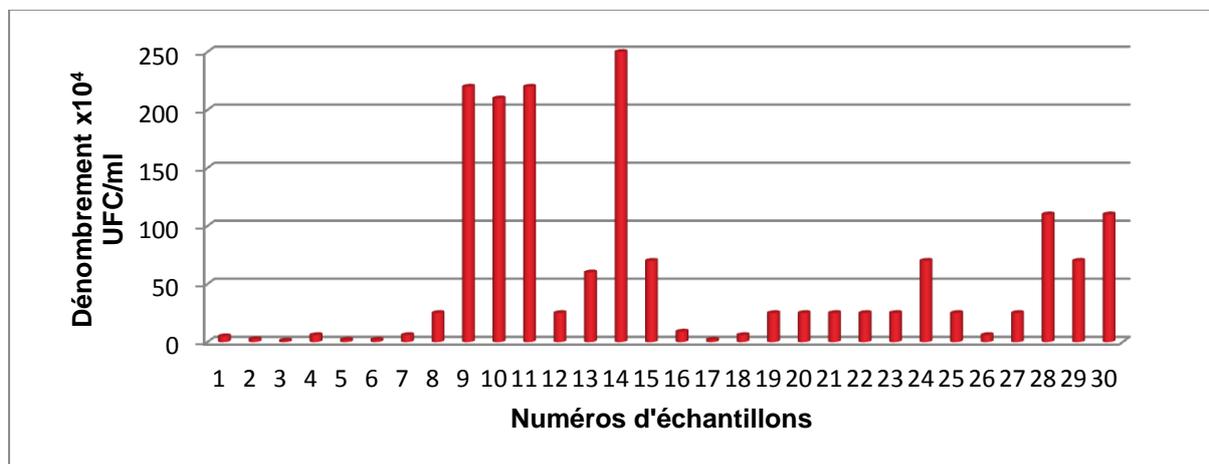


Figure n°11 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en streptocoques fécaux (UFC/ml).

La fréquence des résultats des dénombrements se situant entre $1,3.10^4$ et 26.10^4 UFC/ml est la plus importante avec 67% (figure n°12).

En outre, la détermination du pouvoir hémolytique par l'utilisation de gélose au sang de mouton défibriné n'a pas donné de résultat. Aucune croissance sur le milieu n'a été observée, on a remis en cause la viabilité des bactéries. En l'absence du milieu d'isolement gélose Barnes, on a pas pu procéder à son identification sur milieu solide.

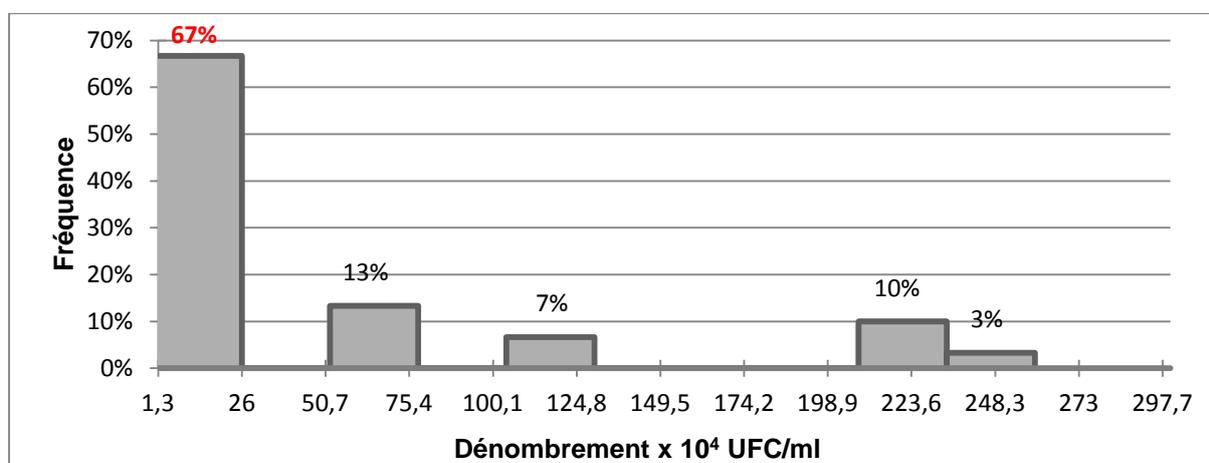


Figure n°12 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en streptocoques fécaux (UFC/ml).

2.5 Coliformes totaux

Les laits analysés présentent une charge moyenne en coliformes totaux de $50,3 \cdot 10^5 \pm 66 \cdot 10^5$ UFC/ml, avec une valeur minimale de $4 \cdot 10^5$ et maximale de $360 \cdot 10^5$ UFC/ml (tableau n°9). Ces résultats confirment une forte hétérogénéité entre les différents échantillons de lait analysés (figure n°13).

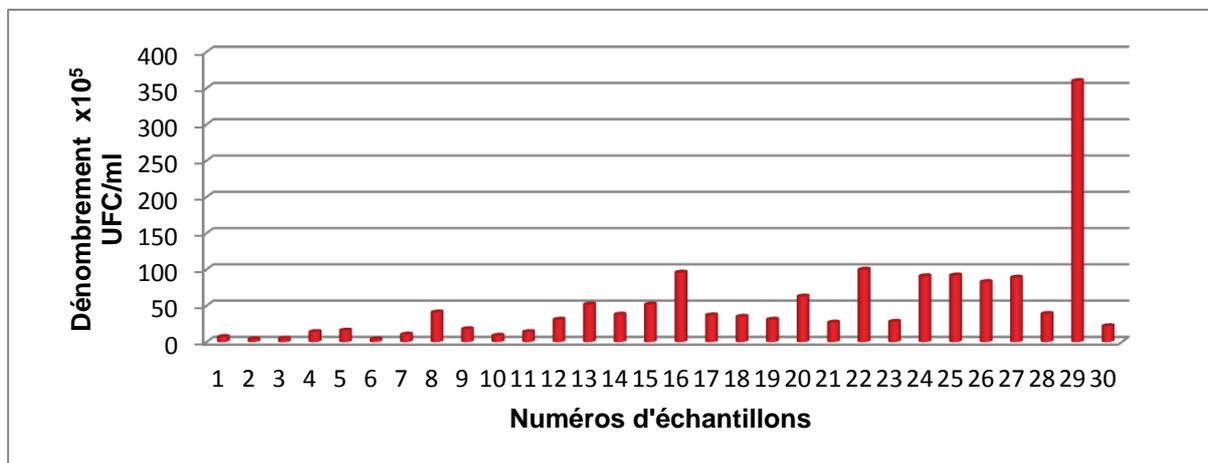


Figure n°13 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en coliformes totaux (UFC/ml)

La réglementation algérienne ne définit pas une norme pour cette flore. Pour cela, nous essayeront de comparer nos résultats à d'autres études similaires.

Tous les échantillons présentent une forte contamination en ces germes. Toutefois, une fréquence de 53%, est observée pour des contaminations situées entre $4 \cdot 10^5$ et $37 \cdot 10^5$ UFC/ml, elle est la plus importante (figure n°14).

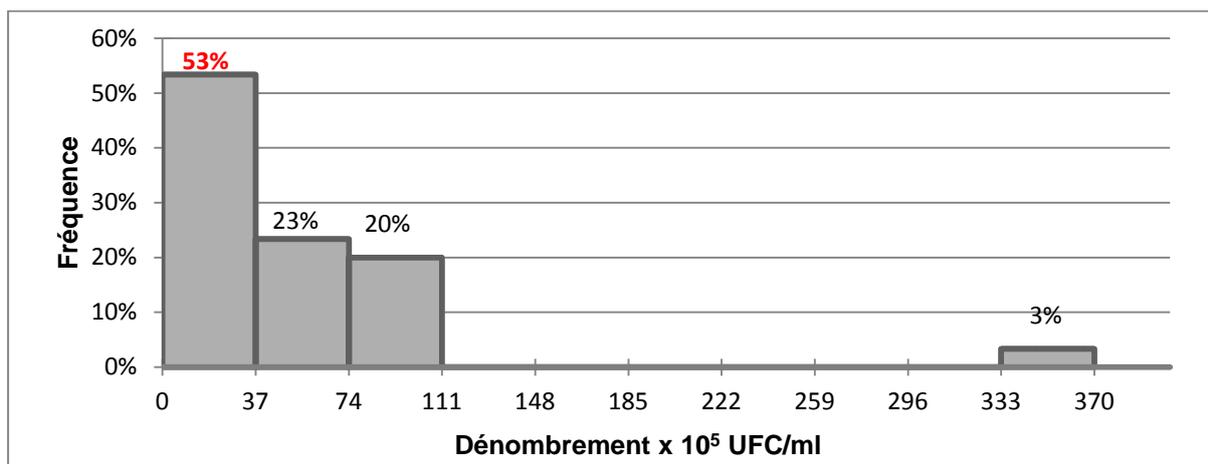


Figure n°14 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en coliformes totaux (UFC/ml)

2.6 Coliformes fécaux

Les dénombrement de ces germes présentent des résultats qui varient entre l'absence du germe et $220 \cdot 10^4$ UFC/ml comme valeur maximale, pour une moyenne de $36,7 \cdot 10^4 \pm 57,4 \cdot 10^4$ UFC/ml (tableau n°9). L'écart type est important dénotant une forte hétérogénéité des résultats obtenus (figure n°15).

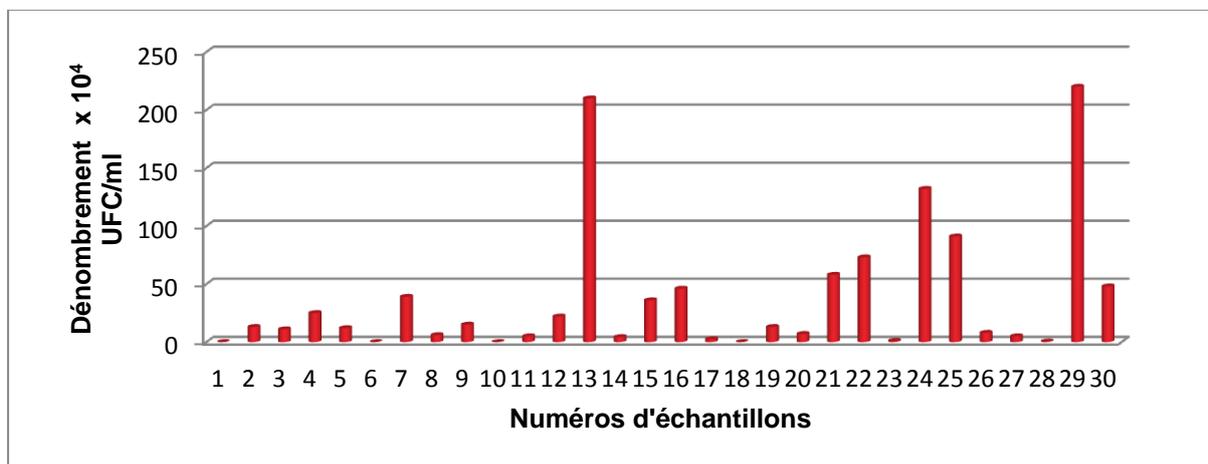


Figure n°15 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en coliformes fécaux (UFC/ml).

La fréquence de 63% (figure n°16) est tout de même relevée pour des contaminations se situant entre 0 et $23 \cdot 10^4$ UFC/ml. La norme algérienne concernant les coliformes fécaux étant fixée à 10^3 germes/ml, nous constatons que celle-ci est dépassée dans 87% des échantillons.

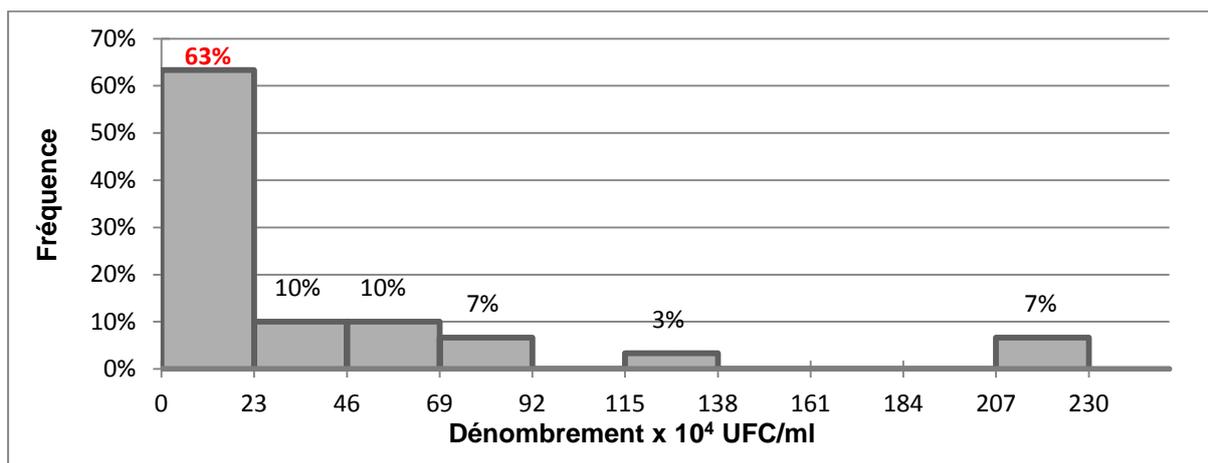


Figure n°16 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en coliformes fécaux (UFC/ml)

Les résultats du test Mackenzie révélant la suspicion de présence d'*Escherichia coli* sont positifs dans 64% des échantillons (figure n°17).

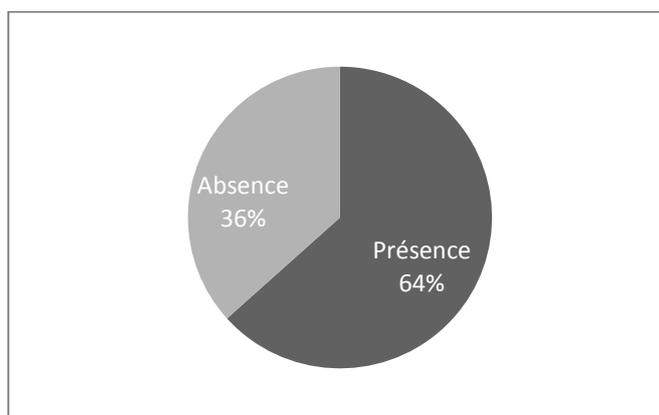


Figure n° 17 : Résultat de la présence du germe *E.coli* dans les laits étudiés.

2.7 Salmonelles

Nous avons isolé et purifié seize (16) souches suspectes, puis effectué des galeries biochimiques classiques pour chaque souche. Les résultats des identifications sont reportés sur le tableau n° 10. L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination.

2.8 Staphylocoques

La norme concernant le *Staphylococcus aureus* est l'absence du germe dans le lait cru. Les résultats obtenus sont très variables, ils présentent une moyenne de $37,6.10^2 \pm 54,2.10^2$ UFC/ml, avec une valeur maximale de 260.10^2 UFC/ml (tableau n°9).

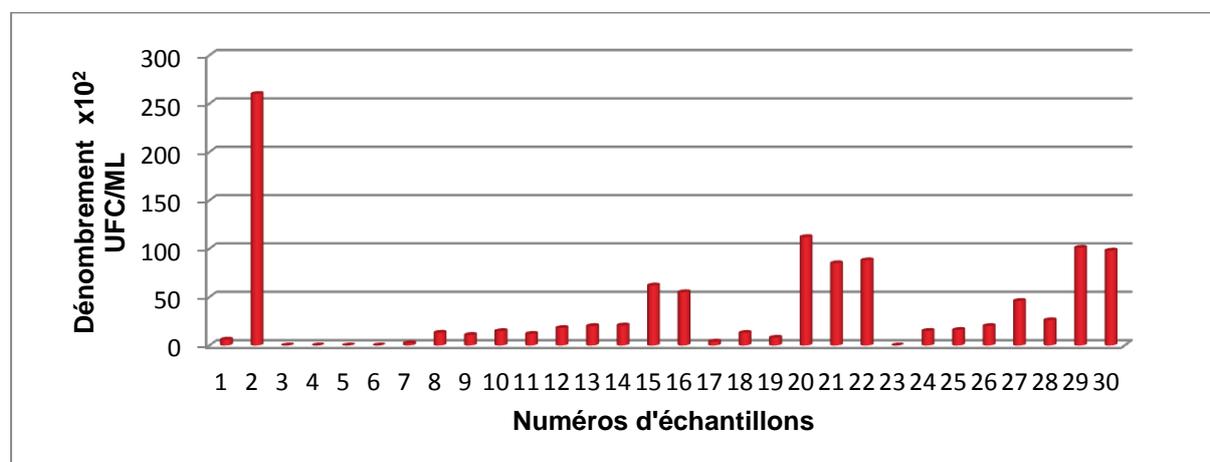


Figure n° 18 : Contamination des 30 échantillons des laits étudiés en staphylocoques (UFC/ml).

Tableau n°10 : Résultats des caractères biochimiques des souches isolées du milieu SS purifiées sur Mac Conkey à partir des 30 échantillons de lait cru

Test Souche	ONPG	Glu	Lac	H ₂ S	Gaz	Mob	Man	Cit	Nit	LDC	ODC	ADH	UREE	IND	TDA	VP	Lecture logiciel API20
1	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
2	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	<i>E.coli</i>
3	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Shewanella putrefaciens</i>
4	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	<i>Hafnia alvei 1</i>
5	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	<i>E. fergusonii</i>
6	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	<i>Hafnia alvei 1</i>
7	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	<i>Proteus penneri</i>
8	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Plesiomonas Shigelloides</i>
9	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	<i>Hafnia alvei 1</i>
10	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Hafnia alvei 2</i>
11	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	<i>Hafnia alvei 1</i>
12	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Hafnia alvei 2</i>
13	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	<i>Hafnia alvei 1</i>
14	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>Edwardsiella hoshinae</i>
15	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Shewanella putrefaciens</i>
16	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(+) : test positif ; (-) :test négatif.

Glu : glucose ; Lac : lactose ; Mob :mobilité ; Man :mannitol ; Cit : citrate ; Nit :nitrate ; IND :indole ; TDA : tryptophane désaminase ; VP: Voges Proskauer.

Sur la totalité des échantillons analysés, seulement 5 échantillons ne contiennent pas de staphylocoques (figure n°18) et sont donc conformes à la norme, le reste soit, 25 échantillons présentent une contamination, dont 100% sont positifs au test de la catalase et 95% sont positifs au test de la coagulase (figure n°19).

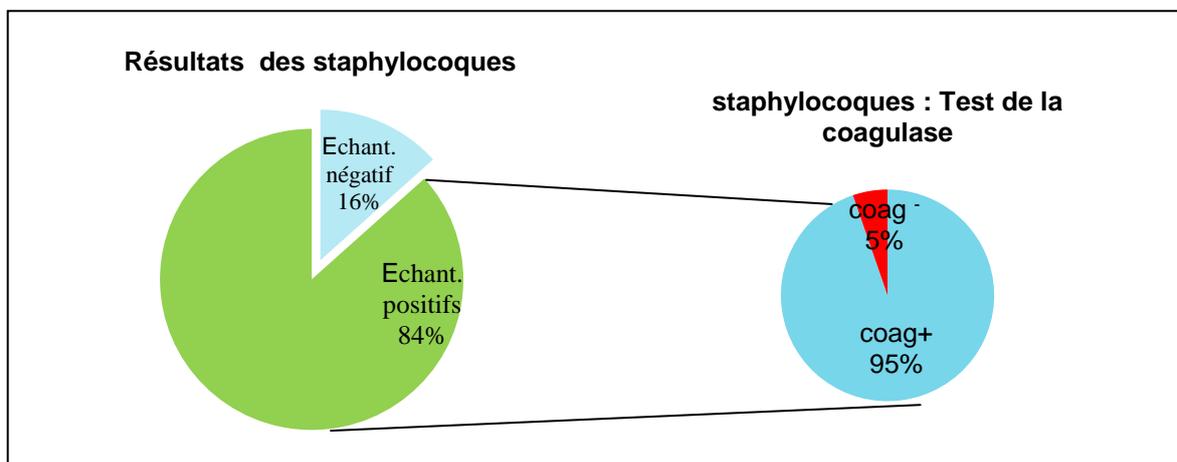


Figure n°19 : Résultat de la coagulase

La fréquence des résultats est de 70% pour des dénombrements situés entre 0 et 27. 10² UFC/ml (figure n°20).

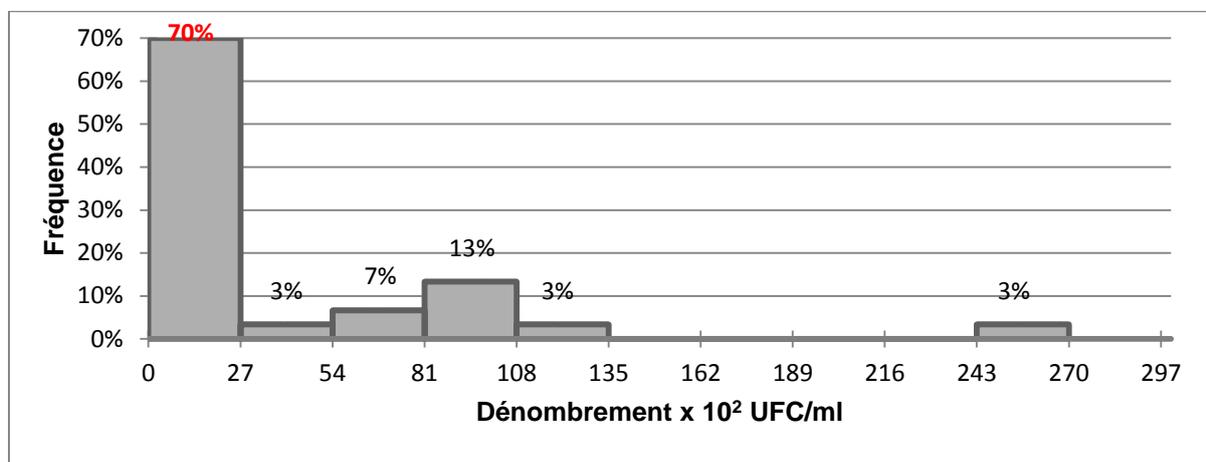


Figure n° 20 : Fréquence de la contamination des 30 échantillons des laits étudiés en staphylocoques (UFC/ml)

Les résultats à l'antibiogramme des 24 souches coagulase positive, selon la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton, sont reportés sur le tableau n°11. Les résultats détaillés des vingt quatre souches sont portés en annexe n°4 et 5.

Tableau n°11 : Résultats en pourcentage de la lecture de l'antibiogramme des souches de staphylocoques, coagulase positive, isolées à partir des échantillons de lait cru.

Antibiotiques	Souches résistantes	Souches sensibles
Penicilline G	100	0
Oxacilline	8	92
céfoxitine	0	100
Erytromycine	0	100
SXT	17	83
Enrofloxacin	0	100
Tétracycline	17	83
Vancomycine	0	100

SXT : Triméthoprime+ sulfaméthoxasole

Les résultats montrent que 100% des souches de staphylocoques coagulase positive sont résistantes à la pénicilline G. Par contre, très peu de résistance est observée vis-à-vis de l'oxacilline 8%. Aucune résistance n'a été observée pour les antibiotiques suivants : céfoxitine, érythromycine, enrofloxacin et vancomycine.

La résistance vis-à-vis de l'association triméthoprime+sulfaméthoxasole est observée pour 17% des souches, par contre 83% d'entre elles en sont sensibles. La résistance observée pour la tétracycline est peu élevée elle est de 17%.

3. Corrélation entre les flores

Les corrélations observées entre les dénombrements des différentes flores sont relativement faibles (tableau n°12).

Les flores pour lesquelles les coefficients de corrélations de Pearson sont les plus élevés ($r > 0,55$) sont : la flore thermorésistante et les coliformes totaux ($r = 0,60$), les staphylocoques et la flore psychrotrophe ($r = 0,59$) et enfin la flore psychrotrophe qui paraît un peu mieux corrélée aux coliformes totaux avec un coefficient de corrélation ($r = 0,716$).

Tableau n°12 : Corrélations entre les 7 flores observées sur les 30 échantillons (après transformation logarithmique log UFC/ml).

Flores	FTMA	f.ther.	f.psy.	strept.	staph.	col.t.	col.f.
FTMA	1	0,163	0,321	-0,116	0,124	0,407	0,421
f.ther.	0,163	1	0,262	0,335	0,202	0,601	0,063
f.psy.	0,321	0,262	1	0,330	0,593	0,716	0,387
strept.	-0,116	0,335	0,330	1	0,495	0,369	0,182
staph.	0,124	0,202	0,593	0,495	1	0,491	0,237
col.t.	0,407	0,601	0,716	0,369	0,491	1	0,479
col.f	0,421	0,063	0,387	0,182	0,237	0,479	1

FTMA : flore totale aérobie mésophile ; f.ther. : flore thermorésistante ; f.psy. : flore psychrotrophe ; strept.f.:streptocoques fécaux ; staph.: staphylocoques ; col.t.: coliformes totaux ; col.f. : coliformes fécaux.

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0,05$.

Dans ce dernier cas, on relève que le coefficient de détermination ($R^2=0,512$) (tableau n°13), reste en dessous de 0,68 fixé comme valeur désignant une réelle corrélation, cette même remarque s'applique pour les autres corrélations précédemment cités.

Les coefficients de corrélation et de détermination présentés dans les tableaux n°12 et n°13, ne montrent pas d'autres liaisons fortes entre les différentes flores dénombrées.

Tableau n°13 : Coefficients de détermination (R^2).

Flores	FTMA	f.ther.	f.psy.	strept.	staph.	col. t.	col.f.
FTMA	1	0,027	0,103	0,014	0,015	0,166	0,177
f.ther.	0,027	1	0,069	0,112	0,041	0,361	0,004
f.psy.	0,103	0,069	1	0,109	0,351	0,512	0,150
strept.	0,014	0,112	0,109	1	0,245	0,136	0,033
staph.	0,015	0,041	0,351	0,245	1	0,241	0,056
Col.t.	0,166	0,361	0,512	0,136	0,241	1	0,229
Col.f.	0,177	0,004	0,150	0,033	0,056	0,229	1

La figure 21 montre qu'il existe une corrélation linéaire positive entre la flore psychrotrophe et les coliformes totaux, elle est cependant relativement faible, puisque les points ne sont pas bien alignés sur la ligne droite.

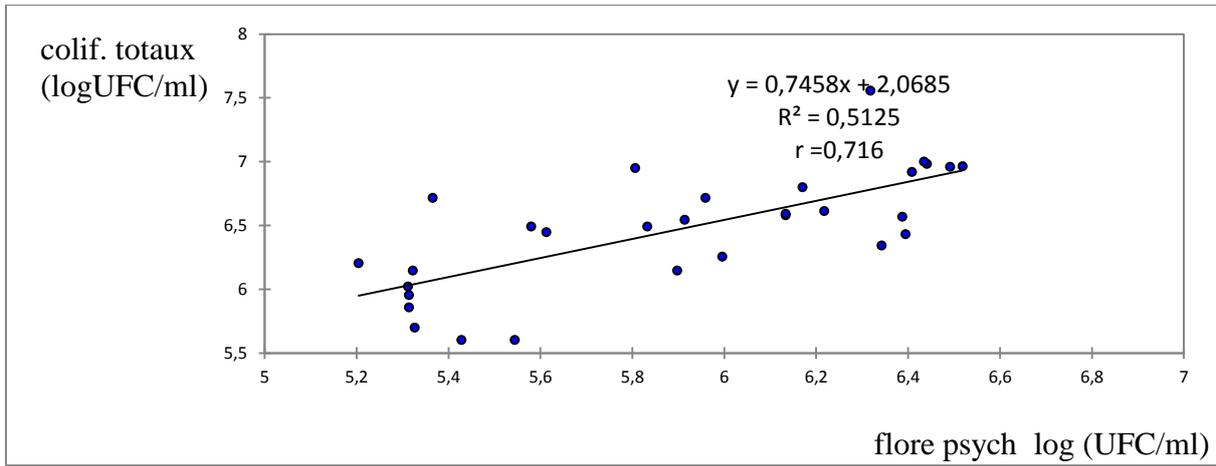


Figure n°21 : Corrélation entre la flore psychrotrophe et les coliformes totaux (après transformation logarithmique).

Partie IV.
DISCUSSION

1. Caractéristiques physico-chimiques

1.1 Acidité

La valeur moyenne de l'acidité titrable des laits étudiés se situe dans les normes (FIL- AFNOR) d'acidité d'un lait frais soit 18°D. Cependant, 20% des échantillons sont acides. Ces acidités retrouvées peuvent être naturelles ou développées. En effet, selon Mathieu (1998), le lait de vache en début de lactation (période coïncidant avec notre étude) présente une acidité titrable de 19°D à 20°D.

En outre, le pH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions, mais aussi des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et de son activité métabolique (Labioui, 2009).

L'étude réalisée par Aggad et *al.*, (2009) dans l'ouest algérien, a donné lieu à des acidités titrables des laits de mélange du même ordre de grandeur. Selon ces mêmes auteurs, ces similarités peuvent être liées au climat, au stade de lactation, à la saison (même période d'étude) et à la conduite d'élevage notamment l'alimentation et l'apport hydrique.

1.2 Densité et taux butyreux

Les valeurs moyennes de nos résultats de la densité et de la teneur en matière grasse sont inférieures aux normes FIL-AFNOR. L'étude menée par Filipovitch (1954), sur la densité des laits de mélange confirme de faibles fluctuations se situant entre 1,030 et 1,032 par rapport aux variations dans les laits individuels. En dehors de tout mouillage du lait, la densité d'un lait varie selon sa richesse en matière sèche, et est inversement proportionnelle au taux de matière grasse. Ainsi l'écémage du lait conduit à une élévation de sa densité (Luquet, 1985). Cependant, Bonnefoye et *al.* (2002) considèrent que pour des valeurs situées entre 1,028 à 1,032, la densité des laits est classée normale. D'autre part et considérant la période de l'étude, Hassainya et *al.* (2006) montrent que généralement la densité du lait est maximale au printemps et minimale en automne, cette variation peut être expliquée par le phénomène de mouillage pendant la saison de basse production. Or, la moyenne de nos résultats présente une tendance inverse, corrélée à un faible taux butyreux. Ces résultats peuvent être à l'origine d'un mouillage frauduleux du lait. Nos résultats sont plus élevés que ceux rapportés par Yennek (2010) à Tizi Ouzou, où la densité présentait une moyenne de 1,028.

La teneur en matière grasse des échantillons des laits varie entre 28 et 34 g/l avec une moyenne de 31 g/l, cette valeur est inférieure à la norme, selon Coulon et Hoden (1991), la mise à l'herbe (période coïncidant avec notre étude) s'accompagne d'une chute du taux butyreux jusqu'à 3 g/l, surtout si l'herbe offerte est jeune (Agabriel et *al.*, 1993). Selon Araba (2006), avec une herbe jeune, il conviendrait de compléter la ration avec un peu de foin grossier (ou un peu de paille) pour améliorer sa structure. En effet, si la ration manque de structure, la vache mâchera peu et le temps de rumination diminuera, réduisant ainsi la production de salive, substance riche en tampons. Agabriel et *al.* (2001), ont par ailleurs démontré que le facteur génétique et la saison ont également un effet sur le taux butyreux et protéique du lait. Ces 2 paramètres constituent de très bons prédicteurs des rendements fromagers (Hurtaud et *al.*, 2001).

En outre, le taux butyreux contribue à la qualité gustative des fromages (Cauty et Perreau, 2009). Aussi des valeurs basses du taux butyreux, jusqu'à 28 g/l, peuvent être dues à un écrémage frauduleux du lait ou bien à une traite incomplète des vaches. En effet, selon Coulon et Hoden (1991) cités par Yennek (2010), le niveau du taux butyreux augmente de 1 à 10g/l entre le début et la fin de traite. Selon Srairi et *al.*, (2006), le taux butyreux semble le plus variable des caractéristiques physico-chimiques du lait eu égard à sa très forte corrélation à la teneur en fourrages et à la nature des fibres des concentrés utilisés dans les rations pour vaches laitières. Une alimentation riche en cellulose à l'origine d'acide acétique favorise le taux butyreux (Cauty et Perreau, 2009).

Un autre facteur influe d'une manière significative sur le taux butyreux, est la race des vaches. Selon les données recueillies auprès de la direction des services agricole de Constantine (2011), la race pie noire représente près de 80% du cheptel bovin dans le constantinois, l'enquête menée par Abdeldjalil (2005) sur la structure génétique des troupeaux confirme la prédominance des races modernes, notamment la frisonne Pie Noire et la Holstein. La race Pie noire est connue pour sa forte production laitière, cependant son lait présente de faibles taux butyreux et protéique, son lait n'est pas recommandé pour la production fromagère (Froc et *al.*, 1988). Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par Labioui et *al.* (2009) au Maroc et Sboui et *al.* en Tunisie (2009). Cependant, ils sont inférieurs aux taux butyreux moyens rapportés par Boualem et Cheurfa (2006), dans la même laiterie (36g/l), dans une laiterie à Sétif (33g/l) et à l'ORElait de Constantine (36g/l) durant la même période

d'étude. Ces différences relevées notamment pour les laits issus d'une même laiterie, ne peuvent être imputées qu'à une alimentation insuffisante ou déséquilibrée.

2. Analyses microbiologiques

Les germes dénombrés sont considérés comme des indicateurs de la qualité globale du lait et des pratiques d'hygiène. Les résultats obtenus ont permis d'évaluer les contaminations cumulées de la production jusqu'au stockage en cuve du lait cru.

2.1 Flore totale mésophile aérobie

La flore mésophile aérobie nous renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait cru, elle est considérée comme le facteur déterminant la durée de conservation du lait frais (Guinot-Thomas et *al.*, 1995). C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques. L'énumération de cette flore pour les 30 échantillons de lait cru a montré qu'il y a une contamination importante du lait cru réceptionné par la laiterie. En effet, nous avons relevé que tous les échantillons analysés, ont une flore totale qui se situe entre $0,8.10^6$ et 98.10^6 UFC/ml, une moyenne de $28,8.10^6 \pm 22,8.10^6$ UFC/ml, avec une fréquence de contamination majeure de 33% pour des dénombrements allant de 10.10^6 à 20.10^6 UFC/ml. Ces valeurs dépassent le seuil critique d'altération du lait fixé selon certains auteurs à 10^6 UFC/ml. Des défauts de goût et de saveur sont mêmes perceptibles (Kim et *al.*, 1982).

Selon Ameur et *al.*, (2011) en Algérie, le lait cru collecté présente un taux de contamination microbienne très élevé (entre 10^5 et 10^7 UFC/ml), préjudiciable aussi bien à la transformation dans l'industrie laitière qu'à la santé publique. Nos résultats se situent dans cet intervalle de contamination, ils sont supérieurs aux résultats rapportés par Aggad et *al.*, (2009) dans l'ouest Algérien où le niveau de contamination moyen avoisine 83.10^4 UFC/ml avec les mêmes points de prélèvements (tank de réception). Ceci s'explique par un moindre degré de contamination cumulé de la production à l'arrivée du lait à la laiterie. Cependant, ils sont en accord avec ceux de Affif et *al.*, (2008), Labioui et *al.*, (2009), Mennane, (2007), Srairi et *al.*, (2005) et Bonfoh et *al.*, (2002).

Nos échantillons sont de mauvaise qualité au vu des normes algériennes qui fixent le seuil de contamination à 10^5 UFC/ml et ce malgré des températures de saison relativement basses au cours de la période d'étude. Ils révèlent un manque

de respect des bonnes pratiques de production et du stockage du lait de la traite du soir qui va ensuite être mélangé avec le lait de la traite du lendemain matin, et au niveau de la multitude des transvasements (Amhour, 1998).

Par ailleurs, Richard (1983), a constaté que pour des laits fortement pollués (entre 10^5 et 10^8 microorganisme/ml) la flore totale est essentiellement constituée par des streptocoques et des bactéries à Gram négatif. Ces bactéries, selon Thomas et Thomas, (1977) cités par Richard, (1983), dominent habituellement dans la vaisselle laitière mal lavée.

2.2 Flore thermorésistante

La moyenne de dénombrement de cette flore est de $44,2 \cdot 10^4 \pm 76 \cdot 10^4$ UFC/ml, ces résultats témoignent d'une forte hétérogénéité entre les différents échantillons de laits d'une part et d'autre part, ces valeurs sont supérieures aux normes du lait pasteurisé fixées à $3 \cdot 10^4$ UFC/ml (JORA, 1998) dans 70% des échantillons, la fréquence des résultats se situant entre $0,01 \cdot 10^4$ UFC/ml et $30 \cdot 10^4$ UFC/ml est de 63%.

Selon Barber, (1962) et Mourgues et *al.*, (1983), cette flore constituée essentiellement par des microcoques, contamine le lait à la ferme dans les installations et les appareils mal nettoyés et mal désinfectés. Le refroidissement trop lent du lait cru l'exposant à des températures élevées pendant des temps relativement longs, contribue également dans la sélection de la flore thermophile. Tormo et *al.*, (2006) cités par Caucquil (2011) montrent que la machine à traire apporte plus de bactéries thermorésistante et de coliformes que la traite manuelle ceci est dû à son nettoyage et son réglage (possibilité de reflux du lait).

Mourgues et *al.* (1983), soulignent que le nombre de thermorésistants du lait cru conditionne non seulement la teneur en germes du lait pasteurisé, mais aussi, sa durée de conservation, dans le cas où il n'est pas recontaminé après pasteurisation..

En effet, en comparant le dénombrement de la flore banale du lait cru et celui de la flore thermorésistante de ce même lait après pasteurisation, on peut estimer l'importance de la contamination initiale du lait cru, ainsi que l'insuffisance du traitement thermique (Petransxiene et Lapied, 1981).

Nos résultats ont été obtenus par un traitement de pasteurisation basse ($63^\circ\text{C}/30$ minutes), préconisé par Luquet et Boudier (1991) cités par Ouali (2002) pour la pasteurisation du lait, il reste insuffisant pour atteindre des seuils de

contaminations post-pasteurisation recherchés pour une conservation optimale du fromage. Pour des laits de mauvaise qualité, Veisseyre (1975) recommande de pousser la pasteurisation à plus de 80°C. Alais (1984) préconise une pasteurisation d'au moins 95°C pendant 5 à 15 secondes avant ensemencement lactique. Ces barèmes de pasteurisation sont d'ailleurs utilisés au niveau de la laiterie (85°C pendant 20 secondes).

L'étude menée par Bouchibi et Boulame, (1997) a donné lieu à des résultats très proches (59.10^4 UFC/ml).

2.3 Flore psychrotrophe

Nos résultats présentent une charge moyenne de contamination par cette flore de l'ordre de $12,38.10^5 \pm 10,29.10^5$ UFC/ml, avec une fréquence majoritaire de contamination de 27%, pour des dénombrements situés entre $1,6.10^5$ UFC/ml et $3,5.10^5$ UFC/ml. Ils reflètent une forte contamination des laits en plus d'une hétérogénéité des dénombrements obtenus. Près de 44% de nos résultats dépassent le seuil critique d'altération (10^6 UFC/ml), Goudédranche et *al.* (2008), estiment qu'à ce niveau de contamination, des défauts organoleptiques sont perceptibles dans le lait.

Selon Auclair (1970) cité par Thomas (1973), un lait de bonne qualité bactériologique ne présente pas une grande augmentation de psychrotrophes quand il est maintenu à 3°- 5°C pendant 3 jours. Par contre, un lait fortement contaminé développe des charges bactériennes en cette flore allant de 3.10^4 à 10^6 germes/ml sous les mêmes conditions de stockage. Ainsi, une durée de stockage acceptable dépend du degré initial de contamination du lait et elle est en particulier limitée par la croissance de psychrotrophes, capables de se multiplier activement aux températures de réfrigération (Bloquel et Veillet Poncet, 1980).

Selon Dumont et *al.* (1977), ces bactéries sont susceptibles de modifier l'aptitude du lait à la coagulation et de rendre difficile la croissance des levains lactiques, lors de la fabrication de fromages à pâte molle au lait pasteurisé par l'effet inhibiteurs qu'exercent les acides gras libres (produits par la lipolyse induite par ces bactéries) sur la croissance de ces levains.

En outre, Vassal et Auclair (1966) ; Mourgues et *al.* (1967) cités par Richard (1983), montrent que cette flore essentiellement composée de bactéries à Gram négatif est productrice de lipases et de protéases jugées responsables des défauts

de goût des fromages à pâte molle. Aussi, la protéolyse des laits fortement contaminés en psychrotrophes a pour conséquence en fromagerie une diminution des rendements en matières azotées et parallèlement un enrichissement en azote des sérums (Feuillat et *al.*, 1976).

Par ailleurs, nous remarquons que les valeurs de dénombrement des psychrotrophes sont en dessous de celles obtenues pour la flore totale, le rapport moyen calculé (psychrotrophes / germes totaux) est de 0,04. Selon Dehkal (1982), la valeur du rapport se situant entre 0,04 et 0,4, permet de conclure que le lait est frais, et que le temps de réfrigération est court. Ce qui signifie que les valeurs obtenues sont à l'origine d'une forte contamination due aux mauvaises conditions hygiénique et non au long séjour de réfrigération. D'autre part et quant à l'origine de la contamination par cette flore, les principales sources de contamination sont l'eau, le matériel de traite et les fumiers frais et secs (Weber, 1985).

Selon Boor et *al.*, (2010) cités par Cauquil, (2011), les litières semblent contenir de nombreuses souches bactériennes parmi lesquelles figurent les bactéries psychrotrophes, celles-ci contaminent la surface des trayons, puis le lait. Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par Triki (2011) au niveau de la même laiterie, Mankaï et *al.* (2003) en Tunisie.

2.4 Streptocoques fécaux

La charge moyenne en streptocoques fécaux est de $55,4.10^4 \pm 74,2.10^4$ UFC/ml, elle est très variable. La fréquence des résultats se situant entre $1,3.10^4$ et 26.10^4 UFC/ml est de 67%. La norme algérienne pour les streptocoques fécaux est l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru, 100% des échantillons présentent une charge supérieure à la norme. Selon Waes (1973), ils sont des indicateurs de contaminations fécales, et de manipulations non hygiéniques.

Selon Waes (1973), la thermorésistance des streptocoques D plaide en faveur du contrôle spécifique de leur nombre dans le lait cru. Ils peuvent survivre à la pasteurisation, mais non à la stérilisation. Selon Veisseyre (1975), les streptocoques fécaux résistent à une température de 88°C pendant 10 minutes. White (1953) cité par Waes (1973) a pu identifier *S. bovis* dans du lait pasteurisé.

Dubois et *al.* (1982) cités par Semasaka (1986) constatent également que les streptocoques fécaux ne sont pas totalement inhibés par les ferments lactiques. Cela

a, d'ailleurs, obligé Plusquellec (1980) à conseiller le dénombrement de la flore de contamination dans les produitsensemencés de levains.

Des charges en streptocoques fécaux dépassant les normes ont été également observées par Aggad et *al.* (2009) dans des laits de mélange de l'ouest algérien. Cependant, les dénombrements sont moins importants $0,64.10^2$ UFC/ml, la moyenne des résultats de l'étude menée par Labioui et *al.* (2009) au Maroc est de $0,4.10^3$ UFC/ml. Nos résultats sont également supérieurs à ceux rapportés par Affif et *al.* (2008) au Maroc 10^2 UFC/ml, et Bouchibi et Boulame (1997) à Constantine, avec des charges moyennes de 14.10^4 UFC/ml.

Selon Mossel (1967) cité par Waes (1973), leur présence en nombre relativement élevé, témoigne d'une prolifération bactérienne indésirable dans le lait et fait présumer une qualité douteuse.

2.5 Coliformes totaux

Les résultats présentent un dénombrement moyen en coliformes totaux de $50,29.10^5 \pm 65,99.10^5$ UFC/ml. Ceci témoigne d'une forte variabilité des valeurs obtenues. Cette forte charge est observée pour tous les échantillons, avec une fréquence majoritaire de 53% pour des dénombrements situés entre 4.10^5 et 37.10^5 UFC/ml.

Selon Larpent (1990), la présence des coliformes n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier.

D'après Magnusson et *al.* (2007), les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes et la prévalence de mammites, dans ce cas, augmente, suggérant une contamination des trayons et du lait plus importante. D'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite.

Richard (1983) a isolé à partir de laits pollués (10^6 germe/ml) réfrigérés, des coliformes présentant des activités protéolytiques et lipolytiques. Ces souches après identification ressemblaient à *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei* et au genre *Serratia*.

Nous remarquons que dans les 30 échantillons de laits la moyenne des coliformes totaux dépasse celle de la flore psychrotrophe. Muir et *al.* (1979) cités par Richard (1983) ont constaté, une prédominance de bactéries coliformes sur la flore psychrotrophe seulement dans des laits non refroidis. Cette prédominance peut être

expliquée par une croissance de bactéries coliformes plus rapides que celles des psychrotrophes, lorsque la température du matériel de traite ou du lait remonte. Ceci confirme une défaillance dans la réfrigération des laits étudiés.

Le contrôle impératif de ces laits après pasteurisation, s'impose vu la charge abondante en ces germes, ils ne sont pas pathogènes, mais certains d'entre eux, notamment ceux appartenant à l'espèce *E.coli*, sont considérés comme responsables d'intoxications alimentaires (Mourgues et al., 1977), d'une part et d'autre part, ils génèrent le défaut du mille trous précocement dans le fromage à pâte molle. Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Afif et al. (2008) avec $3,2.10^5$ UFC/ml, cependant ils sont inférieurs aux dénombrements retrouvés par Ouinine et al.(2004) $1,07.10^7$ UFC/ml au Maroc.

2.6 Coliformes fécaux

La moyenne des dénombrements est de $36,7.10^4 \pm 57,4.10^4$ UFC/ml. Ces résultats sont très variables et supérieurs à la norme 10^3 UFC/ml (JORA, 1998) pour 87% des échantillons. La fréquence des résultats se situant entre 0 et 23.10^4 UFC/ml est de 63%.

La recherche de microorganismes indicateurs de la contamination d'origine fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit. Même à des niveaux faibles, ils témoigneraient de conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours du transport (Labioui et al., 2009). Leur présence est souvent associée à des entérobactéries pathogènes comme les *Salmonella*, les *Shigella*, les *Yersinia* et certains biotypes d'*E.coli* (Guiraud et Rosec, 2004).

Selon Rozier et al., (1985), cités par Bouchibi et Boulame en (1997), les coliformes fécaux sont des *Escherichia coli* dans 95 à 99% des cas. Mocquot et Guittonneau (1939) ont démontré que les coliformes du genre *Escherichia* sont les plus fréquents dans les excréments des vaches laitières. Ils contaminent le lait directement (par contact direct avec le pis), ou se multiplient lors d'un mauvais nettoyage dans les rinçures des ustensiles laitiers.

Par ailleurs, Srairi et Hamama (2006), ont démontré que les pratiques de tétée préalables à la traite, auraient pour incidence une chute de la contamination par les coliformes fécaux et les staphylocoques dans le lait, car les premiers jets de lait sont les plus fortement contaminés en microorganismes présumés pathogènes, surtout en cas de mammites.

Selon Gay et *al.*(1993), un faible niveau de contamination initial du lait en coliformes fécaux, limite leur développement pendant la transformation fromagère ; les bactéries coliformes soumises au traitement de pasteurisation basse (75°C/15sec) sont réduites à hauteur 1,4 log UFC (25 UFC/ml).

Les résultats du test Mackenzie révélant la suspicion de présence d'*Escherichia coli*, sont positifs dans 64% des échantillons. Ce germe est considérée comme l'un des meilleurs indicateurs de la contamination fécale faisant suspecter un nettoyage avec une eau contaminée, il peut également provenir d'une mammite à *E. coli* (Beerens et Luquet, 1987).

L'étude menée par Michelutti et *al.* (1999) sur les mammites à *E.coli*, démontre que la composition protéique du lait est modifiée, notamment celle des caséines qui diminue de près de 21%. Ces changements affectent la transformation fromagère et la qualité des produits laitiers. Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Ghazi et Niar (2011), dans la région de Tiaret avec une moyenne de 1,7.10 UFC/ml, ils se rapprochent des résultats obtenus par Afif et *al.* (2008) dans l'une des coopérative laitière à Tadla (Maroc) 32.10⁴UFC/ml, mais sont nettement inférieurs aux résultats rapportés par Ouinine et *al.* (2004) 1,99.10⁶UFC/ml.

2.7 Salmonelles

L'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination, ce qui est conforme à la réglementation algérienne. En général, l'isolement des salmonelles dans le lait cru est difficile à mettre en évidence (Affif et *al.*, 2008).

Une étude de l'institut de l'élevage français réalisée en (2000) a démontré que la prévalence de l'excrétion mammaire de salmonelles est d'environ 0,6%, faisant de cette voie une source de contamination rare mais pas exceptionnelle. La principale source de contamination serait l'excrétion fécale de salmonelles, dissémination de la bactérie dans l'environnement, puis contamination de la peau des mamelles et du matériel de traite et enfin passage dans le lait (Guy, 2006).

Nous avons isolé et purifié des souches suspectes, puis nous avons effectué des galeries biochimiques classiques pour chacun des germes. Les résultats des identifications sont rapportés sur le tableau n°11. Les bactéries identifiées sont surtout liées aux conditions d'hygiène, la majorité des bactéries isolées sont du genre *Hafnia* espèce *Hafnia alvei* qui est une entérobactérie très fréquente dans les laits

crus. Cette bactérie se développe à température relativement basse et est considérée comme étant un coliforme psychrotrophe. *Hafnia alvei* dégrade les protéines du lait et produit des arômes dans les fromages au lait cru (Jaillais et Auger, 1999). Mourgues et al. (1977) ont démontré que l'essentiel des contaminations post-pasteurisation dans la fabrication et la conservation des fromages à pâte molle, sont des coliformes psychrotrophe du genre *Hafnia*. L'isolement de cette bactérie est associée également à des cas de mammites (Euzéby, 2003).

Une souche de *Pseudomonas aeruginosa* a été identifiée par galerie biochimique. C'est une bactérie psychrotrophe responsable d'altération du lait cru réfrigéré. La mammite due à cette bactérie, est souvent sévère elle cause la mortalité bovine. L'origine de la contamination a été fortement associée à l'utilisation d'eau contaminée (Vela, 1997 ; Jay, 2000).

Nous avons également identifié des *E.coli*, des *Proteus*, *Shewanella putrefaciens* et *Plesiomonas Shigelloides*.

Nos résultats concernant l'absence de salmonelles dans le lait, concordent avec ceux de Srairi et Hamama (2006), Affif et al. (2008), au Maroc, Ndiaye (1991) au Sénégal.

2.8 Staphylocoques

La norme concernant le *Staphylococcus aureus* est l'absence du germe dans le lait cru. Les résultats obtenus présentent une moyenne de $37,6.10^2 \pm 54,2.10^2$ UFC/ml. La fréquence des résultats est de 70% pour des dénombrements situés entre 0 et $27. 10^2$ UFC/ml. Seuls 5 échantillons soit, 16% des laits analysés ne contiennent pas de staphylocoques et sont donc conformes à la norme, le reste soit 84% des échantillons présentent une contamination, dont 100% sont positifs au test de la catalase et 95% sont positifs au test de la coagulase.

Selon Dodd et Booth, (2000), le *Staphylococcus aureus* est considéré comme une bactérie pathogène majeure, causant des infections mammaires, ces dernières s'accompagnent d'une augmentation de la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait qui a pour conséquence des modifications de la composition du lait (Rainard et Poutrel, 1993).

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

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

Nos résultats sont en accord avec ceux de Aggad *et al.* (2009) dans l'ouest algérien avec une moyenne de 35.10^2 UFC/ml, ils se rapprochent également des résultats obtenus par Affif *et al.* (2008) dans la région de Tadla au Maroc avec une moyenne de $0,8.10^3$ UFC/ml, mais restent largement inférieurs à ceux obtenus par Mennane *et al.* (2007) au Maroc avec une moyenne de $1,2.10^6$ UFC/ml.

Concernant l'antibiorésistance, le *Staphylococcus aureus* est considérée parmi les bactéries Gram positif qui offre le plus de résistance à l'antibiothérapie, 60% de souches sont productrices de β -lactamase (Perrin-Coullioud *et al.*, 1991). Au niveau de la mamelle, *Staphylococcus aureus* est le second pathogène le plus isolé, derrière *Streptococcus uberis*. Certaines souches, caractérisées coagulase positives, induisent des mammites généralement subcliniques, tandis que les coagulases négatives entraînent des taux cellulaires élevés dans le lait, dépréciant sa qualité (Chatellet, 2007).

La résistance des souches isolées coagulase positive vis-à-vis de la pénicilline G est confirmée pour toutes les souches avec 100% de taux de résistance, les mêmes résultats ont été rapportés par Rahal (2001), par Bouaziz (2005) à l'Est algérien et par Ben Hassen *et al.* (2003) en Tunisie. En effet selon Guérin-Faublée et Brun (1999), certaines souches de *Staphylococcus aureus* synthétisent des pénicillinases, enzymes limitant l'action de certains antibiotiques. La résistance à l'oxacilline est de 8%, cette faible résistance du germe a été confirmée par les deux études menées par Ben Hassen *et al.* (2003) et Bouaziz (2005).

Aucune résistance n'a été observée pour les 4 antibiotiques : céfoxitine, érythromycine, enrofloxacin et vancomycine. Les résultats obtenus sur l'antibiorésistance de ce germe vis à vis des 3 derniers antibiotiques testés par Ben Hassen *et al.* (2003) sont identiques, 100% des souches sont sensibles aux antibiotiques testés. Même résultat concernant l'érythromycine a été obtenu par Bouaziz (2005). En revanche, Mercier et Pellet (2003), rapportent que des souches d'origine bovine en Grèce, ont présenté des résistances face à l'érythromycine. Les

niveaux d'antibiorésistance varient suivant les pays et suivant les époques (Mecier et Pellet, 2003).

Les souches de staphylocoques coagulase positive, sont résistantes vis-à-vis de l'association triméthoprime+sulfaméthoxazole avec un taux de 17%, par contre 83% d'entre elles en sont sensibles. Ce résultat diffère du résultat obtenu par Ben Hassen (2003), 0% de résistance. La résistance observée pour la tétracycline est peu élevée 17%, cette molécule selon Ben Mahdi et Ouslimani (2009), occupe une place prépondérante dans la thérapeutique en élevage laitier en Algérie.

3. Corrélation entre les flores

La corrélation entre les différentes flores des 30 échantillons de lait cru est relativement faible, seule une corrélation positive semble être un peu plus significative entre la flore psychrotrophe et les coliformes totaux ($r= 0,716$).

Selon Bornert (2000), certaines entérobactéries sont psychrotrophes, elles appartiennent principalement aux genres *Enterobacter*, *Serratia* et *Hafnia*, ce qui peut être à l'origine d'un accroissement parallèle des 2 flores, accentué surtout par l'absence d'hygiène. L'étude menée par Richard (1983), confirme d'ailleurs la dominance des *Pseudomonas* et des coliformes dans les laits réfrigérés fortement pollués.

Raynaud (2005), a également retrouvé de faibles corrélations dans l'étude des flores d'altération des laits en Bretagne, elle estime que ces liaisons ne traduisent pas une réelle corrélation entre les flores, mais plutôt un poids fort des extrêmes (deux valeurs élevées de deux flores en même temps), le coefficient de corrélation obtenu entre la flore psychrotrophe et les coliformes est de ($r = 0,30$).

Cependant deux études menées par le centre régional d'écopathologie du Rhône-Alpes en (1987), et par Villar et *al.* en 1996, citées par Heuchel et Sommelier (2003), sur des laits fortement contaminés montrent l'existence de corrélation entre la flore totale et la flore psychrotrophe, les coefficients de corrélation sont respectivement de ($r=0,75$) et ($r=0,82$). En ce qui concerne la corrélation entre la flore psychrotrophe et les coliformes, Villar et *al.* (1996) ont retrouvé la même valeur du coefficient de corrélation qui est de ($r= 0,7$).

Conclusion

Conclusion

A travers cette étude, nous avons évalué le degré de contamination de la matière première, le lait cru de vache destiné à la fabrication du fromage à pâte molle type Camembert. Ainsi, 30 échantillons de lait cru de mélange ont fait l'objet d'une étude microbiologique portant sur 9 flores. Nous avons également déterminé quelques caractéristiques physico-chimiques de ces laits.

Les résultats des analyses physico-chimiques sont généralement, compris dans des intervalles proches des normes internationales retenues pour ce produit, avec une moyenne de densité de 1,029 et une acidité moyenne de 17,8°D. Toutefois, le taux butyreux est en moyenne, faible 30,9 g/l, il dépend essentiellement du facteur alimentaire.

Les résultats microbiologiques sont très variables avec des moyennes de dénombrements de la flore mésophile aérobie revivifiable, des psychrotrophes et des thermorésistants respectives de $28,8 \cdot 10^6$ UFC/ml, $12,3 \cdot 10^5$ UFC/ml et $44,2 \cdot 10^4$ UFC/ml.

Les échantillons sont également contaminés par les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux avec des moyennes respectives de $50,3 \cdot 10^5$ UFC/ml, $36,7 \cdot 10^4$ UFC/ml et $55,4 \cdot 10^5$ UFC/ml. Le germe *E.coli* est présent dans 64% des échantillons.

Les staphylocoques sont présents avec une moyenne de $37,5 \cdot 10^2$ UFC/ml, ils sont coagulase positive dans 80% des échantillons. L'étude des profils de sensibilité aux antibiotiques a montré une fréquence de résistance de 100% vis-à-vis de la pénicilline G. Par contre, très peu de résistance est observée vis-à-vis de l'oxaciline, seulement 8%. La résistance à la tétracycline est également peu élevée, elle est de 17%. Aucune résistance n'a été observée pour la céfoxitine, l'érythromycine, l'enrofloxacin et la vancomycine. Les souches de staphylocoques coagulase positive présentent une antibiorésistance de 17%, vis-à-vis de l'association triméthoprime sulfaméthoxazole par contre 83% d'entre elles en sont sensibles.

Concernant la recherche de salmonelles, nos résultats ont révélé l'absence de ce germe dans tous nos échantillons.

Nous notons une très grande disparité des résultats obtenus entre les échantillons pour une même flore, à l'origine de l'inexistence de la traçabilité des laits crus. Cette grande variation de la contamination du lait cru, quels que soient les

types de flores considérés, relève du non respect des bonnes pratiques d'hygiène par les éleveurs.

Au vu des normes algériennes (JORA, 1998), la qualité hygiénique de tous les échantillons analysés, est mauvaise. Les laits sont fortement pollués, révélant des pratiques d'hygiène douteuses, que même des conditions de réfrigération optimales du lait, ne peuvent, en aucun cas, masquer.

Sur le plan technologique, ces laits sont considérés comme fortement pollués et risquent de compromettre le bon déroulement des opérations de transformation fromagère, notamment lors de la pasteurisation, avec un risque de coagulation du lait.

Sur le plan nutritionnel, l'accroissement des activités métaboliques microbiennes conduit à un abaissement de la valeur nutritionnelle du lait et de ses dérivés, du fait de la dégradation de ses constituants.

Sur le plan sanitaire, la présence de staphylocoque coagulase positive, présente un risque d'intoxication alimentaire par l'ingestion d'entérotoxines thermostables.

Ces résultats ne peuvent que renforcer la conviction de l'urgence d'un appui technique dans ce domaine, couplé à la révision du mode de paiement du lait : la prise en compte quotidienne de critères aussi élémentaires que les taux butyreux et protéiques et la contamination par les microorganismes. Il y va sûrement de la durabilité en Algérie d'une filière laitière qui soit apte à distinguer les diverses déclinaisons d'un produit aussi variable et périssable que le lait.

Pour notre part, nous envisageons de poursuivre ce travail par l'étude de la qualité bactériologique des laits crus de chaque éleveur, corrélée aux conditions d'élevage (hygiène des étables et de la traite, et itinéraire zootechnique).

Références
Bibliographiques

Abdeldjalil M.C. (2005). Suivi sanitaire et zootechnique au niveau d'élevages de vaches laitières. Mémoire de Magister en médecine vétérinaire. Département des sciences vétérinaires. Université de Constantine. pp: 2-23.

Adda J., Gripon J. C. et Vassel L. (1982). The chemistry of flavor and texture generation in cheese. Food chemistry . pp : 9,115 - 129.

Académie des Technologies, Académie d'Agriculture de France AAF. (2004). Rapport : Progrès technologiques au sein des industries alimentaires. Impact sur la qualité des produits. La filière laitière.

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.

AFNOR (1980). Recueil des normes françaises. Laites et produits laitiers.

AFNOR. (1985) . Contrôle de la qualité des produits laitiers –Analyses physiques et chimiques, 3ème édition.

Agabriel C., Coulon J.B., Brunshwig G., Sibra C. et Nafidi C. (1995). Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. INRA Prod. Anim., 8 (4). pp : 251-258.

Agabriel C., Coulon J.B., Journal C. et De Rancourt B. (2001). Composition chimique du lait et systèmes de production dans les exploitations du massif central. INRA. Prod. Anim., 14(2). pp : 119-128.

Aggad H., Mahouz F., Ahmed Ammar Y. et Kihal M. (2009). Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. Revue Méd. Vét., 160, 12. pp :590-595.

Alais C. (1975). Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.

Alais C. (1984). Sciences du lait. Principes de techniques laitières. 3ème édition, édition Publicité France.

Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008). Biochimie alimentaire, Dunod 6^{ème} édition. Paris. pp :86-88.

Ameur A., Rahal K. et Bouyoucef A. (2011). Evaluation du nettoyage des tanks de réfrigération dans les fermes laitières de la région de Freha (Algérie). Revue Nature et Technologie. N°6. pp :80-84.

Amhoury, F., Said B., Hamama, A. et Zahar M. (1998). Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la région d'Errachidia. Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc) 18 (1). pp : 31-35.

ARRÊTÉ INTERMINISTÉRIEL du 25 janvier 1998 (JORA) relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées. Ministère du commerce. JORA N°35, 1998, Algérie.

Araba A. (2006). L'alimentation de la vache laitière pour une meilleure qualité du lait. Comment augmenter les taux butyreux et protéique du lait. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA n°142 vache laitière. Transfert de technologie en agriculture. Ministère De L'agriculture, Du Développement Rural Et Des Pêches Maritimes. Maroc.pp :1-4.

Auclair J. (1979). Influence des méthodes de réfrigération et de collecte du lait sur sa qualité bactériologique. Revue française lait n°378. 37p.

Auclair J. et Lenoir J. (1980). Influence de la réfrigération à la ferme sur la transformation ultérieure du lait et la qualité des produits fabriqués. Génie Rurale N°5.pp:11-15.

Badinand F. (1994). Maîtrise du taux cellulaire du lait. Rec. Méd. Vét., n°170.

Beerens H. et Luquet F.M. (1987). Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers. Edition Tec et Doc. Lavoisier. pp :1-65.

Bennett A., Cahill S., Lhoste F. et Edge J. (2005). Avantages et risques potentiels du système lactoperoxydase pour la conservation du lait cru. Rapport d'une réunion technique FAO/OMS.68p.

Ben Hassen S., Messadi L. et Ben Hassen A. (2003). Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. Ann. Méd. Vét, 147.pp :41-47.

Ben Mahdi MH. et Ouslimani S. (2009). Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. European Journal of Scientific Research vol.36 n°3. pp: 357-362.

Bitton G. (1999). Wastewater Microbiology. John Wiley & Sons. 578p.

Blanc B. (1982). Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale. International dairy journal, 62. pp :350-395

Bloquel R. et Veillet-Poncet L. (1980). Evolution et détermination de la flore bactérienne d'un lait cru réfrigéré paucimicrobien en fonction du temps. Revue Le lait. pp :474-486.

Bonnefoye C., Guillet F., Leyral G. et Verne-Bourdais E. (2002). Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Edition Biosciences et Techniques. 138p.

Bonfoh B., Fané A., Traoré N. A, Coulibaly Z., Simbé C. F, Alfaroukh O., Nicolet J., Farah Z. et Zinsstag J. (2002). Qualité microbiologique du lait et des produits laitiers vendus en saison chaude dans le district de Bamako au Mali. Bioterre, Rev. Inter.Sci. de la vie et de la terre, N° spécial actes du colloque international, centre Suisse. Editions Universitaires de Cote d'Ivoire. pp: 242-250.

Boualem W. et Cheurfa Y. (2006). Etude de la matière grasse du lait cru cas de Constantine et Sétif . Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en nutrition. Institut de la Nutrition de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires. Université de Constantine. pp :40-47

Bouaziz O. (2005). Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat en pathologie de la reproduction. Département des Sciences Vétérinaires. Université de Constantine. pp :156-188.

Bouchibi A-M. et Boulame M. (1997). Contribution à l'étude microbiologique du lait cru de trois fermes de la région de Constantine. Mémoire d'ingénieur d'état en industries agro alimentaires. Institut de la Nutrition de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires. Université de Constantine. pp: 50-74.

Bourgeois C.M., Mescle J.F. et Zucca J. (1996). Microbiologie Alimentaire Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments Tome 1. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris. 32p.

Boutonnier JL. (2008). Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320), Paris.

Boudier J.F. et Luquet F.M. (1978). Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, N°21, édition APRIA, Paris.

Bouziani A. (2009). La lettre ALGEX. Lettre bimensuelle n°18. pp :1-2.
<http://www.algex.dz/content.php?artID=1384&op=51>

Bornert G. (2000). Importance des bactéries psychrotrophes en hygiène des denrées alimentaires. Revue Méd. Vét., 151, 11. pp: 1003-1010.

Brisabois A., Lafarge V., Brouillard A., de Buyser M.L., Collette C., Garin-Bastuji B. et Thorel M.F. (1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 16 (1). pp: 452-471.

Cauquil M. (2011). Incidence des pratiques d'élevage sur les équilibres microbiens de la litière, de la peau des trayons et du lait cru en filière AOP Comte. Thèse de Docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique-ONIRIS. pp: 81-170.

Cauty I. et Perreau J-M. (2009). Conduite du troupeau bovin laitier. Production, Qualité Rentabilité. 2^{ème} édition France Agricole.

Charron G. (1986). Les produits laitiers Vol1 les bases de la production. Edition Tec et Doc. 347p.

Chilliard Y. et Lamberet G. (1984). La lipolyse dans le lait : les différents types, mécanismes, facteurs de variations, signification pratique. Le lait 64. pp : 544-578.

Cayot P. et Lorient D. (1998). Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.

Codex Alimentarius. (1999). Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999. pp :1-4.

CIPCLait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011). Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.

Coulon J-B., Chilliard Y. et Remond B. (1991). Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. INRA Prod. Anim., 4 (3).pp: 219-228.

Coulon J-B. et Hoden A. (1991). Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367.

Clausen EM., Green BL et Litsky W. (1977). Fecal streptococci: indicators of pollution. Dans: Hoadley, AW et BJ Dutka, édit., Bacterial Indicators/Health hazards associated with water. American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635, pp: 247-264.

Crapelet C. et Thibier M. (1973). La vache laitière reproduction Génétique Alimentation Habitat Grandes maladies. Edition Vigot Paris. pp: 114-116.

Crema. (2003). Problèmes de qualité du lait ? – Causes possibles et mesures à prendre. brochure 1^{ère} édition Paris. 3p.

Cuq J.L. (2007). Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.

Debry G. (2001). Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

Deforges J., Derens E., Rosset R. et Serrand M. (1999). Maitrise de la chaîne du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc, Paris.

Dehkal G. (1982). Incidence du temps de réfrigération sur la microflore du lait cru. Mémoire d'ingénieur d'état en industries agro-alimentaires. Institut des sciences biologiques. Université de Constantine.

Devriese L.A., Vandamme P., Pot B., Vanrobaeys M., Kersters K. et Haesebrouck F. (1998). Differentiation between *Streptococcus gallolyticus* strains of human clinical and veterinary origins and *Streptococcus bovis* from the intestinal tracts of ruminants. Journal of Clinical Microbiology, vol. 38.ppp : 3520-3523.

Dieng M. (2001). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché dakarais. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.

Dodd FH. et Booth J. (2000). Mastitis and milk production. Dans the healthy of dairy cattle. Edition Andrews A..H. London. pp: 213-255.

- Dumont J.P, Delespaul G., Miguot B. et Adda J. (1977).** Influence des bactéries psychrotrophes sur les qualités organoleptiques de fromages à pâte molle. Mémoires originaux. Le lait. pp :569-570.
- Edberg SC., Rice EW., Karlin RJ. et Allen MJ. (2000).** *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88. pp :106-116.
- El Atyqy M. (2010).** Réactions d'altération chimique des aliments. Edition Sciences et techniques des aliments.
- Euzeby J.P. (2003).** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. Edition Euzeby.
- FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.
- Farrow J.A.E., Kruze J., Phillips BA., Bramley AJ et Collins MD. (1984).** Taxonomic studies of *S. bovis* and *S. equinus*: description of *S. alactolyticus* sp. no. and *S. saccharolyticus* sp. nov. Systematic and Applied Microbiology, 5.pp:467-482.
- Fatet P. (2004).** Les staphylocoques dans l'industrie laitière. GDS Info 2004/2005 l'action sanitaire ensemble. pp :34-35.
- Faye B. et Loiseau G. (2002).** Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, Montpellier, France. pp :11-13.
- Feuillat M., Le Guennec S. et Olsson A. (1976).** Contribution à l'étude de la protéolyse des laits réfrigérés et incidences sur le rendement d'une fabrication de fromages à pâte molle. Mémoires originaux. Le lait n°558. pp :521-536.
- Franklin W. Barber. (1962).** Le contrôle d'hygiène du lait liquide dans l'hygiène du lait. OMS n°48. pp : 309-324.
- Filipovitch D. (1954).** Etude sur les variations de la densité du lait de mélange. International dairy journal. pp :333-334.
- Froc J., Gilibert J., Daliphar T. et Durand P. (1988).** Composition et qualité technologique des laits de vaches Normandes et Pie noires. Edition INRA prod. Anim., 1988, 1(3).pp : 171-177.
- Gabli A. (2005).** Etude cinétique des cellules somatiques dans le lait des vaches atteintes de mammites et de vaches saines. Thèse doctorat d'état, université Mentouri de Constantine. Algérie. 17p.
- Gay MF., Jaubert G. et Saboureau S. (1993).** Qualité hygiénique du lait de chèvre Incidence des traitements technologiques sur la qualité hygiénique du lait et des fromages de chèvre à pâte molle. Lait n° 73. pp :499-509.

Ghazi K. et Niar A. (2011). Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). TROPICULTURA, 2011, 29, 4. pp :193-196.

Gleeson C. et Gray N. (1997). The coliform index and waterborne disease. E & FN Spoon.194p.

Gordon B. et Loisel W. (1991) . Dosage des protéines. Dans : Multon J.L., Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agronomiques. Vol 4, 2ème édition, Tec& Doc, Lavoisier, Paris.

Goudédranche H., Camier-Caudron B., Gassi JY. et Schuck P. (2008). Procédés de transformation fromagère (partie 1). Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6305). Paris. pp 1-2.

Goursaud J., (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laites et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

Goy D., Häni JP. , Wechsler D. et Jakob E. (2005). Valeur de la teneur en caséine du lait de fromagerie. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Gruyère N°27f .

Gripon JC., Desmazeaud MJ., Le Bars D. et Bergère JL. (1975). Étude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. Influence de la présure commerciale. Le Lait 55.pp: 502-516.

Guerin Fauble V., Brun Y. (1999). Les résistances aux antibiotiques chez les staphylocoques d'origine animale. Revue de médecine vétérinaire., 150. pp: 299-312.

Guinot Thomas P. Ammouy M. et Laurent F. (1995). Effects of storage conditions on the composition of raw milk. International Dairy Journal N° 5. pp: 211-223.

Guiraud J. et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p.

Guiraud J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. pp : 136-139.

Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.

Guy F.I. (2006). Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central. Thèse doctorat d'état, université Paul-Sabatier de Toulouse, France. 17p.

Hancock LE. et MS Gilmore .(2000). Pathogenicity of enterococci. Dans: Fischetti, VA, RP Novick, JJ Ferretti, DA Portnoy et JI Rood, édit., Gram positive pathogens. American Society for Microbiology. pp.:251-258.

Hassainya J., Padilla M. et Tozanli S. (2006). Lait et produits laitiers en méditerranée. Des filières en pleine restructuration. Edition Karthala.

Heuchel V., Meffe N. (2000). Origine et moyens de maîtrise à la production de la contamination du lait de vache par les salmonelles. (Dossier 97/04-2 : Maîtrise de la contamination du lait par les salmonelles). Rapport final de l'institut d'élevage juillet 2000. pp : 1-26.

Heuchel V. et Sommellier L. (2003). Caractérisation microbiologique et aptitudes technologiques des laits ultra-propres. Compte rendu final n°9983118. Institut de l'élevage ENSAIA de Nancy. Institut technique du Gruyère. pp :2-12.

Heuchel V., Chatelin Y.M., Breau S., Sobolewski F., Blancard N., Baraton Y., Ayerbe A. (2003). Lipolyse du lait de vache et qualité organoleptique des produits laitiers. Renc. Tech. Ruminant n°10.pp : 223-226.

Hurtaud C., Buchin S., Matin B., Verdier-Metz I., Peyraud J.L et Noël Y. (2001). La qualité des laits et ses conséquences sur la qualité des produits de transformation : quelques techniques de mesure dans les essais zootechniques. Renc. Rech. Ruminants, n°8.pp: 35-42.

Institut de l'élevage. (2009). Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1^{ère} Edition France Agricole. Produire mieux. pp :55-506.

Institut Pasteur d'Algérie. (2003). Catalogue Milieux de culture réactifs de laboratoire. Edition IPA.

Institut Pasteur d'Algérie. (2005). Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine vétérinaire à l'Echelle Nationale. 3^{ème} Edition IPA. 86p.

Jaillais B. et Auger J. (1999). Mise au point de méthodes d'analyse permettant de caractériser l'impact, sur les qualités organoleptiques d'un fromage de type pâte molle-croûte fleurie, de l'association d' *Hafnia alvei* à des ferments d'aromatisation. Thèse Doctorat université de Tour. 215p.

Jakob E. et Hänni J-P. (2004). Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebefeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.

Jakob E., Winkler H. et Haldemann J. (2009). Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebefeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. pp :5-31.

Jakob E., Winkler H., Schaeren W., Amrein R. et Geinoz M. (2011). La qualité du lait cru un défi permanent. Edition Agroscope Liebefeld-Posieux forum n°78 f.pp :5-17

Jay, J. M. (2000). Taxonomy, role, and significance of microorganisms in food. Dans Modern Food Microbiology, Aspen Publishers, Gaithersburg MD.13p.

Kim H., Hardy J., Novak G., Ramet J.P. et Weber W. (1982). Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué. Collection FAO Alimentation et nutrition n°35.

Kirat, 2007. Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines - Cas de la Wilaya de Jijel en Algérie. Montpellier (France): CIHEAM-IAMM.13p.

Labioui H., Laarousi E., Benzakour A., El Yachioui M., Berny E. et Ouhssine M. (2009). Étude physico-chimique et Microbiologique de laits crus. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2009, 148. pp: 7-16.

Larpent J.P. (1990). Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie alimentaire. (Bourgeois C.M., Mescle J.F.et Zucca J.) Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Tec et Doc. Lavoisier. pp : 201-215.

Le Minor L. et Richard C. (1993). Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur.

Lemire G. (2007). Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régie biologique. Edition l'envol lait biologique. Québec. 9p.

Lenoir J. Veisseyre R. et Choisy C. (1974). Le lait réfrigéré, matière première de la fromagerie moderne. Le Lait. pp : 322- 453.

Leyral G. et Vierling É. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4^e édition Biosciences et techniques. 87p.

Levesque P. (2004). La traite des vaches laitières Etape par étape vers la qualité Guide pratique. Edition Educagri. Québec.

Luquet F. M. (1985). Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

Madji A. (2009). Séminaire sur les fromages AOP ET IGP.INAT. Tunisie.

Magnusson M., Christiansson 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.

Mankäi M., Mnasser H. et Boudabous A. (2003). Influence de la durée de réfrigération sur la microflore psychrotrophe, la protéolyse et la composition chimique et minérale du lait cru de collecte tunisien. Editions de Courcelles vol. 120, n°12. pp :12-17.

Mahieu H. (1985). Modification du lait après récolte. Dans : Lait et produits laitiers. Vaches, brebis, chèvres. Luquet F.M tome 1. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

Marchin S. (2007). Dynamique de la micelle de caséines : caractérisation structurale. Thèse INRA/ Agrocampus Rennes.

Mathieu J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.

Mennane Z., Ouhssine M., Khedid K. et Elyachioui M. (2007). Hygienic quality of raw cow's milk feeding from waste in two regions in Morocco. International journal of agriculture and biology. Vol.9, n°1. pp: 46-48.

Mercier P. et Pellet M-P. (2003). Evolution de l'antibiorésistance de souches de Staphylococcus aureus d'origine caprine en France. Revue de médecine vétérinaire. N° 154,(4). pp: 277-280.

Meyer C. et Denis J.P (1999). Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Edition Quae, CTA, presses agronomiques de Gembloux.

Michel V. (2005). Peut on agir sur la flore microbienne du lait ? Action sur la flore. Edition GIS Alp du Nord. pp : 2-3.

Michelutti I., Le Roux Y., Rainard P., Poutrel B. et Laurent (1999). Cinétiques des variations de la composition du lait au cours d'une mammites expérimentale à Escherichia coli. Lait 79. Edition INRA/Elsevier, Paris. pp :535-549.

Ministère de l'agriculture et du développement rural. (2009). Communication sur le développement de la production laitière.

Miranda G. et Gripon J-C. (1986). Origin, nature and technological significance of proteolysis in milk . International dairy journal, n°66. pp:1-18.

Morrissay PA. (1995). Lactose : chemical and physicochemical properties. dans : Developments in dairy chemistry 3. (FOX PF). Elsevier, London.

Mourgues R. et Auclair J. (1973). Durée de conservation à 4° C et à 8° C du lait pasteurisé conditionné aseptiquement. Le Lait n°53. pp : 481-490.

Mourgues R., Vassal L., Auclair J. et Mocquot G. (1977). Origine et développement des bactéries coliformes dans les fromages à pâte molle. Mémoires originaux. Le lait N°563-564. pp : 131-149.

Mourgues R., Deschamps N. et Auclair J., (1983). Influence de la flore thermorésistante du lait cru sur la qualité de conservation du lait pasteurisé exempt de recontaminations post-pasteurisation. International dairy journal, 63. pp :391-404.

Mocquot G. et Guittonneau G. (1939). Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée aux contrôle de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. Le lait n°182.pp :114-139.

Mocquot G. et Auclair J. (1967). Les bactéries psychrotrophes dans le lait conservé à basse température. Le lait n°239. pp :21-25.

Ndiaye M. (1991). Contribution à l'étude comparée de la qualité microbiologique des laits crus-laits caillés et laits en poudre commercialisés dans la région de Dakar

Sénégal. Thèse de docteur vétérinaire. Université Cheikh ANTA . Ecole des sciences et médecine vétérinaires. Dakar.

Ouali S. (2002). Qualité du fromage à pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie de Draa Ben Khedda : nature de la matière première et évaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage et de l'entreposage réfrigéré du fromage. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Institut de la Nutrition et des Technologies Agro-alimentaires. Université de Constantine. 9p.

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

Ounine, K., Rhoutaisse, A. and El Halou, N.E. (2004). Caractérisation bactériologique du lait cru produit dans les étables de la région du Gharb. Al awamia, 109-110. pp : 187-204.

Perrin-Coullioud I. Martel J.L., Brouillet p. et Fedida M. (1991). Identification et sensibilité aux antibiotiques des diverses espèces de staphylocoques associées a des mammites bovines inapparentes et subcliniques . Résultats d'une enquête régionale. Volume 1, tome 142.pp :39-47.

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

Piton C. et Richard J. (1982). Causes de contamination microbienne d'importance moyenne du lait dans un groupe de fermes de la région de Rennes. International Dairy Journal. N° 62. pp : 67-74.

Piton C. Et Richard J. (1983). Influence de l'agitation des échantillons de lait cru sur les résultats de dénombrement de trois groupes microbiens. Le lait n° 63. pp : 405-415.

Pougheon S. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

Plusquellec A. (1980). Le contrôle des matières premières et des produits: laits et produits laitiers. dans techniques d'analyses et de contrôle dans les IAA, Vol. 3,Paris, Tec. & Doc.

Rainard P et Poutrel B. (1993). Protection de la glande mammaire. Dans :Biologie de la lactation. Edition INSERM-INRA.pp: 415-429.

Rakotomalala R.(2012). Analyse de corrélation. Etude des dépendances –variables quantitatives. Université Lumière Lyon 2.pp :3-26.

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

Rahal B. (2001). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques en milieu vétérinaire. Dans Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Projet de l'OMS, 3^{ème} rapport d'évaluation. pp: 68-91.

Raynaud S. (2005). Etude sur la contamination du lait par les bactéries coliformes en Bretagne, Rapport final, Institut d'élevage. pp :1-13.

Remeuf F., Cossi N., Dervi N. et Tomasson R. (1991). Relation entre les paramètres physico-chimiques du lait et son aptitude fromagère. Tec et Doc Lavoisier, Paris. 549p.

Richard J. (1980). Influence de l'agitation du lait cru sur les résultats de dénombrement de sa flore totale à l'aide d'une anse calibrée. Le lait N°60. pp : 211-225.

Richard J. et Chatelin Y.M. (1981). Etude de quelques cas de contaminations microbiennes importantes du lait à la ferme. Le lait n°61.pp :80-94.

Richard J. (1983). Nature de la flore microbienne dominante et sous-dominante des laits crus très pollués. Le lait n°63.pp: 148-170.

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

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

Roudj S., Belkheir K., Zadi Karam H. et Karam N.E. (2009). Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du sud ouest algérien. European journal of scientific research. Vol.34 n°2, pp:218-227.

Ruoff K. L., Miller S. I., Garner C. V., Ferraro M. J., et Calderwood S. B. (1989). Bacteremia with *Streptococcus bovis* and *Streptococcus salivarius*: clinical correlates of more accurate identification of isolates. Journal of Clinical Microbiology, 27(2). pp : 305-308.

Silait Salon international du lait (2008). Acte du 1^{er} salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger.
<http://www.agroligne.com/contenu/silait-2008-1er-salon-international-lait>

Semasaka G. (1986). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés commercialisés dans la région de Dakar (Sénégal). Thèse de docteur vétérinaire. Ecole inter etats des sciences et médecine vétérinaires. Université de Dakar. pp :105-144.

Sboui A., Khorchani T., Djegham M et Belhadj O.(2009). Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du sud tunisien ; variation du pH et de l'acidité à différentes températures. Afrique science 05(2) ISSN 1813-548X. pp :293-304.

Stoll W. (2003). Vaches laitières: l'alimentation influence la composition du lait. RAP Agri. N° 15/2003, vol. 9, Suisse.

Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p.

Srairi M.T., Hasni Alaoui I., Hamama A. et Faye B. (2005). Relations entre pratiques d'élevage et qualité globale du lait de vache en étables suburbaines au Maroc. Revue Méd. Vét. 156 (3).pp: 155-162.

Srairi M. T. et Hamama A. (2006). Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. Transfert de technologie en agriculture, 2006, 137. pp : 1-4.

Thieulin G., Basille D., Pantaleon J., Rosset R., Gandon Y. et Petit A. (1966). Recherche des staphylocoques pathogènes dans le lait et les produits laitiers. Mémoires originaux. Le lait n°453-454.pp :131-140.

Thieulon M. (2005). Lait pathogènes staphylocoques. Revue de la chambre d'agriculture du Cantal. pp :1-2.

Thomas S.B. (1973). Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk collected in raw milk. Dairy industry, part 1, 38.pp : 10-15.

Toureau V., Bagieu V. et Le Bastard A-M. (2004). Une priorité pour la recherche :la qualité de nos aliments. Les recherches sur la qualité du fromage. INRA mission communication.

Triki M. (2011). Recherche et identification des souches psychrotrophes Durant toute la chaine de fabrication du fromage type Camembert dans la laiterie Safilait. Mémoire d'ingénieur d'état en nutrition et technologies agro alimentaire. Université de Constantine. 32p.

Varnam A.H. et Sutherland P. (2001). Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. pp: 35-37.

Veisseyre R. (1975). Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3^{ème} édition. Edition la maison rustique, Paris.

Veisseyre R. (1979). Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3^{ème} édition. Edition la maison rustique, Paris.

Vela G.R. (1997). Microbiology of milk. Dans Applied Food Microbiology, Star Publishing, Belmont, CA, 325p.

Vignola C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

Vierling E.(2008). Aliments et boissons filières et produits. 3^{ème} édition Biosciences et techniques.Paris.pp :15-16.

Volter R. (1988). Alimentation de la vache laitière. 3^{ème} édition. Editions France Agricole. Paris.

Weber F. (1985). Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47.

Waes G. (1973). Les streptocoques D dans le lait cru réfrigéré. Le lait international dairy journal 528.pp :520-528.

Yennek N. (2010). Effets des facteurs d'élevage sur la production et la qualité du lait de vache en régions montagneuses. Mémoire de magister en agronomie. Université des Sciences Agronomiques Mouloud Mammeri Tizi Ouzou.

Annexes

Annexe n°1

Formules des milieux de culture (Institut Pasteur,2003)

1. Gélose nutritive

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	10
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Agar	18

Dissoudre 39 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,3±0,2

2. Gélose Chapman

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Tryptone	5
Peptone bactériologique	10
Chlorure de sodium	70
Mannitol	10
Rouge de phénol	0,05
Agar	18

Dissoudre 119 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,4±0,1

3. Gélose SS

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Proteose peptone	5
Extrait de levure	3
Extrait de viande	5
Lactose	10
Sels biliaires	2
Sodium citrate	8,5
Vert brillant	0,33
Rouge neutre	0,025
Agar	18

Dissoudre 31,83 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,2±0,2

4. Gélose Mac- Conkey

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone ce caséine	15
Extrait de viande	3
Lactose	10
Chlorure de sodium	5
Sels biliaires	5
Rouge neutre	0,07
Agar	20
Cristal violet	0,001

Dissoudre 58 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=7,1±0,1

5. Gélose Mannitol Mobilité

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de viande	15
Extrait de viande	3
Mannitol	10
Potassium nitrate	1
Rouge de phénol	0,05
Agar	5

Dissoudre 34 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=7,8

6. Gélose VRBG

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Extrait de levure	3
Peptone	7
Chlorure de sodium	5
Sels biliaires	1,5
Glucose	10
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,002
Agar	12,0

Dissoudre 39,5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 10 min à 110°C ;Ph=7,3

7. Gélose Kligler-Hajna

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de viande	5
Protéose peptone	5
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Glucose	1
Lactose	10
Citrate de Fer ammoniacal	0,3
Chlorure de sodium	5
Sodium Thiosulfate	0,3
Rouge de phénol	0,05
Agar	18

Dissoudre 60,65 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,4

8. Gélose Citrate de Simmons

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Ammonium dihydrogenophosphate	1
Phosphate dipotassique	1
Chlorure de sodium	5
Citrate de Sodium	2
Sulfate de magnésium	0,2
Bleu de Bromothymol	0,08
Agar	18

Dissoudre 27,28 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=6,6±0,1

9. Gélose Mueller Hinton

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Extrait de viande	3
Hydrolysate acide de caséine	17,5
Amidon	1,5
Agar	16

Dissoudre 38 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,4

10. Gélose au sang de mouton

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de viande	10
Peptone de caséine	5
Extrait de levure	3
Chlorure de Sodium	5
Agar	18
Additif à 45-50°C sang de mouton défibriné	50 à 80 ml/l
Dissoudre 41 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=6,9±0,1	

11. Bouillon VRBL

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone pepsique de viande	10
Bile de bœuf desséchée	20
Lactose	10
Vert brillant	2ml
Dissoudre 40 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,4	

12. Bouillon cœur cerveau

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Cœur cerveau infusion	37
Dissoudre 50 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,4±0,2	

13. Bouillon sélénite cystéine

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	5
Phosphate de sodium	10
Lactose	4
Dissoudre 40 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7	

14. Bouillon Clarck et Lubs

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	2
Peptone bactériologique	5
Phosphate dipotassique	5
Glucose	5
Dissoudre 17 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7	

15. Bouillon Rothe simple concentration

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de caséine	20
Extrait de viande	1,5
Glucose	4
Chlorure de sodium	5
Phosphate dipotassique	2,7
Phosphate monopotassique	2,7
Azide de sodium	0,2
Dissoudre 36,1 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=6,9±0,1	

16. Bouillon Litsky

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	20
Glucose	1,5
Extrait de viande	4
Chlorure de sodium	5
Phosphate dipotassique	2,7
Phosphate monopotassique	2,7
Azide de sodium	0,2
Dissoudre 36,1 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=6,8	

17. Eau physiologique

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Chlorure	9
Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7	

18. Bouillon Urée Indole

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
L-Tryptophane	3
Phosphate dipotassique	1
Phosphate monopotassique	1
Chlorure de sodium	5
Urée	20
Rouge de phénol	2,5
Dissoudre 32,5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=6,7	

19. Eau peptonée exempte d'indole

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de viande	10
Tryptone	10
Chlorure de sodium	5
Dissoudre 25 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,2	

Annexe n° 2

Résultats des caractéristiques physico-chimiques des 30 échantillons de laits

N°Echant	Paramètres physico-chimiques		
	MG (g/l)	Densité	Acidité (°D)
1	30	1,028	17
2	33	1,0289	17
3	32	1,0301	17
4	28	1,030	20,5
5	31	1,030	18
6	33	1,0296	19
7	34	1,029	18
8	32	1,0296	16
9	32	1,0294	19
10	32	1,0294	19
11	32	1,0284	17
12	30	1,0296	17
13	31	10296	17
14	30	1,028	18
15	32	1,029	17
16	30	1,0292	19
17	31	1,0285	17
18	30	1,028	18
19	31	1,0289	17
20	30	1,029	18
21	31	1,030	18
22	30	1,0297	20
23	31	1,030	18
24	30	1,0298	18
25	30	1,030	18
26	30	1,0287	17
27	30	1,030	18
28	32	1,0298	17
29	30	1,030	18
30	31	1,031	18

Annexe n°3

Résultats des dénombrements microbiologiques des 30 échantillons de laits (en UFC/ml).

N°Echant	FTMA (10 ⁶)	Fther (10 ⁴)	Fpsy (10 ⁵)	strept (10 ⁴)	sal	staph (10 ²)	col t (10 ⁵)	col f (10 ⁴)	<i>Ecoli</i>
1	23	0,8	2,06	5	A	6	7,2	-	A
2	13,4	0,012	3,5	2,5	A	260	4	13	A
3	16	0,3	2,12	1,3	A	-	5	11	P
4	24	2,4	2,1	6	A	-	14	25	P
5	33	19	1,6	2	A	-	16	12	P
6	3,2	6	2,68	2	A	-	4	-	A
7	34	11	2,05	6	A	2,23	10,5	39	P
8	14,2	42	16,5	25	A	13,1	41	6	A
9	16,8	33	9,9	220	A	10,9	18	15	A
10	0,8	34	2,06	210	A	14,8	9	-	A
11	11,8	0,3	7,9	220	A	12	14	5	A
12	10,3	11	3,8	25	A	18	31	22	A
13	17,4	148	2,32	60	A	20	52	210	P
14	13,8	3,4	13,6	250	A	20,6	38	4,3	A
15	17,4	10,7	9,1	70	A	62	52	36	P
16	61	11,2	27,6	9	A	55	96	46	A
17	38	2,3	24,4	2	A	4	37	2,5	P
18	39	33	8,2	6	A	13	35	-	A
19	34	9,1	6,8	25	A	8	31	13	P
20	10,3	3	14,8	25	A	112	63	7	P
21	28,8	2,3	24,8	25	A	85	27	58	P
22	98	68	27,2	25	A	88	100	73	P
23	28,4	3	4,1	25	A	-	28	1,01	P
24	79	5	31	70	A	15	91	132	P
25	1,85	8,6	33	25	A	16	92	91	P
26	26,4	278	25,6	6	A	20	83	8	P
27	28,4	294	6,4	25	A	46	89	5	P
28	27,2	120	13,6	110	A	26	39	0,5	P
29	71	111	20,8	70	A	101	360	220	P
30	46	56	22	110	A	98	22	48	P

FTMA : flore totale aérobie mésophile ; f.ther. : flore thermorésistante ; f.psy. : flore psychrotrophe ; strept.f.:streptocoques fécaux ; staph.: staphylocoques ; col.t.: coliformes totaux ; col.f. : coliformes fécaux.

A: Absence

P: présence

Annexe n°4

Résultats des dénombrements microbiologiques des 30 échantillons de laits (en log UFC/ml).

N°Echant	FTMA	f.ther	f.psy	strept.	staph.	col. t.	col. f.
1	7,36	3,90	5,31	4,70	2,78	5,86	
2	7,13	2,08	5,54	4,40	4,41	5,60	5,11
3	7,20	3,48	5,33	4,11	/	5,70	5,04
4	7,38	4,38	5,32	4,78	/	6,15	5,40
5	7,52	5,28	5,20	4,30	/	6,20	5,08
6	6,51	4,78	5,43	4,30	/	5,60	/
7	7,53	5,04	5,31	4,78	2,35	6,02	5,59
8	7,15	5,62	6,22	5,40	3,12	6,61	4,78
9	7,23	5,52	6,00	6,34	3,04	6,26	5,18
10	5,90	5,53	5,31	6,32	3,17	5,95	/
11	7,07	3,48	5,90	6,34	3,08	6,15	4,70
12	7,01	5,04	5,58	5,40	3,26	6,49	5,34
13	7,24	6,17	5,37	5,78	3,30	6,72	6,32
14	7,14	4,53	6,13	6,40	3,31	6,58	4,63
15	7,24	5,03	5,96	5,85	3,79	6,72	5,56
16	7,79	5,05	6,44	4,95	3,74	6,98	5,66
17	7,58	4,36	6,39	4,30	2,60	6,57	4,40
18	7,59	5,52	5,91	4,78	3,11	6,54	/
19	7,53	4,96	5,83	5,40	2,90	6,49	5,11
20	7,01	4,48	6,17	5,40	4,05	6,80	4,85
21	7,46	4,36	6,39	5,40	3,93	6,43	5,76
22	7,99	5,83	6,43	5,40	3,94	7,00	5,86
23	7,45	4,48	5,61	5,40	/	6,45	4,00
24	7,90	4,70	6,49	5,85	3,18	6,96	6,12
25	6,27	4,93	6,52	5,40	3,20	6,96	5,96
26	7,42	6,44	6,41	4,78	3,30	6,92	4,90
27	7,45	6,47	5,81	5,40	3,66	6,95	4,70
28	7,43	6,08	6,13	6,04	3,41	6,59	3,70
29	7,85	6,05	6,32	5,85	4,00	7,56	6,34
30	7,66	5,75	6,34	6,04	3,99	6,34	5,68

FTMA : flore totale aérobie mésophile ; f.ther. : flore thermorésistante ; f.psy. : flore psychrotrophe ; strept.f.:streptocoques fécaux ; staph.: staphylocoques ; col.t.: coliformes totaux ; col.f. : coliformes fécaux.

Annexe n°5

Résultats des diamètres (mm) d'inhibition des souches de staphylocoques coagulase positive isolées à partir des échantillons de lait cru de vache.

Antibiotiques Souches	P	OXA	FOX	E	SXT	ENR	Te	VAN
1	10	16	27	28	23	28	28	18
2	6	18	29	26	23	30	25	25
3	16	6	25	25	20	27	30	18
4	6	14	27	23	17	28	6	16
5	26	18	32	27	25	29	29	20
6	6	16	27	23	17	27	6	15
7	9	17	28	23	17	27	6	17
8	24	13	28	28	22	30	27	18
9	16	19	27	28	15	23	21	16
10	24	13	28	23	20	28	21	18
11	16	19	27	28	15	23	21	16
12	26	18	32	27	25	29	29	20
13	6	18	29	26	23	30	25	25
14	6	18	29	26	23	30	25	25
15	16	19	27	28	15	23	21	16
16	9	18	32	27	25	29	29	20
17	26	13	28	28	22	30	27	18
18	16	18	29	26	23	30	25	25
19	26	18	32	27	25	29	29	20
20	16	18	27	23	23	30	6	18
21	24	13	25	28	13	27	19	16
22	26	6	28	27	17	28	25	17
23	6	19	32	26	25	30	28	20
24	9	17	29	28	22	23	21	25

P : Pénicilline ; OXA : Oxacilline ; FOX : Céfoxitine ; E : Erythromycine ; SXT : Trimethoprime+ sulfamethoxazole ; ENR: enrofloxacin ; Te: Tétracycline ; Van : Vancomycine

Annexe n°6

Lecture des résultats à l'antibiogramme des souches de staphylocoques coagulase positive isolées à partir des échantillons de lait cru

Antibiotiques N°Souche	P	OXA	FOX	E	SXT	ENR	Te	VAN
1	R	S	S	S	S	S	S	S
2	R	S	S	S	S	S	S	S
3	R	R	S	S	S	S	S	S
4	R	S	S	S	S	S	R	S
5	R	S	S	S	S	S	S	S
6	R	S	S	S	S	S	R	S
7	R	S	S	S	S	S	R	S
8	R	S	S	S	S	S	S	S
9	R	S	S	S	R	S	S	S
10	R	S	S	S	S	S	S	S
11	R	S	S	S	R	S	S	S
12	R	S	S	S	S	S	S	S
13	R	S	S	S	S	S	S	S
14	R	S	S	S	S	S	S	S
15	R	S	S	S	R	S	S	S
16	R	S	S	S	S	S	S	S
17	R	S	S	S	S	S	S	S
18	R	S	S	S	S	S	S	S
19	R	S	S	S	S	S	S	S
20	R	S	S	S	S	S	R	S
21	R	S	S	S	R	S	S	S
22	R	R	S	S	S	S	S	S
23	R	S	S	S	S	S	S	S
24	R	S	S	S	S	S	S	S

P : Pénicilline ; OXA : Oxacilline ; FOX : Céfoxitine ; E : Erythromycine ; SXT : Triméthoprime+ sulfaméthoxasole ; ENR: enrofloxacin ; Te: Tétracycline ; Van : Vancomycine

Annexe n°7 : Détermination de la matière grasse

- Mode opératoire :

On introduit dans le butyromètre de GERBER ;

- 10 ml d'acide sulfurique
- 11ml de l'échantillon
- 1ml d'alcool isoamylique

On ferme le butyromètre à l'aide d'un bouchon, puis on mélange jusqu'à la dissolution totale du mélange. On centrifuge pendant 6 minutes à 1200 tours / min. Le résultat est exprimé en g/l et la lecture se fait directement sur le butyromètre.

Annexe n°8 : Dosage de l'acidité

- Mode opératoire :

- 10 ml de l'échantillon sont préparés dans un bêcher de 100 ml.
- on ajoute à la solution 0,3 ml de la solution de phénolphtaléine à 1% ;
- on titre avec la soude (NaOH N/9) jusqu'au virage au rose de la solution qui doit persister pendant une dizaine de secondes.

L'acidité est exprimée en degré Dornic (°D) et donnée par lecture directe du volume (ml) de soude versée.

Annexe n°9 : Dénombrement des germes totaux

- Mode opératoire :

On introduit 1ml de chaque dilution dans une boite de Pétri (deux boites de Pétri sontensemencées par dilution), puis on coule le milieu gélosé fondu au préalable au bain marie et maintenu à 45°C. Les boites sont incubées à 37°C pendant 48 heures.

Annexe n°10 : Dénombrement des psychrotrophes

- Mode opératoire :

On introduit 1 ml de chaque dilution dans une boite de Pétri (deux boites de Pétri sontensemencées par dilution), puis on verse environ 12 ml de gélose nutritive en surfusion 46-47°C. On mélange l'inoculum avec le milieu. On laisse solidifier puis on incube pendant 10 jours à une température située entre 5-7°C.

Annexe n°11 : Dénombrement des thermorésistants

- Mode opératoire :

- Homogénéiser l'échantillon à examiner par agitation pendant 10 secondes au moins.
- Déboucher aseptiquement le récipient.
- Prélever 10ml de lait et les transférer dans un tube à essai stérile reboucher.
- Plonger au $\frac{3}{4}$ le tube à essai dans un bain d'eau réglé à 63°C. Le lait doit être porté à 63°C pendant 30 minutes.
- Procéder immédiatement à l'immersion du tube dans un mélange d'eau et de glace afin de ramener la température du contenu à 10°C.

L'inoculation s'effectue de la même technique que celle utilisée pour le dénombrement de la flore aérobie milieu de culture et paramètres d'incubation.

Annexe n°12 : Test de Mac Kenzie

- Mode opératoire :

A partir des tubes positifs du test présomptif, on inocule l'öse dans :

- Un tube d'eau peptonée tamponnée exempte d'indole.
- Un tube de bouillon lactosé bilié au vert brillant muni d'une cloche de DURHAM.

Les tubes sont placés aussitôt dans une étuve réglée à 44°C pendant 48 heures.

- Lecture :

Si après incubation à 44°C pendant 48h, il y a production de gaz (BLBVB) et d'indole mis en évidence par addition de réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée avec lequel il donne un anneau rouge révélant une réaction positive, on peut soupçonner la présence d' *E. coli*.

Annexe n°13 : Dénombrement des streptocoques fécaux

a. Test de présomption

- Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe à raison de trois tubes par dilution.
- A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- Lecture :

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien. Aucun dénombrement n'est à faire à ce niveau.

b. Test de confirmation

Chaque tube de Rothe trouvé positif lors du test de présomption fera l'objet d'un repiquage à l'aide d'une öse dans un tube de milieu EVA Litsky. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait à 37°C, pendant 24 heures.

- Lecture :

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois un trouble microbien et une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

- Lecture finale :

Elle s'effectue selon les prescriptions de la table de MAC GRADY (annexe n°10), en tenant compte des tubes EVA positifs.

Annexe n°14 : Recherche des salmonelles

a. Pré-enrichissement :

Introduire 25 ml de lait dans 225 ml d'eau peptonée tamponnée préalablement stérilisée. La préparation est homogénéisée puis incubée à 37°C pendant 16 à 20 heures.

b. Enrichissement :

Introduire 10 ml du liquide pré-enrichi dans 100 ml de bouillon sélénite. Incuber 24 heures à 37°C.

c. Isolement sur gélose SS :

La flore secondaire Gram négatif est inhibée par le vert brillant et les sels biliaires contenus dans la bile de bœuf, alors que les coliformes sont plus ou moins inhibés par les fortes concentrations en thiosulfates et citrate.

En outre, le thiosulfate sert avec les ions de fer à mettre en évidence les colonies capables de former du sulfure par un noircissement de ces colonies. Le lactose agit comme composé réactionnel de la croissance éventuelle de coliformes, en provoquant par sa dégradation en acide, le virage de l'indicateur de pH, le rouge neutre.

Inoculation et incubation : on étale 0,1 ml de la solution enrichie à la surface de la boîte de Pétri contenant le milieu SS coulé préalablement.

-Lecture :

Les salmonelles et shigelles apparaissent incolores et transparentes de petite taille.

Annexe n°15 : Arrêté Algérien Interministériel du 24 janvier 1998.

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

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

Annexe 16 : Lecture De L'antibiogramme En Medecine Vétérinaire (Institut Pasteur Algérie, 2005).

Table de lecture : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp* chez toutes les espèces animales

Conditions du test :
Milieu : Gélose Mueller- Hinton ;
Inoculum : Colonies en suspension, 0,5 Mc Fariand
Incubation : 35°C, atmosphère ordinaire ; 18 à 24h.

Contrôle de qualité :
Staphylococcus aureus ATCC 25923
Staphylococcus aureus ATCC 29213 (Souche de référence pour les CMI)
Staphylococcus aureus ATCC 43300 souche MRSA

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
B- lactamines						
Amoxicilline+ac.clavulanique**	20/10µg	≤ 19	—	≥ 20	≥ 8/4	≤ 4/2
Penicilline	10 UI	≤ 28	---	≥ 29	β-lactamase	≤ 0,12
Oxacilline** - S.aureus	1 µg	≤ 10	11 – 12	≥ 13	≥ 4	≤ 2
- Staphylocoque coagulase négative***		≤ 17	---	≥ 18	≥ 0,5	≤ 0,25
Cefoxitine - S. aureus et S. lugdunensis	30µg	≤ 19	---	≥ 20		
- Staphylocoque à coagulase négative		≤ 24	---	≥ 25		
Cephalothine	30µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Aminosides						
Neomycine	30 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 64	≤ 16
Gentamicine****	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
Macrolides						
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	≤ 0,5
Tilmicosine	15 µg	≤ 10	11 – 13	≥ 14	≥ 32	≤ 8
Glycopeptides						
Vancomycine	30µg	---		≥ 15	≥ 32	≤ 4

* Performance standards for antimicrobial susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standards – Second Edition. CLSI: Document M31-A2-Vol.24 N°17 May 2004 et tableau extrait du Document M100 – S16. Vol. 26, n°3. 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement.

*** Incuber pendant 24h.

**** Autre que S. lugdunensis

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

** Antibiotique testé seulement pour la recherche de la β- lactamase.

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

Suite Table de lecture : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.* chez toutes les espèces animales

Conditions du test :

Milieu : Gélose Mueller- Hinton ;

Inoculum : Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland

Incubation : 35°C, atmosphère ordinaire ; 18 à 24h.

Contrôle de qualité :

Staphylococcus aureus ATCC25923

Staphylococcus aureus ATCC29213 (Souche de référence pour les CMI)

Staphylococcus aureus ATCC 43300 souche MRSA

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<u>Quinolones</u>						
Enrofloxacin	5 µg	≤ 16	17 – 22	≥ 23	≥ 4	≤ 0,5
<u>Tétracyclines :</u>						
Tétracycline	30 µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19	≥ 16	≤ 4
<u>Sulfamides :</u>						
Trimethoprim/sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75 µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	≤ 2/38

Annexe 17: Tables de Mac Grady (Cuq, 2007)

<i>2 tubes par dilution</i>		<i>3 tubes par dilution</i>					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

<i>5 tubes par dilution</i>							
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0
120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0
121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0