



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie

THEME

Contrôle de la qualité microbiologique d'un lait pasteurisé
et un lait U.H.T. selon la durée de conservation

Présenté Par :

M^{elle} : GUITOUBI Imane

M^{elle} : TAMER Hana

Devant le jury Composé de :

Président : GHANIA Ahmed

M.A.A, Université d'El Oued.

Examineur : Dr. MEDJOUR Abd elhak

M.A.A, Université d'El Oued.

Promoteur : Dr. SALMI Said

M.A.A, Université d'El Oued.

Co-encadreur : Dr, TOUHAMI Omar

M.A.A, Université d'El Oued.

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Nous rendons grâce à Allah, le Clément, le tout Miséricordieux, pour la Chance qui nous somme donnée pour poursuivre nos études, et pour la volonté, la patience et le courage qu'il a donné pour nous pour bien mener ce travail

Mes parents, pour leur soutien constant et leurs encouragements.

Nous remercions Dr. Salmi said qui a acceptée de nous encadrer et de nous soutenir tout au long de la réalisation de ce travail.

*Nous souhaitons également remercier les membres du jury pour avoir
Accepté d'évaluer ce travail*

Vous voudrions dans un premier temps remercier, Dr. BOURASE Biya pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire :

Mon maître et professeur, Dr, TOUHAMI Omar qui m'a beaucoup appris sur les défis à relever. IL a partagé ses connaissances et expériences dans ce milieu, tout en 'accordant se confiance et une large indépendance dans l'exécution de missions valorisantes et pour avoir relu et corrigé mon mémoire. Ses conseils de rédaction ont été très précieux,

Vous remercier pour tout ce que nous avons apporté tout au long de nos études . Mon oncle Karoui et pour Tout ce que nous avons apporté tout au long de nos études

Tous mes enseignants.

Mes sincère remerciements s'adressent au personnel du laboratoire.

*Microbiologique CHIHABI pour leur Patience et leurs précieuses aides, pendant la réalisation de ce travail. En particulier à Mr, MOUAOUIA Lacheheb
Vous remerciez d'avoir enrichi nos connaissances et de nous avoir guidés
durant toute*

la période du stage et nous avons grandement apprécié votre soutien, votre implication et votre expérience.

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

Dédicaces

En ce jour solennel qui mémorise la fin de mes études, je dédie cemémoire symbole d'une ardente attente: Aux êtres les plus chers à mon coeur dans ce monde, mes parents en hommage à leurs sacrifices. Je leur demande de me pardonner pour tous les soucis que je leur ai causés. Que Dieu leur donne santé et longue vie. A celle qui a sacrifié tout ce qu'elle a de cher pour me prodiguer une éducation, un soutien, une assistance et un encouragement pour enfin devenir ce que je suis maintenant. Dieu merci, tout simplement la plus grande de ses fiertés. A celui qui m'a toujours soutenu moralement et matériellement au cours de Mes études, notamment au cours de mes moments difficiles, à qui j'éprouve toujours un profond respect.

Mon adorable père

Qui peut être fier de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Je le remercie d'être pour moi un exemple de persévérance, de foi en l'avenir, et d'ambition..

A mes chers frères

Ali et Mohamed je demande a dieu de vous protège et je vous voir dans les plus haut rangs

A mes adorables sœurs

A qui je tiens énormément pour vos grands cœurs et vos générosités. Que le grand dieu vous offre un avenir plein de réussite et de bonheur.

A mes chères amies

*En souvenir des moments agréables passés ensemble, Merci pour les bons Moments qu'on a passé ensemble, de votre soutien et de votre serviabilité
A ma magnifique binôme **Hana** je vous souhaite santé et bien-être pour la vie
A tous ceux qui ont croisé de près ou de loin mon chemin et qui m'ont
Permis d'arriver là où je suis.*

Imane

Résumé

Le lait est un produit fragile, susceptible d'être altéré par de nombreuses réactions chimiques, biochimiques et microbiologique, s'il n'est pas bien conservé.

L'objectif étude réalisée de Mars au Mia 2021, était de savoir si ces laits peuvent se conserver sans se détériorer nous avons contrôlé qualité microbiologique de deux types du lait (pasteurisé et U.H.T.) selon leurs durées de conservation à 4°C et à température ambiante. L'analyse bactériologique a porté sur FTAM, coliformes totaux, Salmonella et Staphylococcus aureus.

D'après les résultats obtenus conforme selon l'arrête (UFC/ml) (**JORA N° 39,2017**), le lait pasteurisé conservé à température ambiante et à 4°C présente un taux de contamination élevé en FTAM et coliformes totaux et dans le lait U.H.T. conservé à température ambiante et à 4°C présente une contamination très faible de FTAM et élevé pour les coliformes totaux.

Tous les échantillons de lait analysés (Pasteurisé et U.H.T.) sont exemptés de flore pathogène (Salmonella et Staphylococcus aureus).

Ces résultats reflètent le mauvais traitement de stérilisation et de pasteurisation qui rendent le lait instable même au cours de conservation

Mots clés : Qualité microbiologique, Lait Pasteurisé lait U.H.T., température, durée de conservation.

ملخص

الحليب منتج هش، عرضة للتغيير من خلال العديد من التفاعلات الكيميائية والبيوكيميائية والميكروبيولوجية، إذا لم يتم تخزينه بشكل جيد كان الهدف من الدراسة، التي أجريت في الفترة من مارس إلى مايو 2021، هو معرفة ما إذا كان يمكن تخزين هذا الحليب دون إفساد.

قمنا بمراقبة الجودة الميكروبيولوجية لنوعين من الحليب (المبستر و UH.T). وفقاً لأوقات تخزينهم عند 4 درجات مئوية وفي درجة حرارة الغرفة. ركز التحليل البكتريولوجي على FTAM، والقولون الكلي السالمونيلا والمكورات العنقودية الذهبية

وفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها وفقاً للمعيار (UFC / ml) (JORAN39,2017)، فإن الحليب المبستر المخزن في درجة حرارة الغرفة وعند 4 درجات مئوية له معدل تلوث مرتفع في FTAM والكوليفورم الكلي

وفي الحليب UHT المخزن في درجة حرارة الغرفة وعند 4 درجات مئوية، يظهر تلوث تقريبا معدوم لـ FTAM ومرتفع في إجمالي القولونيات. جميع عينات الحليب التي تم تحليلها (المبستر و UH.T) خالية من البكتيريا الممرضة (السالمونيلا والمكورات العنقودية الذهبية).

تعكس هذه النتائج ضعف معالجات التعقيم والبسترة التي تجعل الحليب غير مستقر حتى أثناء التخزين.

الكلمات المفتاحية: الجودة الميكروبيولوجية، الحليب المبستر، الحليب المعقم، درجة الحرارة عالية، درجة الحرارة، مدة الحفظ

Summary

Milk is a fragile product, liable to be altered by numerous chemicals, biochemical and microbiological reactions, if it is not stored well

The objective of the study, carried out from March to May 2021, was to find out if these milks can be stored without spoiling.

We controlled the microbiological quality of two types of milk (pasteurized and U.H.T.) according to their storage times at 4 ° C and at room temperature. Bacteriological analysis focused on FTAM, total coliforms Salmonella and Staphylococcus aureus

According to the results obtained according to the standard (UFC / ml) (JORAn39,2017), pasteurized milk stored at room temperature and at 4 ° C has a high contamination rate in FTAM and total coliforms and in UHT milk stored at room temperature and at 4 ° C shows a very low contamination of FTAM and high for total coliforms.

All the milk samples analyzed (Pasteurized and U.H.T.) are free from pathogenic flora (Salmonella and Staphylococcus aureus).

These results reflect the poor sterilization and pasteurization treatments which make the milk unstable even during storage.

Keywords: microbiological quality, Pasteurized milk, U.H.T. milk, temperature, shelf life.

Liste des Figures

Figure N°1: Technique de préparation des dilutions décimales successives.	24
Figure N°2 : Dénombrement des flore totale aérobie mésophile	25
Figure N°3 : Dénombrement les coliformes totaux.....	26
Figure N°4 : dénombrement des staphylocoques aureus.....	27
Figure N°5 : Dénombrement des salmonelles	28
Figure N°6 : Dénombrement des levures et des moisissures	29
Figure N°7: Résultats de dénombrement de la FTAM dans les quatre échantillons du lait.....	32
Figure N°8: Résultats de dénombrement de la des coliformes totaux dans les échantillons du lait étudiés.	33
Figure N°9: Résultats de dénombrement des levures dans les quatre échantillons du lait.....	35

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition du lait : (Charles <i>et al.</i> , 2003)	5
Tableau 02. Composition en lipides de lait de vache (CHILLIARD, 1996).....	6
Tableau 03 : Composition minérale du lait de vache : (JEANTET <i>et al.</i> , 2007).	7
Tableau 04: Teneur moyenne des principales vitamines du lait (Vignola, 2002).	8
Tableau 05: Constantes physiques usuelles du lait de vache (Luquet, 1985).....	9
Tableau 06 : Contaminants et sources de contamination bactérienne du lait(Frank et Hassan, 2002).....	12
Tableau 07 : conditions de cultures des groupes bactériens susceptibles de se développer dans le lait.	25
Tableau 08 Résultats de l’analyse microbiologique des échantillons des deux types du lait analysés.....	31
Tableau 09 : résultats de dénombrement de la FTAM dans le lait pasteurisé et U.H.T.....	31
Tableau 10 : résultats de dénombrement des coliformes totaux dans le lait pasteurisé et U.H.T	33
Tableau 11 : résultats de dénombrement des levures dans les quatre échantillons du lait.	35

Liste d'abréviations

%	pour cent
°C	degré Celsius
AFNOR	Association Française de NORmalisation
°D	Degré Dornic
DDM	Date de Durabilité Minimum
DLC	Date Limite de Consommation.
DLUO	Date Limite Utilisation Optimale
Exp	Exemple
FAO	Food and Agriculture Organization
FTAM	Flore Totale Aérobie Mésophile
GC	Giolitti Cantoni
ISO	Organisation Internationale de Normalisation
J.O.R.A.	Journal Officiel de la République Algérienne
Kcal	Kilo Calorie
MRS	Man, Rogosa, Sharpe
NA	Norme Algérienne
NF	Norme Française
PCA	Plate Count Agar
pH	Le potentiel Hydrogène
T°	Températeur
CF	Coliformes Fécaux
MG	Matière Grasse
UFC	Unité Formant Colonie
H	Heur
MK	Muller Kauffmann
SC	sélénite-cystine
U.H.T.	Ultra Haute Température
VRBG	Violet cristal Rouge neutre Bile Glucosée

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des Figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviations

Sommaire

Introduction 1

Synthese bibliographique

I. Généralités sur le lait	5
I.1. Définitions du lait :	5
I.2. Composition du lait :	5
I.3. Propriétés physiques et chimiques :	8
I.3.1 Propriétés physiques :	8
I.4. Importance Nutritionnelle :	9
I.5. La qualité du lait :	10
I.5.1. Qualité organoleptique :	10
I.5.2. Qualité microbiologique :	11
I.6. Action de la flore du lait :	13
I.7. Les Facteurs de variations sur la production et la composition du lait.....	13
II. Consommation du lait :	15
II.1. Lait pasteurisé.....	15
II.2. Lait stérilisé :	16
III. Contrôle de la qualité microbiologique du lait :	18
III.1. La qualité du lait pasteurisé :	18
III.1.1. Les Germes aérobies à 30 °C (ou flore totale) :	18
III.1.2. Les coliformes :	18
III.1.3. Les Salmonelles :	19
III.2. La qualité du lait U.H.T:	19
III.2.1. Les Germes aérobies à 30 °C :	19

Partie Pratique 20

Chapitr I : Matériel et méthode 21

 I. Matériel et méthode..... 22

Sommaire

I.1 Matériel.....	22
I.2. Méthode	22
I.3. Les analyses microbiologiques du lait.....	25
I.3.1. La recherche de la flore totale aérobie mésophile.....	25
I.3.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux :	26
I.3.3. Recherche et dénombrement des staphylocoques :	26
I.3.4. Recherche et dénombrement des salmonelles : (Méthode selon JO. N°70 de 7/11/2004).....	27
I.3.5. Recherche et dénombrement des levures et des moisissures	28
Chapitr II: Résultats et Discussion	30
II. Germes rencontrés dans les échantillons du lait	31
II.1. Flore mésophile aérobie totale (FTAM).....	31
II.1.1. Les coliformes	33
II.1.3. Les salmonelles :.....	34
II.1.4. Les staphylocoques.....	34
II.1.5. Les levures et moisissures :	35
conclusion	37
Références bibliographiques.....	39
Annexes	

Introduction

Introduction

Le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, en regard de son contenu en énergie, le lait présente une forte Concentration en nutriments de base : des protéines de bonne qualité, des glucides, des lipides, des éléments minéraux et des vitamines avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/l (**SIBOUKEUR, 2007**). Ainsi, les laits sécrétés par les différentes espèces de mammifères présentent des caractéristiques communes et contiennent les mêmes critères de composants : eau, protéines, lactose, matière grasse et matières minérales. Malgré cela, les proportions spécifiques de ces composants se varient largement d'une espèce à l'autre (**CODOU, 1997**).

L'Algérie est le premier consommateur du 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, la filière du 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**)

S'il y a un domaine où le contrôle de la qualité est une nécessité fondamentale, c'est bien celui des denrées alimentaires en générale et du lait en particulier. D'une part de la place importante qu'il occupe dans la consommation humaine, en particulier dans la société algérienne, et d'autre part sa composition riche en différents composés chimiques qui lui confèrent d'être un produit périssable et d'être un milieu favorable de prolifération de différents germes y compris les germes pathogènes. Le lait peut présenter un risque sur la santé du consommateur qui est le premier objet mis en considération lors de la production de n'importe quel produit (**El-hadi et al.,2015**)

Le but d'assainir le lait et afin de satisfaire les besoins de consommation dans des conditions de sécurité, qui recherche un lait ayant une période de conservation plus longue, mieux adaptée à ses besoins et préservant son goût et sa présentation usuelle, on soumet le lait cru reconstitué ou recombinaison à des traitements thermiques détruisant, selon le cas, partiellement ou complètement la flore microbienne. Les laits commercialisés (Pasteurisé et stérilisé U.H.T. (ultra Haute température) deviennent parfois impropres à la consommation à cause des altérations, sous l'effet de plusieurs facteurs, telle que la température de stockage qui peut réduire la valeur nutritionnelle, et ainsi influencer la qualité microbiologique et physico-chimique du produit (**El-hadi et al., 2015**).

Notre Travail consiste à contrôler la qualité microbiologique de deux types de lait selon leurs durées de conservation, un lait pasteurisé et un lait stérilisé U.H.T.

L'étude de leur stabilité pendant leur durée de conservation respectivement à deux températures 4 °C et 25 °C (température ambiante). Notre étude microbiologique portera sur le dénombrement des germes témoins de défaut. D'hygiène : flore totale, coliformes totaux, ainsi que la recherche des germes Pathogènes : Salmonella, les staphylocoques

Ce travail va diviser en deux parties ; la première présentation des informations bibliographie basées sur le lait, leur composition, leur Propriétés physiques et chimiques, la qualité du lait, importance nutritionnelle et Consommation du lait deuxième est sacrifiée pour les différentes méthodes expérimentales utilisé dans notre travail et en termine par la présentation des résultat obtenus avec les différentes interprétations et en fin conclusion

Synthese bibliographique

I. Généralités sur le lait

I.1. Définitions du lait :

Le congrès international de la répression des fraudes en 1909 a défini le lait destiné à la consommation comme étant : "le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée et être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrums (Veisseyre, 1979).

En 1983, La Fédération Internationale de Laiteries (F.I.L.) définit ainsi le lait comme étant "le produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction." (Goursaud, 1985)

La dénomination « lait » est réservée exclusivement aux produits de la sécrétion mammaire normale, obtenus par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (JORA N°69,1993).

I.2. Composition du lait :

Le lait est un substrat très riche fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un Aliment presque complet. Protides, glucides, lipides, sels minéraux et vitamines sont présents à des concentrations tout à fait satisfaisantes pour la croissance et la multiplication cellulaire (Bourgeois et al., 1996)

Tableau 01 : Composition du lait : (Charles *et al.*, 2003)

	Composition (g/l)	Etat physique de composants
Eau	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3.7 %)
Glucides (lactose)	49	Solution
Lipides	35	Emulsion globules gras (3 à 5µm)
-Matière Grasse Proprement Dite	34	
-Lécithine (phospholipides)	0.5	
-Insaponifiable (stérol ; carotène ; tocophérols)	0.5	
Protide	34	Suspension micellaire
Caséine	27	Phosphocaséinate de calcium (0.08 à 0.12µm)
Protéine < soluble > (globulines ; albumines)	2.5 1.5	Solution (colloïdale) Solution (varie)
Substances azotées non protéine		
Sels	9	Solution ou état colloïdale

De acide citrique (en acide)	2 2.7	
De acide phosphorique (P ₂ O ₃)		
De acide chlorhydrique (Na cl)	1.7	
Constituants divers: (vitamine; enzyme; gaz dissous)	Traces	
Extrait sec total:	127	
Extrait sec non gras	92	

I.2.1. Eau :

C'est, en termes de quantité, l'élément principal. Les autres éléments constituent la Matière sèche du lait (**Perreau, 2014**)

I.2.2. Matière grasse laitière :

La matière grasse proprement dite, ou lipides neutres, constitués de glycérides ou Acylglycérols, qui est très prédominant : 98 %. Elle est solide à température ambiante (c'est une graisse.) ; elle est presque entièrement libre, et se trouve en fines dispersions dans les globules gras. Les lipides polaires sont surtout des phospholipides ; ils ne forment que 1 % du total. Ils sont principalement sous forme liée dans la membrane globulaire ; Les lipoïdes insaponifiables, insolubles dans l'eau, mais de nature très différente, Constitue le reste. Ils rassemblent principalement les carotènes et les stérols, qui Comprennent les vitamines A et D (**Charles et al ., 2003**).

Tableau 02. Composition en lipides de lait de vache (**CHILLIARD, 1996**).

composition (%)	Lait de vache
Triglycérides	98
Glycérides partielles	0.5
Cholestérol	0.3
Phospholipides	0.9
Acides gras libres	0.4

I.2.3. Les protéines :

Le lait de vache contient 3,2 à 3,5 % (p/p) de protéines réparties en deux fractions. Distinctes :

- Les caséines qui précipitent à pH 4,6, représentent 80 % des protéines total.
- Les protéines sériques, solubles à pH 4,6, représentent 20 % des protéines totales (**Jeantet et al., 2007**)

I.2.4. Caséines

Les caséines forment près de 80 % de toutes les protéines présentes dans le lait ; leur point isoélectrique moyen est de 4.65. L'élucidation de la structure tridimensionnelle permet d'affirmer que les caséines se regroupent sous forme sphérique appelée micelle. La taille des micelles se situe entre 100 et 500 nm, avec un diamètre moyen près de 180 nm, et elle varie principalement selon l'espèce animale, la saison, le stade de lactation. (Vignola, 2002)

I.2.6. Matière minérale :

Selon Gaucheron (2004), le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions.

Tableau 03 : Composition minérale du lait de vache : (JEANTET et al., 2007).

Eléments minéraux	Concentration (mg.kg ⁻¹)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

I.2.7. Les vitamines :

Le lait a d'assez fortes teneurs en vitamines. Il contient non seulement des vitamines liposolubles (A, D, E, K), mais aussi des vitamines du groupe B. Il a en revanche une très faible teneur en vitamine C (Perreau, 2014)

Tableau 04: Teneur moyenne des principales vitamines du lait (Vignola, 2002).

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamine liposoluble :	
Vitamines A (+ carotènes)	40µg/100 ml
Vitamine D	2,4µg/100 ml
Vitamine E	100µg/100 ml
Vitamine K	5µg/100 ml
Vitamine hydrosolubles :	
Vitamine C (acide ascorbique)	2 mg/100 ml
Vitamine B1 (thiamine)	45 µg/100 ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100 ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100 ml
Vitamine B12(cyanocobalamine)	0,45µg/100 ml
Niacine et niacinamide	90 µg/100 ml
Acide pantothénique	350 µg/100 ml
Acide folique	5,5 µg/100 ml
Vitamine H (biotine)	3,5µg/100 ml

I.2.8. Les enzymes :

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les Déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température. En effet, chaque enzyme possède un pH et une température d'activité maximale (Amiot et al., 2002).

I.3. Propriétés physiques et chimiques :

I.3.1 Propriétés physiques :

La composition du lait est très complexe, de point de vue physique, le lait présente une hétérogénéité, puisque certains composants sont dominants quantitativement, comme l'eau, la matière grasse, les protéines et le lactose ; et des composés mineurs qui sont les matières minérales, les enzymes et les vitamines. Les propriétés physiques comme la densité absolue, la viscosité, la tension Superficielle et la chaleur spécifique dépendent de l'ensemble des constituants (Mathieu, 1998)

Tableau 05: Constantes physiques usuelles du lait de vache (**Luquet, 1985**).

Constantes	Valeurs
Ph(20 °C)	6.5 á 6.7
Acidité titrable (°D)	15 á 18
Densité	1.028 á 1.036
Température de congélation (°C)	(-0.51) á (-0.55)
Point d ébullition	100.5

1.Ph :

Le Ph du lait de vache fraîchement trait se situe un peu en dessous de la neutralité, un faible changement du Ph du côté acide a des effets importants sur l'équilibre des minéraux et sur la stabilité de la suspension colloïdale de caséine (**Alais et Linden, 1997**).

2. Acidité :

L'acidité naturelle est principalement due à la présence de protéines, surtout les caséines et la lactalbumine, de substance minérale tels que les phosphates, CO₂, et acides organiques le plus souvent l'acide citrique (**Amiot et al., 2002**), l'acidité est exprimée en degrés DORNIC c'est-à-dire en décigrammes d'acide lactique par litre. (**Veisseyre, 1979**) Sous l'effet des bactéries lactiques, la teneur en acide lactique augmente et donne une Nouvelle acidité nommée acidité développée.

3. Densité :

La densité du lait est également liée à sa richesse en matière sèche, un lait pauvre en matière sèche aura une densité faible (**Goursoud, 1985**). Elle dépend aussi de leur degré d'hydratation, notamment en ce qui concerne les protéines. A 15 °C, la densité du lait de mélange se situe entre 1.030 et 1.035 avec une moyenne de 1.032 (**Hardy, 1987**). Plus un lait contient un pourcentage élevé en matière grasse, plus sa densité sera basse. (**Amiot et al., 2002**)

I.4. Importance Nutritionnelle :

Le lait joue, un rôle très important dans l'alimentation Humaine, tant au point de vue calorique que nutritionnel. Un litre de lait correspond à une valeur d'environ 750 Kcal facilement utilisables. Comparativement, aux autres aliments, il constitue un élément de haute valeur nutritionnelle. L'intérêt alimentaire du lait est :

- ✓ Une source de protides d'excellente valeur biologique

- ✓ La principale source de calcium
- ✓ Une source de matière grasse
- ✓ Une bonne source de vitamines (**Leroy, 1965**)

Le lait est également une excellente source de minéraux intervenant dans divers métabolismes Humains notamment comme cofacteurs et régulateurs d'enzymes. Le lait assure aussi un apport non-négligeable en vitamines connues comme Vitamines A, D, E (liposolubles) et Vitamines B1, B2, B3 (hydrosolubles). Il est néanmoins pauvre en fer et en cuivre et il est dépourvu de fibres. (**Cheftel et Cheftel, 1996**)

La haute qualité nutritionnelle des protéines du lait repose sur leur forte digestibilité et leurs compositions particulièrement bien équilibrée en acides aminés indispensables. Pour le nouveau-né, les protéines du lait constituent une source protéique adaptée aux besoins de croissance durant la période néonatale (**Derby, 2001**)

I.5. La qualité du lait :

I.5.1. Qualité organoleptique :

La qualité organoleptique englobe les caractéristiques : couleur, odeur, saveur et flaveur (**Fredot ,2005**).

1. La couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse (**Fredot ,2005**).

2. L'odeur

L'odeur est une caractéristique du lait du fait de la matière grasse qu'il contient, fixe des odeurs de l'animale. Elles sont liées à l'ambiance de la traite et à l'alimentation. Au cours de la conservation, le lait est caractérisé par une odeur aigre due à l'acidification par l'acide lactique (**Vierling 2003**)

3.La saveur

Le lait a une saveur légèrement sucrée due à la présence d'un taux de lactose. (**Vierling, 1998**)

4. La flaveur

Résulte d'un équilibre subtil entre de multiples composés : acides, alcools, ester, amines, composés carbonyles et soufré ...etc. En interaction avec une matière lipidique et protéique (Vierling, 1998)

I.5.2. Qualité microbiologique :

Le lait, même provenant d'une traite effectuée dans des conditions de propreté et d'hygiène normale, renferme de nombreux germes dont le développement rapide est assuré par sa température à la sortie de la mamelle (35 °C) ainsi que par sa richesse en eau et en glucides (Fredoit, 2006). Les microorganismes du lait sont répartis selon leur importance en deux grandes classes : la flore indigène ou originale et la flore de contamination, cette dernière est subdivisée en deux classes : la flore d'altération et la flore pathogène (Vignola, 2002)

1. Flore indigène

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10³ germes/ml) (Guiraud, 1998). Cette flore se définit comme l'ensemble des microorganismes qui se retrouvent dans le lait à la sortie du pis, il devrait contenir moins de 5 000 UFC/ml, les principales flores sont Micrococcus 30-90%, Lactobacillus 10-30%, Streptococcus et Lactococcus < 10 (Vignola, 2002).

2. Flore de contamination

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes dans le lait de la récolte jusqu'à la consommation. Elle se compose d'une flore d'altération et d'une flore pathogène. (Lamontagne, 2002)

A/ Flore d'altération

Elles sont des espèces bactériennes du lait cru capables de dégrader le lactose, les protéines ou les lipides de cette matière première (Richard, 1987). Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont pseudomonas sp, proteus sp, les coliformes, soit principalement, escherichia et enterobacter, les bacillus sp, et clostridium,

certaines levures et moisissures, ils causeront des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et peuvent réduire la vie de tablette du produit laitier (Lamontagne, 2002)

B/ Flore pathogène

La présence de microorganismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources: l'animal, l'environnement et l'homme (**Andelot, 1983**). Les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella* sp. *Staphylococcus aureus*, **Brucella** sp. *Mycobacterium tuberculosis*, *Clostridium Botulinum* et *Clostridiumperfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei*, *Brucella abortis* (**Lambien et German, 1961**)

NB : certaines moisissures qui sont pour la plupart toxigènes, c'est-à-dire qu'elles produisent une toxine dans le produit alimentaire, c'est pour cette raison qu'il faut jeter tout aliment moisi, car la toxine diffusée dans l'aliment sera source de danger pour la santé. Ces derniers sont des micro-organismes ayant absolument besoin d'oxygène pour se développer. C'est pourquoi on les retrouve principalement à la surface des produits laitiers ou dans les canaux des fromages bleus. (**Abdelmalek et Gibson, 1952**)

Même si les levures ne sont pas pathogènes, la dégradation d'aliment causée par ces microorganismes peut être un indice de mauvaises pratiques de fabrication mal contrôlées. (**Abdelmalek et Gibson, 1952**)

Tableau 06 : Contaminants et sources de contamination bactérienne du lait(**Frank et Hassan, 2002**).

Sources	Genres
Personnel	<i>Coliformes, Salmonella, Enterococcus, Staphylococcus</i>
Air	<i>Streptococcus, Micrococcus, Corynebacterium, Bacillus</i> , levures et moisissures
Intérieur du pis	<i>Streptococcus, Micrococcus, Corynebacterium</i>
Extérieur du pis	<i>Micrococcus, Staphylococcus, Enterococcus, Bacillus</i>
Fèces	<i>Escherichia, Staphylococcus, Listeria, Mycobacterium, Salmonella</i>
Appareil de traite	<i>Micrococcus, Streptococcus, Bacillus</i> , coliformes
Litière	<i>Clostridium, Bacillus, Klebsiella</i>
Sol	<i>Clostridium, Bacillus, Pseudomonas, Mycobacterium</i> , levures et moisissures
Alimentation	<i>Clostridium, Listeria, Bacillus</i> , bactéries lactiques
Eau	Coliformes, <i>Pseudomonas, Corynebacterium, Alcaligenes</i>

I.6. Action de la flore du lait :

I.6.1. Aspect sanitaire

Des germes pathogènes peuvent être responsables des maladies ou intoxications. Graves généralement limitées par la surveillance vétérinaire des animaux producteurs (**Guiraud, 1998**). Les fièvres thyroïdes ou para-thyroïdes peuvent être provoquées par les entéropathogènes Salmonella, des toxi-infections ou intoxication par les Staphylocoques, le cas de dysenterie par Shigella, d'intoxication par les Escherichia coli... Etc Le danger potentiel étant considérable, les traitements appliqués au lait seront calculés de façon à éliminer tout risque (**Guiraud, 2003**).

I.6.2. Aspect qualitatif

De nombreux micro-organismes peuvent se développer abondamment dans le lait entraînant par leur action des modifications de texture et de goût, ces altérations vont dépendre des conditions de stockage du lait (aération, température) et des traitements qu'il subit (**Brisabois, 2000**).

I.7. Les Facteurs de variations sur la production et la composition du lait

I.7.1. Les facteurs intrinsèques

D'après **POUGHEON et GOURSAUD (2001)**, il existe indéniablement des variabilités de composition entre les espèces et les races, mais les études de comparaison ne sont pas faciles à mener, car les écarts obtenus lors des contrôles laitiers sont la combinaison des différences génétiques et des conditions d'élevage. Généralement, les races les plus laitières présentent un plus faible taux de matières grasses et protéiques, or le choix d'une race repose sur un bilan économique global. C'est pourquoi un éleveur a tendance à privilégier les races qui produisent un lait de composition élevée. Il existe ainsi une variabilité génétique intra-race élevée, c'est pourquoi une sélection peut apporter un progrès.

1-Le stade de lactation

L'évolution des principaux composants du lait est inversée par rapport à l'évolution de la quantité produite durant toute la période de lactation. Les teneurs en matière grasse et protéines sont maximales au cours des premiers jours de lactation, minimales durant le deuxième et le troisième mois de lactation et s'accroissent ensuite jusqu'à la fin de lactation avec une diminution de la production laitière (**Cond et al., 1968, Goursaud, 1985**).

- ✓ **Age :** Le niveau de production augmente avec l'âge jusqu'à la quatrième lactation, « La régulation de la sécrétion lactée au cours de la vie productive de l'animal » ; cette

progression est surtout notable pour le début de lactation. En revanche, la persistance devient moins bonne quand les vaches vieillissent. (**Perreau, 2014**)

- ✓ **Etat sanitaire** : Les stress et les lésions du pis, provoquant une rétention lactée, peuvent modifier la composition chimique du lait. La première conséquence de la mammite est la diminution de la quantité de lait produite. Une mammite provoque également une modification de l'aspect du lait et de sa composition chimique. Plus la mammite est grave, plus la composition du lait se rapproche de celle du plasma sanguin. La mamelle lésée se comporte comme un organe d'élimination : il y a diminution des molécules élaborées et augmentation des molécules filtrées (**Meyer et Denis, 1999**)

I.7.2. Les facteurs extrinsèques :

1. L'alimentation

La production et la composition du lait sont directement influencées par la quantité et la qualité de l'alimentation (**Meyer et Denis, 1999**). Une sous-alimentation des vaches laitières, entraîne une diminution de la production laitière, du taux protéique et une augmentation du taux butyreux (Bamouh, **2006**). Au contraire, une suralimentation peut induire à un excès d'engraissement des vaches. En effet, les vaches trop grasses sont plus sujettes à différentes infections bactériennes notamment les mammites. Ces dernières ont un effet néfaste sur la production ainsi que sur la qualité du lait (**Beth, 1996**). On sait que le taux protéique augmente de manière linéaire avec les apports. Énergétiques, mais lorsque l'augmentation de ces apports est réalisée par adjonction de matière grasse, on assiste à une chute du taux protéique. Par ailleurs, le taux protéique dépend aussi de la couverture des besoins en acides aminés indispensables, lysine et méthionine en particulier. (**Remond, 1978**)

2. La traite

La traite est une opération qui consiste à extraire le lait contenue dans la mamelle, c'est une opération essentielle qui assure à la fois le maintien de la bonne santé de la mamelle, la qualité et la quantité du lait obtenu (**Goursaud, 1985**). La traite influe sur la quantité, au travers de:

- Sa fréquence : trois traites par jour augmentent les quantités produites par animal alors que le mono trait les réduit (l'effet sur la pression intra-mammaire pendant l'intervalle sépare deux traites.) ; à l'inverse, la suppression d'une traite par semaine, même bien gérée, a un léger impact négatif à ce niveau.
- La qualité de son déroulement (préparation, ambiance dans laquelle elle se déroule) ; l'effet trayeur » est reconnu unanimement (**Perreau, 2014**).

3. Le logement des animaux :

Les principaux éléments sont :

- ✓ L'indépendance des circuits (lait, déjection, animaux, aliments) ;
- ✓ L'espace par animal suffisant pour limiter le salissement (respect des surfaces minimales conseillées) ;
- ✓ La propreté du bâtiment :
 - Paillage fréquent et suffisant
 - Curage des aires d'exercice fréquent,
 - Pas de travail de curage ou d'alimentation pendant la traite en salle de traite ou juste avant en étable entravée ;
- ✓ La propreté des abreuvoirs ;
- ✓ Stabiliser les chemins de retour des pâturages vers la salle de traite (**Perreau, 2014**)

II. Consommation du lait :

Le lait joue un rôle essentiel dans notre régime alimentaire quotidien à cause de sa consommation en grande quantité sous forme de lait de consommation, de produits laitiers variés et dans les préparations diverses. (Conserves, crèmes glacées, ...Etc) (**Cayot et Lorient, 1998**)

II.1. Lait pasteurisé

Le lait pasteurisé est le produit le plus consommé du fait que le produit fini. Conserve toutes les propriétés nutritionnelles du lait cru. Qui, autrefois, étaient surtout des bouteilles en verre alors qu'aujourd'hui, il s'agit le plus souvent de récipients en carton ou en plastique de formes diverses. Qui, autrefois, étaient surtout des bouteilles en verre alors qu'aujourd'hui, il s'agit le plus souvent de récipients en carton ou en plastique de formes diverses. Bien entendu, ces matériaux doivent être de qualité alimentaire afin de ne pas altérer le produit (**Dupin et al., 1992**). La pasteurisation est un procédé consistant à chauffer du lait cru pendant quelques minutes ou secondes à une température la plus basse possible, entre 63 et 95 °C, puis à le refroidir à 4 °C de manière à (**revue laitière française**):

Détruire les germes nocifs qui pourraient être présents dans le lait,

- réduire le nombre de microorganismes nullement dangereux pour la santé, mais Susceptibles de nuire à la bonne conservation du produit,
- conserver par le froid les qualités du produit.

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

- Pasteurisation basse (62- 65 °C/30min): elle n'est réalisable qu'en batch et est Abandonnée en laiterie.

- Pasteurisation haute (71-72°C/15-40s) ou HTST (High température short Time): elle est réservée aux laits de bonne qualité hygiénique. Au plan organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets. Au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite par contre la peroxydase reste active et les taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines sont faibles. La date limite de consommation (DLC) des laits ayant subi une pasteurisation haute est 7 jours après conditionnement (bouteille en verre ou en carton, polyéthylène ou aluminium).

- Flash pasteurisation (85-90°C/1-2s): elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne; la phosphatase et la peroxydase sont détruites.

II.1.1. Conservation du lait pasteurisé

Le lait pasteurisé à une durée de conservation beaucoup plus courte. Il peut se conserver de 7 à 10 jours après pasteurisation pour la pasteurisation classique et de 15 à 20 jours pour la haute pasteurisation. Une fois ouvert, il ne doit pas être gardé plus de 48 h. (IPLC, 2015)

II.2. Lait stérilisé :

Selon le procédé de stérilisation, on distingue le lait stérilisé et le lait U.H.T définis en 1979. Ces laits doivent être stables jusqu'à la date limite de consommation.

1- Lait stérilisé

Le lait stérilisé est obtenu après 20 minutes de chauffage à 120 °C dans un emballage Étanche (Guiraud, 1998). Conditionné dans un récipient hermétiquement clos, étanche au liquide et au micro-organisme pathogènes (Leseur & Melik, 1990), il peut se conserver très Longtemps à température ambiante (Guiraud, 2003).

2- Lait U.H.T. (ultra haute température)

C'est un lait ayant subi une pasteurisation particulière, soit un traitement thermique à des températures très élevés ou ultra haute température (U.H.T). La stérilisation

U.H.T détruit tout les organismes présents dans le lait, tout en laissant presque intacte la plupart des éléments nutritifs, seule la vitamine C subit une diminution mais le lait n'est pas considéré comme une source de vitamine C. La saveur du lait UHT ne fait pas l'unanimité chez les consommateurs, car on peut lui trouver une légère saveur de « lait cuit». Le lait UHT est conditionné dans des contenants aseptiques scellés, il peut se conserver dans son emballage à la température de la pièce pendant 3 mois, mais une fois l'emballage

ouvert, on doit le consommer dans les jours suivants, car il est plus vulnérable au développement de germes.

3- Stérilisation à ultra-haute température (U. H .T.)

Le lait est chauffé à 135-140 °C pendant deux secondes, puis conditionné dans un Emballage stérile. La destruction des germes est totale. Ce type de traitement à haute température et de plus courte durée permet de ne pas altérer les qualités organoleptiques du lait. Ce lait est le plus consommé de nos jours (**Noblet, 2012**).

Les procédés U.H.T. mettent en œuvre, soit le chauffage indirect dans des échangeurs. Tubulaires ou à plaques, soit le chauffage direct par contact du lait avec de la vapeur d'eau Sous pression.

- Le chauffage indirect se fait dans des échangeurs comparables à ceux utilisés pour la pasteurisation, mais adaptés aux conditions du traitement. La température de chauffage est généralement de 145 °C pendant 3 à 4 secondes (**Galesloot, 1962**).

- Le chauffage direct se fait par mélange de lait et de vapeur, par injection de vapeur dans le lait (upérisation) ou par pulvérisation du lait dans la vapeur. Cela assure une élévation quasi-instantanée de la température du lait vers 140-150 °C et le maintien de celle-ci pendant environ 2 secondes. Une partie de la vapeur se condense dans le lait, ce qui le dilue d'environ 10 %. Il est donc nécessaire de faire suivre le chauffage d'une évaporation permettant de ramener la matière sèche du lait à sa teneur initiale (**Galesloot, 1962**).

II.2.2. La conservation du lait stérilisé :

- Les laits U.H.T. et stérilisés peuvent se conserver encore plus longtemps, car les dates indiquées sur l'emballage sont des DLUO (date limite d'utilisation optimale) maintenant qualifiées de DDM (date de durabilité minimum). En d'autres termes, ils vont simplement présenter des caractéristiques organoleptiques différentes une fois la date dépassée, mais leur consommation est sans danger.

- Les laits U.H.T. se conservent au minimum 90 jours à température ambiante (22 °C) et à l'abri d'une lumière directe. Quant aux laits stérilisés, ils se conservent encore plus longtemps pour Des périodes pouvant aller jusque 150 jours soit environ 5 mois. Une fois ouverts, les laits U.H.T. et stérilisé se conservent au maximum 3 à 5 jours à une température maximale de 4°C (**IPLC, 2015**).

III. Contrôle de la qualité microbiologique du lait :

Le contrôle microbiologique des aliments a pour objectif de contrôler les caractères moins apparents mais fondamentaux d'un produit alimentaire. Il s'agit de la salubrité, c'est-à-dire l'absence d'action toxique, de microorganismes pathogènes ou toxigènes ainsi que le niveau des populations des germes d'altération. Par ailleurs, dans le cas des conserves, il contrôle la stabilité des produits, c'est-à-dire l'aptitude du produit à ne pas s'altérer trop rapidement si les conditions de stockage sont respectées. (**Andrews, 1996**)

III.1. La qualité du lait pasteurisé :

Les germes recherchés dans le lait pasteurisé d'après le journal officiel de la république algérienne N 39 (**J.O.R.A., 2017**) sont :

III.1.1. Les Germes aérobies à 30 °C (ou flore totale) :

La flore aérobie mésophile à 30 °C représente l'ensemble des microorganismes qui se développent en présence d'oxygène. Cette microflore peut comprendre des microorganismes pathogènes pour l'Homme, mais aussi des micro-organismes d'altération, leur détection dans les aliments traduit une altération qui amoindrit la qualité intrinsèque de la denrée (goût, odeur, aspect) (**Bonnefoy et al .2002**). Les aliments les plus souvent contaminés sont : tous les aliments prêts à consommer susceptibles d'avoir été conservés dans des conditions de température trop élevée et/ou de durée trop longue (**Jean, 2007**)

III.1.2. Les coliformes :

Les coliformes totaux sont des bacilles à Gram négatifs, aérobies ou aéroanaérobies. Facultatifs, non sporulés, ne possèdent pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 h à une température comprise entre 36 et 37 °C, selon la norme ISO. Les coliformes se répartissent en 2 groupes distincts :

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

But : L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et coliforme fécaux (*E. coli*), est de déterminer si le produit testé contient une contamination fécale (**Joffin et Joffin, 1985**)

III.1.3. Les Salmonelles :

Les salmonelles sont des bactéries à Gram négatif de type aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques (**Grimont et al., 1986**). Les salmonelles sont toujours pathogènes provoquant des gastro-entérites (avec éventuellement de graves complications). Leur recherche et leur identification permettent donc de montrer le danger possible d'un produit. (**Christiane et Jean-Noël, 2003**)

III.2. La qualité du lait U.H.T:

III.2.1. Les Germes aérobies à 30 °C :

Les germes aérobies à 30 °C sont les seuls germes recherchés dans le lait U.H.T. d'après (**J.O.R.A., 2017**).

Partie Pratique

Chapitre I : Matériel et méthode

I. Matériel et méthode

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université Echahid Hamma Lakhdar El-Oued, et dernière période dans CHIHABI LABORATORY le but de faire une analyse microbiologique d'un lait pasteurisé et un lait U.H.T. acheté du marcher. Durant une période presque deux mois (du 13 mars 2021 jusqu'aux 08 mai 2021). L'étude consistait en la recherche et le dénombrement de

- La flore mésophile aérobie totale ;
- Les coliformes ;
- Les salmonelles ;
- Les staphylocoques ;
- Les levures et moisissures.

I.1 Matériel

Le materiel habituelle du laboratoire de microbiologie (materiel de stérilisation, matériel d'incubatin, la verrerie et les instruments de prises d'essai) utilisé dans ce travail

- Verrerie (tubes à essais, pipettes Pasteur, éprouvettes, beichers, flacons, erlenmeyer,)
- Micropipette
- Portoir des tubes à essai
- Boites de Petri
- Balance électrique
- Baron magnétique
- Bec Bunsen
- Autoclave
- Etuve
- Agitateur de type vortex
- Plaque chauffante agitante
- Bain Marie

I.2. Méthode

I.2.1. Échantillonnage

Les échantillons de lait à analyser ont été achetés aléatoirement en épicerie à el-oued .

I.2.2. La conservation des échantillons

Le lait est conservé à deux conditions selon la température jusqu'au-delà de la date limite de conservation (indiquée sur l'emballage de chaque type de lait: dépasse de 1 mois pour le lait U.H.T. et 5 jours pour le lait pasteurisé):

- Un sachet du lait pasteurisé et une boîte du lait U.H.T. conservés à une température de 4°C au réfrigérateur.
- L'autre sachet du lait pasteurisé et la 2^{ème} boîte du lait U.H.T. laissés à température ambiante.

I.2.3. Homogénéisation :

Cette opération a pour but de répartir uniformément les microorganismes présents dans l'échantillon à fin que la prise de la quantité aliquote soit représentative, de la totalité de l'échantillon. Les produits sont agités manuellement ou mécaniquement au vortex ou agitateur. (Guiraud et Rosec, 2004)

I.2.4. Traitement des échantillons :

Dans une zone stérile, devant un bec Bunsen allumé et sur une pailasse préalablement désinfectés par une solution d'eau de Javel, les sachets et les boîtes sont désinfectés avec un coton imbibé d'alcool.

I.2.5. Préparation des dilutions : (JORA N° 70 du 7 novembre 2004).

- ✓ **Principe :** Préparation de la dilution primaire (suspension mère) et si nécessaire, des dilutions Décimales suivantes en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume, Pour faciliter l'examen microbiologique
- ✓ **Mode opératoire :** Préparer une série de tubes étiquetés de 10⁻¹ à 10⁻³ pour chaque échantillon, les répartir Aseptiquement à l'aide d'une pipette pasteur stérile, déposer 1 ml de la suspension mère (lait) dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml de diluant (eau physiologique) cette dilution constitue alors la dilution de 1/10 ou 10⁻¹, prélever ensuite 1ml de celle-ci à l'aide d'une autre pipette stérile et la porter dans un autre tube d'eau physiologique de 9ml pour avoir la dilution au 1/100 ou 10⁻² et ainsi de suite jusqu'à la dilution 10⁻³, homogénéiser chaque dilution, en ayant soin de changer la pipette entre chaque dilution afin d'éviter et de fausser les résultats.

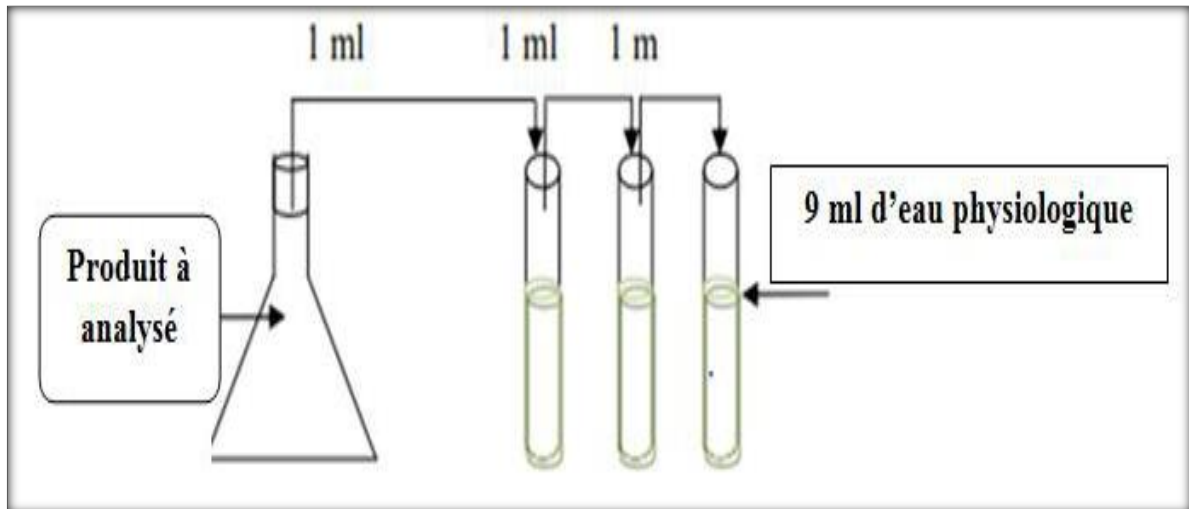


Figure N°1: Technique de préparation des dilutions décimales successives.

I.2.6. Ensemencement et dénombrement :

Le but des techniques de dénombrement est de déterminer la charge en bactéries contenues dans une préparation initiale. L'incubation est effectuée selon le microorganisme recherché soit en aérobose ou en anaérobose (tableau 07).

Tableau 07 : conditions de cultures des groupes bactériens susceptibles de se développer dans le lait.

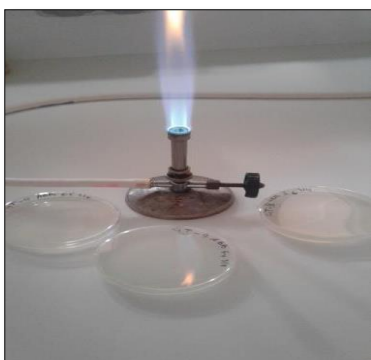
Microorganismes recherchés	Milieux de culture	Technique d'ensemencement	Température et durée d'incubation
Flore totale aérobie mésophile (FTAM)	PCA	en masse	30°C/24 à 72 h
Coliformes totaux	VRBG	en masse	37°C/24 à 48 h
Les Staphylocoques	BAIRD-PARKER	en surface	37°C/24h
Les salmonelles	Hektoen	en surface	37°C /24h
Les lactobacilles	MRS	en masse	37°C/5 jours
Les levures et moisissures	Sabouraud	en masse	25°C (5 jours pour les moisissures et 24 h pour les levures)

I.3. Les analyses microbiologiques du lait

I.3.1. La recherche de la flore totale aérobie mésophile

Dénombrer la flore totale, c'est tenter de compter tous les microorganismes présents.

- ✓ **Principe** : Pour le dénombrement de la flore totale, on effectue un ensemencement en masse sur une gélose glucosée à l'extrait de levure ou appelée également PCA (Plate Count Agar). (JO. N°70 de 7/11/2004). (Annexe1)



A : Solidification sur la paillasse

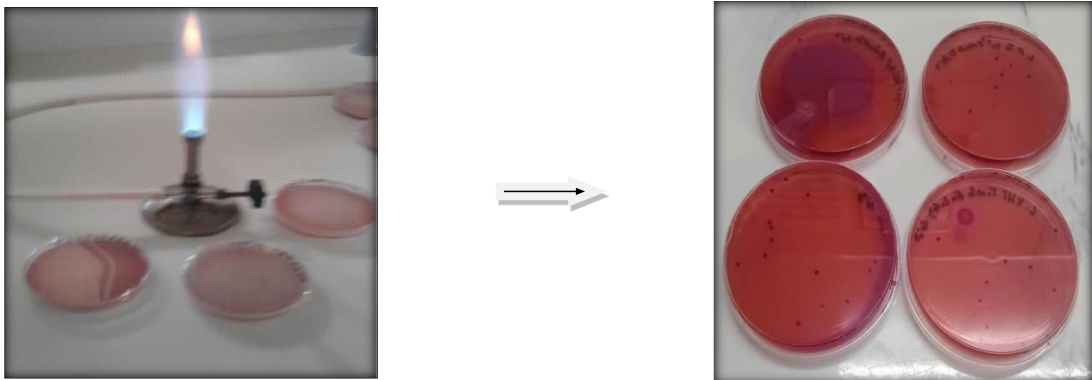
B : Après l'incubation

Figure N°2 : Dénombrement des flore totale aérobie mésophile

I.3.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux :

Les bactéries coliformes appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae.

- ✓ **Principe :** Pour le dénombrement de le coliforme totaux, on effectue un ensemencement en masse sur une gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar) (**JO. N°70 de 7/11/2004**).
(annex 2)



A : Solidification sur la paillasse

B : Après l'incubation

Figure N°3 : Dénombrement les coliformes totaux

I.3.3. Recherche et dénombrement des staphylocoques :

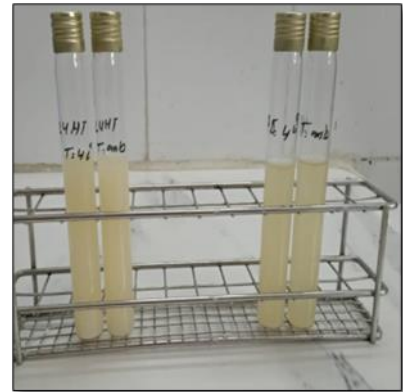
Permet de savoir si le produit présente des risques Pour le consommateur, ils sont les seuls à produire éventuellement une entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire (**Guiraud, 1998**).

- ✓ **Principe :**

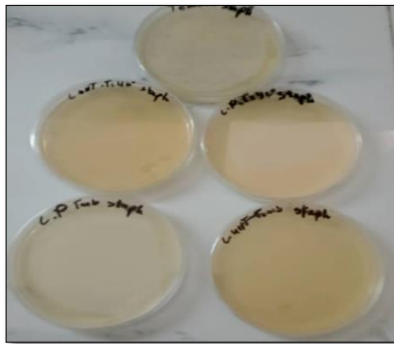
Le dénombrement des staphylocoques peut se faire sur le milieu Giolitti Cantonii ; L'enrichissement sur le milieu Giolitti Cantonii permet une meilleure revivification L'isolement au milieu BAIRD-PARKER (**annex 3**)



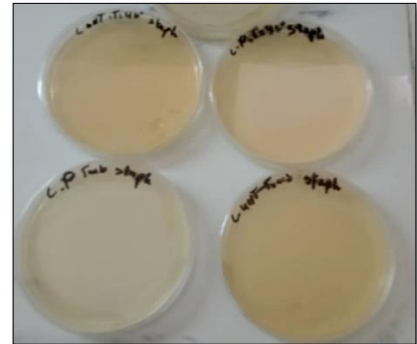
A : Enrichissement sur Giolitti Cantoni



B : Après l'incubation



A : Solidification sur la paillasse

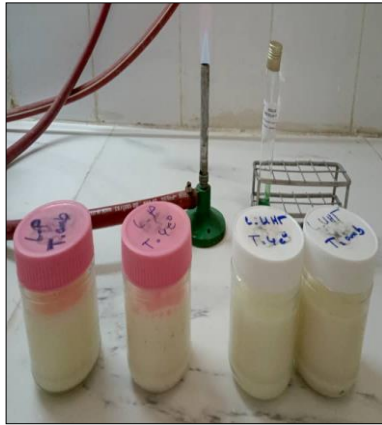


B : Après l'incubation

Figure N°4 : dénombrement des staphylocoques aureus

I.3.4. Recherche et dénombrement des salmonelles : (Méthode selon JO. N°70 de 7/11/2004).

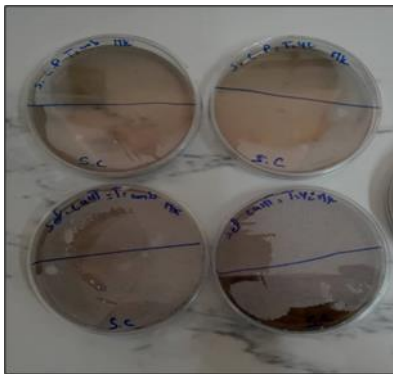
La recherche de Salmonella comporte plusieurs étapes (Lebres et Mouffok, 1999):
(annex 4)



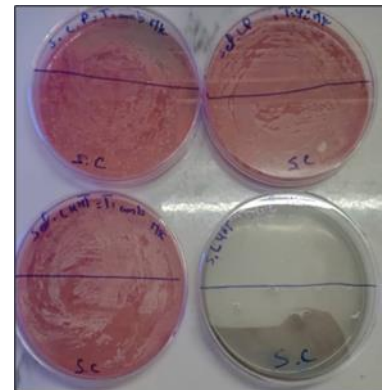
A: Pré-enrichissement dans milieu vert brillant



B: Enrichissement dans le milieu MK/SC



C : Solidification sur la paille



D : Après l'incubation

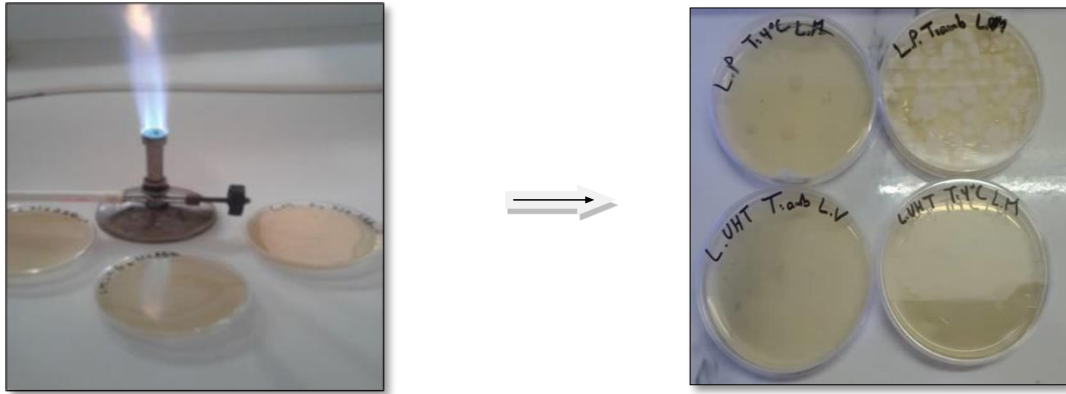
Figure N°5 : Dénombrement des salmonelles

I.3.5. Recherche et dénombrement des levures et des moisissures

Les levures et les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes contrairement aux bactéries. Ce sont des organismes aérobies, en générale acidophiles, mésophiles et souvent osmophiles, c'est-à-dire capables de se développer sur des milieux à faible activité d'eau et riche en agar (Dupin, 1992).

✓ Principe :

Les levures et moisissures cultivent à 25 °C sur le milieu Sabouraud et se retrouvent dans la nature (Michel, 2007).(annex 5)



A : Solidification sur la paille

B : Après l'incubation

Figure N°6 : Dénombrement des levures et des moisissures

*Chapitre I.I: Résultats et
Discussion*

II. Germes rencontrés dans les échantillons du lait

En analysant les échantillons du lait étudiés, les résultats des analyses microbiologiques révèlent la présence selon l'aspect des colonies obtenues sur des milieux de culture sélectifs, des germes appartenant à la flore aérobie mésophile totale, aux coliformes, aux levures et moisissures. L'absence des salmonelles, des staphylocoques et les lactobacilles a aussi été enregistrés (tableau 08).

Tableau 08 Résultats de l'analyse microbiologique des échantillons des deux types du lait analysés.

Germes	Aspect des colonies
FTAM	Présence de colonies de couleur blanche de différentes tailles.
Coliformes totaux	Présence de colonies rouges foncé.
Staphylocoques	Absence de colonies.
Salmonelles	Absence de colonies.
Lactobacilles	Absence de colonies.
Levures et moisissures	Présence de colonies de levures rondes, de couleur blanche. Les colonies des moisissures sont Absence .

II.1. Flore mésophile aérobie totale (FTAM)

Après comptage des germes mésophiles aérobies totaux contenus dans des boites de Pétri (gélose PCA) après 72 h d'incubation à une température de 30 °C. Les résultats sont notés sur le tableau 09.

Tableau 09 : résultats de dénombrement de la FTAM dans le lait pasteurisé et U.H.T

	Type des échantillons			
	Lait pasteurisé T° ambiante	Lait pasteurisé (T° 4°C)	Lait U.H.T. (T° ambiante)	Lait U.H.T. (T° 4°C)
Résultats (UFC/ml)	10×10 ²	9×10 ²	1×10 ²	Absence
Normes (UFC/ml) (JORA n39,2017)	2×10 ⁵		10/0.1ml	

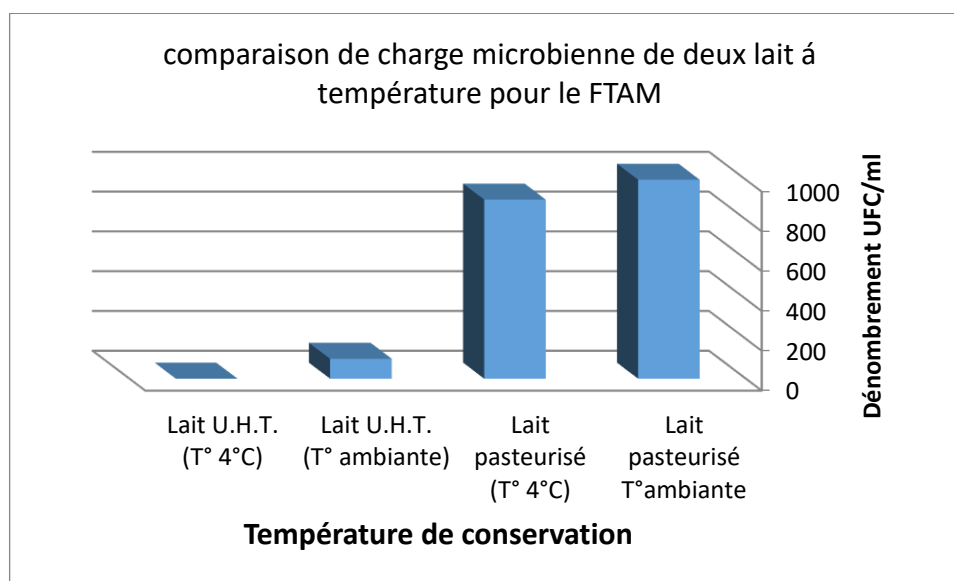


Figure N°7: Résultats de dénombrement de la FTAM dans les quatre échantillons du lait.

La FTAM c'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques qui nous renseigne sur la qualité hygiénique du lait (pasteurisé et U.H.T)

Le dénombrement de cette flore pour les échantillons de lait U.H.T conservé à T° ambiante et à 4°C est de : 2×10^2 UFC/ml, 0 UFC/ml respectivement, et selon le plan d'échantillonnage fixé dans les normes de (J.O.R.A., 2017), ces valeurs ne dépassent pas le seuil de contamination malgré que date de péremption soit dépassée de 5 jours.

Ces résultats révèlent que ces échantillons sont de qualité acceptable.

Tandis que la charge de FTAM dans les échantillons du lait pasteurisé conservé à T° ambiante et à 4°C est de : 10×10^2 UFC/ml, 9×10^2 UFC/ml respectivement, ces valeurs, l au-dessous de la norme malgré que a date de péremption étant dépassée d'un mois, la contamination s'avère être comparée au normes (J.O.R.A., 2017). Donc considéré comme étant de qualité microbiologique acceptable.

D'après les résultats de recherche et de dénombrement des FTAM on peut conclure que le lait pasteurisé analysé présente une charge microbienne élevée comparé aux normes et le lait U.H.T analysé dépassant sa date de conservation de cinq jours présente une charge microbienne faible.

La charge élevée en FTAM dans le lait, pasteurisé par rapport au lait U.H.T, peut être du à de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la fabrication.

II.1.1. Les coliformes

II.1.2. Les coliformes totaux

Après comptage réalise sur les boîtes de Pétri contenant les coliformes totaux et après 24 h à 48 h d'incubation à une température de 37 °C sur la gélose VRBG. Les résultats sont rapportés sur le(tableau 10)

Tableau 10 : résultats de dénombrement des coliformes totaux dans le lait pasteurisé et U.H.T

	Type des échantillons			
	Lait pasteurisé (T° ambiante)	Lait pasteurisé (T° 4°C)	Lait U.H.T. (T° ambiante)	Lait U.H.T. (T° 4°C)
Résultats (UFC/ml)	14×10 ²	10×10 ²	9×10 ²	2×10 ²
Normes (UFC/ml) (JORAn39,2017)	10		Absence	

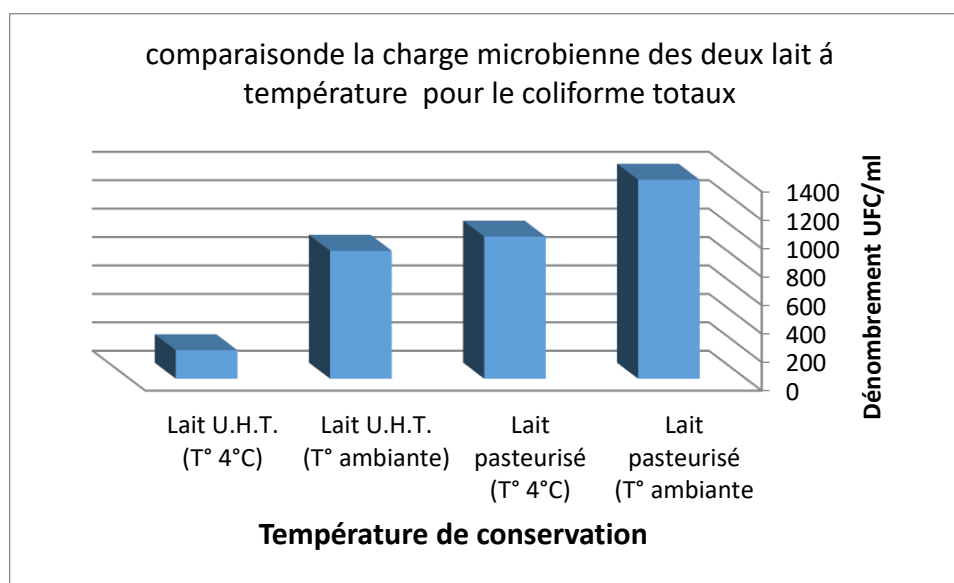


Figure N°8: Résultats de dénombrement de la des coliformes totaux dans les échantillons du lait étudiés.

Les résultats montrent que le nombre de coliformes totaux dans de lait U.H.T conservé à T° ambiante et à 4°C est de : 9×10² UFC/ml, 2×10² UFC/ml respectivement, et selon le plan d'échantillonnage fixé dans les normes de (J.O.R.A., 2017), ces valeurs dépassent le seuil de contamination.

Tandis que la charge de dans les échantillons du lait pasteurisé conservé à T° ambiante et à 4°C est de : 14×10^2 UFC/ml, 10×10^2 UFC/ml respectivement, ces valeurs, plus élevé comparé aux valeurs indiquées par la norme de **(J.O.R.A., 1993)** : 10ml pour le lait pasteurisé et absence totale dans le lait U.H.T

Donc considéré comme étant de qualité microbiologique inacceptable.

La présence des coliformes totaux n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale (Larpen, 1990), il s'agit donc plutôt de marqueurs de mauvaise maîtrise d'hygiène ainsi que de la mauvaise manipulation **(Guiraud et Rosec, 2004)**. Leur présence dans les produits traités thermiquement (lait pasteurisé et U.H.T.) peut être due également à l'inefficacité du traitement thermique (notamment la pasteurisation).

II.1.3. Les salmonelles :

Les salmonelles sont totalement absentes dans tous les échantillons analysés. Donc les produits sont conformes aux normes du **(J.O.R.A2017)** : absence totale des salmonelles dans le lait U.H.T. et le lait pasteurisé absent dans 25ml

Les salmonelles sont des germes qui se mettent difficilement en évidence. Ceci peut être une explication possible de cette absence **(Dubois et Smoragiewics, 1982)**.

Cela prouve que l'opération de pasteurisation et de stérilisation appliquée dans la fabrication du lait pasteurisé et U.H.T., ont été faite d'une manière convenable du point de vue temps/température, et que ces traitements thermiques ont éliminé presque la totalité des flores banales, et même pathogènes. L'absence ou la faible présence de la flore pathogène peut trouver son explication dans le fait que la contamination initiale va subir l'effet de l'abaissement du pH et de l'antagonisme des bactéries lactiques (Alais, 1984). On aboutit à un faible taux de la flore pathogène, voire leur absence.

II.1.4. Les staphylocoques

Pour les deux types de staphylocoques dans le lait, les résultats obtenus sont négatifs, ce qui signifie qu'il n'y a pas de staphylocoque du tout, donc ces deux produits répondent à la norme de **(JORA, 1993)**, qui indique que la valeur ci-dessus est 10/ La péremption date de ml de lait pasteurisé et l'absence totale dans le lait UHT

Les propriétés physiques et chimiques du lait sont propices au développement staphylocoque. Mais ils sont très sensibles à l'acide produit par les bactéries lactiques **(Beerens et Luquet, 1987)** et sont donc inhibés. Ceci peut expliquer l'absence de staphylocoques dans l'échantillon de lait analysé.

II.1.5. Les levures et moisissures :

Après incubation pendant 5 jours (24 h pour les levures) à une température d'environ 25°C sur la gélose Sabouraud, les résultats de la recherche des levures et moisissure dans les échantillons du lait sont montrés dans le tableau 11 :

Tableau 11 : résultats de dénombrement des levures dans les quatre échantillons du lait.

	Type des échantillons			
	Lait pasteurisé (T° ambiante)	Lait pasteurisé (T° 4°C)	Lait U.H.T. (T° ambiante)	Lait U.H.T. (T° 4°C)
Résultats (UFC/ml)	9×10 ²	00	00	00
Pas de norme				

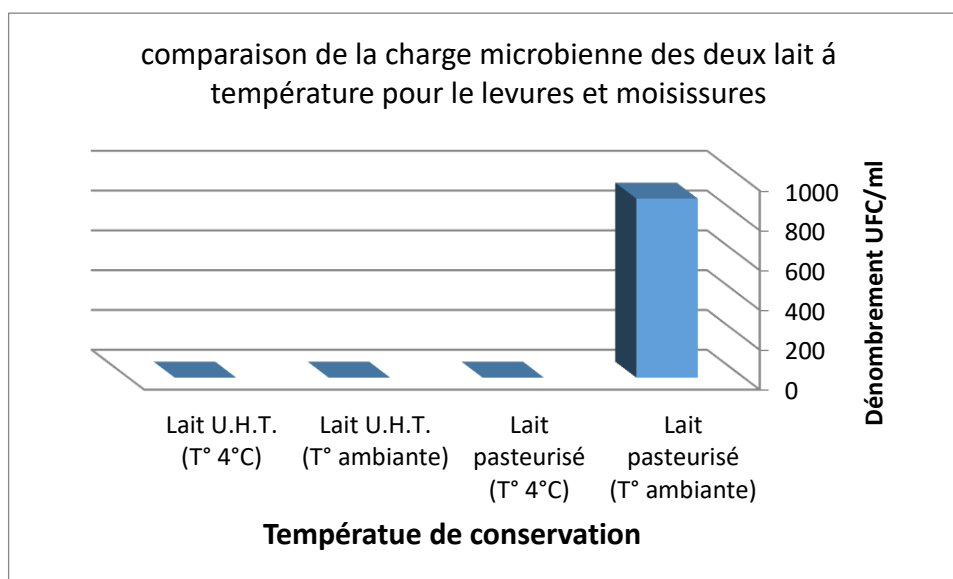


Figure N°9: Résultats de dénombrement des levures dans les quatre échantillons du lait.

Les résultats de la recherche des levures et moisissures montrent une absence totale de ces germes dans les échantillons du lait U.H.T conservé à 4 °C et à T ambiante, et lait pasteurisé conservé à 4 °C On observe une présence assez importante de levures dans les échantillons ces resultat conformes aux normes du (J.O.R.A.,2017)

Tendisque du lait pasteurisé conservé à T ambiante : 9×10^2 UFC/ml, ces valeurs, plus élevé comparé aux valeurs indiquées par la norme de (J.O.R.A.,2017) : absence totale pour le lait pasteurisé et le lait U.H.T

il est difficile d'entier une conclusion pratique de ces résultats, car ce sont des éléments permanents de l'environnement, ils traduisent eux aussi le fait qu'au cours de la fabrication le lait pasteurisé est très exposé à l'air ambiant. La présence massive des levures dans les

échantillons de lait pasteurisé peut être due à une forte contamination extérieure et une mauvaise hygiène des locaux de fabrication et de stockage.

conclusion

Le lait prendre une place très importante dans notre vie, pour cela, il doit respecter; Quelques critères très importants avant de le consommer.

Le principe de contrôle de la qualité du lait des espèces animales est très simple, il suffit de comparer les résultats obtenus par l'analyse microbiologique avec les normes et les règles.

Malgré les traitements thermiques, la qualité du lait (pasteurisé et U.H.T.) et sa durée de vie sont limitées par le développement des populations microbiennes de contamination.

Les deux échantillons du lait contenaient des FTAM (Lait pasteurisé laissé à température ambiante et à 4 °C de : 10×10^2 UFC/ml et 9×10^2 UFC/ml, respectivement, et lait U.H.T. laissé à température ambiante : 1×10^2 UFC/ml et absence à 4 °C

Des coliformes totaux dans le lait pasteurisé conservé à 4 °C et à température ambiante de : 14×10^2 UFC/ml et 10×10^2 UFC/ml respectivement, et dans le lait U.H.T. conservé à 4 °C et à température ambiante de : 9×10^2 UFC/ml et 2×10^2 UFC/ml respectivement. due à considérer des pratiques d'hygiène insuffisantes lors de transport et fabrication.

Aucun agent pathogène pour l'homme n'a été trouvé (absence totale des *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*). Dans notre étude, nous constatons que si la date de péremption d'un lait même traité par la chaleur (pasteurisation ou stérilisation) soit dépassée, il devient impropre à la consommation, si conservé au réfrigérateur à 4 °C.

On conclut également suite au résultat de notre étude, que le lait pasteurisé se contamine facilement (charge microbienne élevée FTAM, coliformes...) comparé au lait U.H.T, ce qui peut être dû au fait que le lait stérilisé est plus riche de composition que le lait pasteurisé. (du moins pour nos produits analysés qui ont été achetés au marché)

Références bibliographiques

- . **Temple, H ., Jean, L.M.(2013)**. Traité pratique de droit alimentaire. Ed, Tec, Doc. Lavoisier, Paris ,861..
- Alais C., (1984)**. Science du lait: principes et techniques laitiers.4ème éd, Paris: édition SEPAIC 1984,814 p.
- Alais C., Linden G., Miclo L. 2003**. biochimie alimentaire, 5è édition de l'abrégé, Paris :Dunod . collection : Cours. 164,167,185 ,186,187(250 page)
- AMIOT J., FOURNER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R., TURGEON H. 2002**. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et Techniques d'analyse du lait *In VIGNOLA C.L*. Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, 227,29(600p)
- Bamouh .A, 2006**. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, N°142: 1-
- Beerens H. et Luquet f. M., (1987)**. Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers; 1987. 144 p.
- Beth .w, 1996**. Gide d'alimentation des vaches laitières. Omaf. Divisions agricultures et affaire rurales, Ag dex: 401/5, P38.
- Bonnefoy, C., Guillet, F., Leyral, G., Verne, E. (2002)**. Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires (collection biosciences et techniques ; séries : sciences des aliments). Edition : Doin, Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine, Bordeaux, Paris, 18-20.
- Bourgeois, C. M.,Mescle, J.F. et Zuca, J. (1996)**. Lait et les produits laitiers non fermentés, Microbiologie alimentaire. Tome 1, aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Page 272,275 (672 page)
- Cayot P. et Lorient D. (1998) :** Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.
- Cheftel et Cheftel.(1996)**. Introduction à la biochimie, à la technologie des aliments. Vol 1. Edition : Lavoisier, Paris. pp : 43.
- CHILLIARD Y. (1996):** Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre : comparaison avec les laits de vache et humain. Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Actes du colloque : le lait de chèvre, un atout pour la santé, INRA. Niort, France, pp.51- 65
- CODOU L.M., 1997.-** Etude des fraudes du lait cru : mouillage et écrémage ; mémoire de doctorat,université Cheikh Anta Diop –Dakar, Sénégal, p 5,18
- Cuq J.L., (2007)**. Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. P: 20-25. Citer par: KABIR Ahmed, 2015.Thèse de

- Doctorat: Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).
- Cuq, J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Langue et Doc, Université de Montpellier, 20-25
- Derby, (2001).** Lait, nutrition et santé, Valeur nutritive du lait stérilisé (effet de la stérilisation thermique sur la valeur nutritive du lait de vache). Etudes Agricoles de la F.A. Ed: Tec et doc, Lavoisier, Paris.
- Derby. (2001).** Lait, nutrition et santé, Edition : Tec et Doc, Lavoisier, Paris.556p.
- Dubois G., Smoragiewics, (1982).** L'inhibition de quelques bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes par *Streptococcus lactis*, *S. thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* et *L. helveticus*. Le lait, 1982, N° 62. P: 681 – 687.
- Dupin, H ., Berthier, A.M., Malewiak, M.L. (1992)** .Alimentation et nutrition humaines. ESF éditeur 17rue Viète, 75017 paris, 853-854.
- EL-Hadi Djamel, Azzouz Akila et Chachoua Fadila, (2015).**Etude de la qualité physico-chimique deux types de laits reconstitués (pasteurisé et stérilisé), revue Agrobiologia, (2015), volume 5(2).P:47-54.
- FAO. (2000).**Lait et produits laitiers (deuxième édition). Amazon, Rome, Italie: organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture organisation mondiale de la santé, 19.
- Fredoit E., 2006.** Connaissance des aliments. Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Edition : Tec et Doc
- Fredote. (2005).**Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc,Lavoisier.397p.
- Galesloot TE., (1962).** La stérilisation du lait, in: Milk Hygiene. World Health Organization, Genève, Suisse.Citer par: Alix, Arielle, Sarah VELEZ,2017.Thèse de Doctorat:étude bibliographique du rapport bénéfices -risques de la consommation de lait cru de vache.
- Gautier, M., Le loir, Y., Pellerin, J., N. (2010)** . *Staphylococcus aureus*. Edition Tec, Doc, Lavoisier, Paris, 35
- Goursaud, J. (1985).** Composition et propriétés physico-chimiques dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Éditions Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- IPLC L'institut professionnel du lait de consommation, (2015).** Fiche pratique: la conservation du lait n° 70 - Familles de France, p:1-2.
- J.O.R.A.2004 :** Arrêté interministériel du 24 ramadhan 1425 ; journal officiel de l république algérienne N°70 .7 novembre 2004.

- J.O.R.A.2017:** Arrêté interministériel du 8 chaoual 1438 ;journal officiel de l république algérienne N°39 ,2 juillet 2017
- Jean, L. (1997).**Microbiologie alimentaire : Contrôle microbiologiques des aliments. Edition : université Montpellier de sciences et techniques, 4-37.
- Jean, M. (2007).** Germes aérobies mésophiles. Edition : Service de la consommation et des affaires vétérinaires, Neuchâtel, Suisse, 37
- Jean, M. (2007).** Germes aérobies mésophiles. Edition : Service de la consommation et des affaires vétérinaires, Neuchâtel, Suisse, 37
- Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G., (2008).**Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier, p: 1-3-13-14-17. Citer par: GHAOUES Souheila,2011.Thèse de Magister:Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien.
- JEANTET R., CROGUENNEC T., SCHUCK P. et BRULE G., (2007).** Science des aliments- volume 2 technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 9 ,12,17 (456 pages).
- JEANTET R., CROGUENNEC T., SCHUCK P. et BRULE G., (2007).** Science des aliments- volume 2 technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 9 ,12,17 (456pages).
- JOFFIN C et JOFFIN J.N. (1999) :** Microbiologie alimentaire 5eme édition collection biologie Technique : 211p.
- Joffin C et Joffin J-N. (1999):** Microbiologie alimentaire, Ed : 5. Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine.212.
- 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): CIHEAMIAMM.13p.
- Lamontagne.M, Champagne.C.P. Ausseur.L 2002.** Chapitre2 : microbiologie du lait dans : Science et technologie du lait. Edition : Canada
- Larpent J.P., (1990).** Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie
- Leroy. (1965).** Le producteur du lait «guide du contrôle laitier et beurrier agrude»
- Luquet FM. (1985).** Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tec et Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.334p.

- Mahieu.H.1985.** Modification du lait après récolte. Dans lait et produit laitiers (Luquet F.M) tome1.Le lait de la mamelle à la laiterie. Edition : Tec et Doc., Lavoisier.
- Mathieu, J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. *Éditions Tech et doc, Paris*
- Meyer, C et Denis, JP.1999.** Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Edition CIRAD,314p.
- NA 5911, ISO 6611, (2004).** Dénombrement des unités formant colonie de levure et/ou moisissures, comptage des colonies à 25°C.
- NA6803-2005., ISO 4832, (2006).** Directives générales pour le dénombrement des coliformes -méthode par comptage par colonies.
- NF T 90-412.juin 2016 .** Qualité de l'eau . dénombrement des Staphylocoque pathogène (a coagulation positifs)-méthodes par filtration sur membrane
- NF V 08-051,(1992).** Méthode de recherche et de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.Paris : AFNOR,05p.
- Noblet Bénédicte, (2012).** Le lait: produit, composition et consommation en France Cahiers de Nutrition et de Diététique. Volume 47.p: 242-249.
- Perreau .M.J., 2014.**Conduire son troupeau de vaches laitières. Editeur : ÉDITIONS FRANCE AGRICOLE Collection : Produire mieux. Paris Page 31,34 ,47,50,71 (403 page)
- Pougheon .S.Couraud.J.2001.** Lait, caractéristiques physico-chimiques dans : Lait nutrition et santé
- POUGHEON S .et GOURSAUD J., (2001)** Le lait caractéristiques physicochimiques *In DEBRY G.,* Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages)
- Remond B., 1978.** La vache laitière: aspects génétique, alimentaire et pathologique. Ed.,INRA, Paris: 231-242
- Revue laitièrefrançaise.**Lait frais pasteurisé " L'industrie laitière" .8 rue Danielle Casanova 75002, Paris. Citer par:Laurent SINA, 1992.Thèse de doctorat: Contrôle de la qualité du lait et des produits laitiers fabriqués par la SOCA.
- Sechet P., (2001).** Le lait U.H.T.: Généralités. Ed. Enilia, Surgères, 34p.
- SIBOUKEUR O., 2007.-**Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physicochimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation, thèse de doctorat, institut national agronomique El-Harrach-Algérie, p 22.
- Silait Salon international du lait (2008) :** Acte du 1er salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger.

- Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L.,(1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p. Cite par: Benhedane Née Bachtarzi Nadia,2012.Thèse de Magister:qualite microbiologique du lait cru destine a l fabrication d'un type de camembert dans une unite de l'est algerien.
- Vesseyre, R. (1979).**Technologie du lait : constitution récolte, traitement et transformation du lait. *Editions la maison rustique, Paris.*
- Vidailhet.M.2001.** Chapitre1 : le lait dans : Aliment et boisson. Edition : doin éditeur.
- Vierling E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, dion éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine . 270p.
- Vierling E.(1998).**Aliments et boissons filières et produits biosciences. Edition. Dion.Paris.278p.
- Vignola C.L., 2002.** Science et technologie du lait : transformation du lait. Presse internationale polytechnique, Montréal (Canada), 5,14-15,25 ,28,29,79,90 (600 p)
- vignolaC. 2002.** Science et technologie du lait, transformation de lait. Ecole polytechnique de Montréal.
- Wattiaux.A.M.2006.** <http://www.babcock.wisc.edu/downloads>

Annexes

Annexe 1**❖ Mode opératoire :**

• Introduire à l'aide d'une pipette pasteur (1 ml) de chaque dilution (10⁻¹ à 10⁻⁶ pour le lait pasteurisé et 10⁻¹ à 10⁻⁴ pour le lait U.H.T.), dans des boîtes de pétri.

• Verser par la suite la gélose PCA maintenue en surfusion. Puis effectuer des mouvements circulaires pour homogénéiser.

• Après solidification, incuber. On incube les boîtes à 30 °C pendant 24 -72 h.

❖ Lecture

L'exploitation des résultats se fait de la manière suivante :

- On retient les boîtes contenant 20 à 300 colonies.

- On calcule le nombre de microorganismes par ml à l'aide de la formule suivante:

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1 n_2) d}$$

où

∑c: Somme totale des colonies comptées.

n₁: Nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n₂: Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

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

Annex 2**❖ Mode opératoire :**

- Transférer 1 ml double couche des dilutions retenues (10⁻¹ à 10⁻⁶ pour le lait pasteurisé et 10⁻¹ à 10⁻⁴ pour le lait U.H.T.) dans les boîtes de Pétri stériles, couler 15 ml de gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar) en surfusion et mélanger l'inoculum avec le milieu (NA6803-2005., ISO4832, 2006).

Laisser solidifier en posant les boîtes sur une surface fraîche et horizontale.

On incube les boîtes à 37 °C ±1 °C pendant 24 heures ±2 h.

❖ Lecture : Colonies de couleur rouge foncé et de 0.5 mm de diamètre.**Annexe 3****❖ Mode opératoire :****• Enrichissement :**

A partir des dilutions décimales retenues (10⁻¹ à 10⁻⁶ pour le lait pasteurisé et 10⁻¹ à 10⁻⁴ pour le lait U.H.T.), porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube à vis stérile.

Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

❖ **Incubation : L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 h.**

❖ **Lecture**

-Seront considérés comme positifs, les tubes ayant virés au noir

-Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'un isolement sur gélose BAIRD-PARKER préalablement fondu, coulée en boîtes de pétri et bien séchée

-Les boîtes de BAIRD-PARKER *BP* ainsiensemencées seront incubées à leur tour à 37 °C pendant 24 à 48 h. Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies noires, avec halo opaque. (NF EN ISO 11133, NF T90-412).

Annex4

❖ **Mode opératoire :**

1.Pré-enrichissement (non sélectif) : Prélever 250 ml de produit à analyser que l'on introduit dans 2,25 ml de vert brillant à 1 % incubée à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

2. Enrichissement (sélectif):

-Introduire 10 ml du liquide pré-enrichi dans 100 ml de bouillon sélénite-cystine. Incuber à 37 °C pendant 48 h.

-Introduire 10 ml du liquide pré-enrichi dans 100 ml de bouillon Muller Kauffmann. Incuber à 43 °C pendant 48 heures

3. Isolement :

A partir du milieu d'enrichissement, l'isolement est réalisé sur gélose Hektoen, puis les boites sont incubées à 37 °C pendant 24 h.

❖ **Lecture :**

La lecture consiste à dénombrer les colonies caractéristiques de 2 à 4 mm de diamètre, lisses de couleur vertes centre noir.

Annex 5

❖ **Mode opératoire :**

A partir des dilutions décimales (10-1 à 10-6 pour le lait pasteurisé et 10-1 à 10-4 pour le lait U.H.T.), porter aseptiquement 0.1 ml de chaque dilution aux boîtes Pétri contenant le milieu Sabouraud préalablement fondu et solidifié, puis les étaler sur toute la surface du milieu à l'aide d'un râteau stérile (NA 5911-ISO 6611, 2004)

❖ **Incubation :**

Les boîtes seront incubées à 25 °C pendant 24 h jusqu'à 5 jours.

❖ **Lecture :**

-Les levures et les moisissures se multiplient en surface ;

-Il s'agit des colonies blanches dont les levures ont une structure sphérique.

Annex 6

Milieux de culture

Milieux liquide	Milieux solide
<ul style="list-style-type: none"> • Bouillon Giolitti Cantoni (GC) • Bouillon Muller Kauffemane • Bouillon Sélénite cystine • Eau physiologique 	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose PCA • Gélose VRBG • Milieu BAIRD-PARKER • Gélose Hektoen • Milieu Sabouraud • Gélose MRS

Composition des milieux de culture cités :

❖ **Gélose PCA (plate count agar)**

Composition	g/l
Tryptone	5
Extrait autolytique de levure	2,1
Glucose	1
Agar	15
Dissoudre 20.5g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH =7,4±0,1	

❖ **Gélose VRBG**

Composition	g/l
Extrait de levure	
Peptone	3 7 5
Chlorure de sodium	1.5
Sels biliaires	10
Glucose	0.03
Rouge neutre	0.002
Cristal violet	12
Agar	
Dissoudre 39.5g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH =7,4±0,1	

❖ **Milieu Giolitti Cantoni**

Composition	g/l
Tryptone	10
Extrait de viande	5 5 5
Extrait de levure	20
Chlorure de lithium	5
Mannitol	1.2
Chlorure de sodium	3
Glycine	
Pyruvate de sodium	

Dissoudre 54.2g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH =7,4±0,1

❖ **Gélose BARD-PARKERI**

Composition	g/l
Extrait de viande	4
Tryptone	9
Extrait autolytique de levure	0.9
Pyruvate de sodium	9
Glycine	10.8
Chlorure de lithium	4.5
Agar agar bacteriologique fibrinogene	13.5
bovin plasma de lapin .EDTA	5
Inhibiteur de trypsine	25
Tullurite de potassium	25
	25

Dissoudre 58 g dans un 950 d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C pH =7,2±0,1

❖ **Milieu Muller Kauffmann**

Composition	g/l
Tryptone	8.6
Extrait de viande	4.3
Sel bilaires	4.78
Chlorure de sodium	2.6
Carbonate de calcium	38.7
Thiosulfate de sodium anhydre	30.45
Vert brillant	9.6
Lode	4
Lodure de potassium	5
Novobiocina	40mg

Dissoudre 89.5g dans un litre d'eau distillée ; ne pas autoclaver ; pH =7- 8

❖ **Sabouraud**

Composition	g/l
Extrait de levure	5
Glucose	20
Chloramphénicol	10.1
Agar	11

Dissoudre 56 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C; pH=7

❖ **Gélose Hektoen**

Composition	g/l
Peptone	12
Lactose	12
Sucrose	12
Bile salts N°3	09
NaCl	05
Sodium thiosulfat	05
Yeastextract	03
Solicit	02
Ferric ammonium citrate	1.5
Acide fuchsin	0.1
Bromo thymol blue	0.064
Dissoudre 76 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C; pH=7	

❖ **Gélose MRS (Man, Rogosa, Sharpe)**

Composition	g/l
Peptone	10
Extrait de viande	8 4 2
Extrait de levure	1ml
Citrate d'ammonium	2
Tween 80	0.2
Hydrogenophosphate de potassium	0.05
Sulfate de magnésium	10
Sulfate de manganèse	
Agar	
Dissoudre 70.3 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C; pH=7	

❖ **Milieu sélénite-cystine.**

Composition	g/l
Tryptone	5
Lactose	4
Disodium hydrogénophosphate	10
hydrogénosélénite de sodium	4
L-cystine	10mg
Dissoudre 23 g dans 1010ml d'eau distillée ;ne pas autoclaver; 7,0±0,2	

❖ Eau physiologique

Composition	g/l
Chlorure de sodium	9

Annexe 7

❖ Arrêté Algérien Interministériel du juillet 2017

8 Chaoual 1438
2 juillet 2017

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39

13

ANNEXE I
Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires

I- Lait et produits laitiers

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	$3 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^6$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^7	10^8
	Coliformes thermotolérants	5	2	$5 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^3$
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10^4	10^5
	(Enterobacteriaceae)	5	0	10	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml	
Lait UHT et lait stérilisé	Germes aérobies à 30 °C	5	0	10/0.1ml	
Lait en poudre et lactosérum en poudre	Enterobacteriaceae	5	2	10	10^2
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10^2
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Fromages au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10^4	10^5
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^3	10^4
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^2	10^3
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10^2
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Crème au lait cru	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10^2	10^3
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10^3	10^4
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	