

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Biologiques**



**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de  
MASTER ACADEMIQUE**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biologie**

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

**Présenté par : GHETTAS Sana**

**NEDJAA Nabiha**

**Thème**

**Étude comparative de la multiplication de  
quelques bactéries d'altération dans trois types  
de laits réfrigérés : bovin, camelin, caprin**

Soutenu publiquement

Le : 30/06/2021

Devant le jury

<b>CHATHOUNA Fatma</b>	<b>Président</b>	<b>MCB</b>	<b>UKM Ouargla</b>
<b>BEN AISSA Atika</b>	<b>Promoteur</b>	<b>MCA</b>	<b>UKM Ouargla</b>
<b>BABELHADJ Baaissa</b>	<b>Co-promoteur</b>	<b>MCA</b>	<b>ENS de Ouargla.</b>
<b>BOURICHA M'hamed</b>	<b>Examineur</b>	<b>MAA</b>	<b>UKM Ouargla</b>

**Année universitaire : 2020/2021**

## *Remerciement*

*Nous adressons en premier lieu notre reconnaissance à notre DIEU le tout puissant, de nous avoir aidé d'en arriver là, car sans lui rien n'est possible.*

*Nous tenons à adresser nos sincères remerciements et le grand respect à Madame **BEN AISSA Atika**, maître de conférences rang A au département des sciences biologiques, à la faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Kasdi Merbah Ouargla.*

*pour nous avoir proposé ce thème si intéressant et avoir accepté de nous diriger et de nous orienter tout au long de notre travail avec ses judicieux conseils et sa constante disponibilité, c'est grâce à sa compétence et indulgence que ce travail a pu être réalisé.*

*Nos remerciements vont également à notre Co-promoteur*

*Mr: **BABELHADJ Baaissa**, maître de conférences rang A, à l'école normale supérieure de Ouargla.*

*Nous remercions les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail, Les remerciements pour le président de jury*

*Mme: **CHATHOUNA Fatma** maître de conférences rang B au département des sciences biologiques, à la faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Kasdi Merbah Ouargla.*

*Nous adressons également nos remerciements à*

*Mr: **BOURICHA M'hamed** maître assistant rang A au département des sciences biologiques, à la faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Kasdi Merbah Ouargla. pour avoir Accepté d'examiner ce travail.*

*Sans oublier tout le personnel du Département des sciences biologiques, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah Ouargla.*

*Merci à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce travail, et qu'on ne peut citer individuellement.*

*Merci*

## Dédicace

*A L'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père « Bachir »*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, ma mère qui j'adore « Rima »*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour tous mes frères « Nassim, Abdel el-basset, Med Nadjib, Djaouad » et mes sœurs « Fatima Zahra, Hanin »*

*A mon ami proche qui m'a soutenu et a été à mes côtés dans toutes mes démarches « Youcef »*

*A ma grande famille, et mes amis, mes collègues « Nabihha, Basma, Sara » A tous ceux qui contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, je dis merci.*

*GHEITAS Sana*



# Dédicace

*En avant, à Dieu qui m'a réconcilié à accomplir ce travail*

*Je dédie ce travail*

*À celle qui attend mon retour à chaque jour*

*À ma mère SAIDA : Mon cœur, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence. La source de tendresse aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessés de me donner.*

*À mon père ABD ELDJABBER: Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et qui m'a toujours encouragée et donné en vie d'aller plus loin.*

*Mes chères sœurs et cher frère, THEOUAIBA, IBTIHAL, ABD ELCHAKOUR, qui m'ont soutenu durant les moments difficiles et à qui je souhaite beaucoup de réussite et du bonheur dans leur vie future.*

*Et sans oublier celles qui m'a été d'une aide, en particulier mes collègues, chacun par son nom sans exception, qui je souhaite une bonne réussite.*

*À toute ma famille de près et de loin, tous mes amis, mes connaissances, contribué à ma formation*

*À tous ceux qui sont chers et que j'ai omis involontairement de citer....*

**NABIHA**

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Composition chimique du lait de quelques espèces animales. ....	5
<b>Tableau II:</b> Températures de croissance des bactéries.....	10
<b>Tableau III:</b> pH de croissance des bactéries .....	10
<b>Tableau IV:</b> Les différentes sources de contamination du lait cru.....	17
<b>Tableau V :</b> les dates et les lieux des prélèvements .....	28
<b>Tableau VI:</b> Résultats de l'analyse bactériologique du lait réfrigéré.....	35
<b>Tableau VII:</b> Caractères d'identification biochimique d' <i>Escherichia coli</i> .....	49
<b>Tableau VIII:</b> Evaluation de la contamination globale des laits étudiés : .....	49

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Schéma représente la technique de préparation des dilutions décimales et d'ensemencement .....	30
<b>Figure 2 :</b> Le milieu TSI incliné .....	32
<b>Figure 3 :</b> Evolution de la contamination des 3 laits par la flore aérobique mésophile totale.....	35
<b>Figure 4 :</b> Evolution de la contamination des 3 laits par les coliformes totaux.....	36
<b>Figure 5 :</b> Evolution de la contamination des 3 laits par les coliformes fécaux .....	38
<b>Figure 6 :</b> Evolution de la contamination des 3 laits par les bactéries lactiques .....	39
<b>Figure 7:</b> Evolution de la contamination des 3 laits par la flore psychrotrophe.....	40
<b>Figure 8:</b> Evaluation de la contamination du lait bovin par les différentes flores dénombrées .....	42
<b>Figure 9:</b> Pourcentage de contamination du lait bovin par les cinq flores étudiées .....	43
<b>Figure 10:</b> Evaluation de la contamination du lait camelin par les différentes flores dénombrées .....	44
<b>Figure 11:</b> Pourcentage de contamination du lait camelin par les cinq flores étudiées.....	45
<b>Figure 12:</b> Evaluation de la contamination du lait caprin par les différentes flores dénombrées .....	46
<b>Figure 13:</b> Pourcentage de contamination du lait caprin par les cinq flores étudiées .....	47
<b>Figure 14:</b> Le milieu TSI incliné .....	48
<b>Figure 15:</b> Le milieu TSI après l'incubation .....	48

## Table des matières

### Sommaire

Liste des abréviations .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des figures.....	
Sommaire.....	
Introduction .....	1

### Première partie: Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur le lait

I-Généralités sur le lait .....	4
I-1- Définitions légales du lait.....	4
I-2- Composition du lait .....	4
I-2-1-Eau.....	5
I- 2-2- Matière grasse .....	5

I-2-3-Protéines .....	5
I-2-4- Caséines.....	6
I-2-5-Protéines du lactosérum .....	6
I-2-6-Lactose .....	6
I-2-7-Minéraux .....	6
I-2-8-Vitamines .....	7
I-2-9-Enzymes .....	7
I-3-Valeur nutritionnelle du lait.....	7
I-4- Caractéristiques du lait .....	7
I-4-1- Caractéristiques physico-chimiques.....	7
I-4-1-1- Densité .....	7
I-4-1-2- Point de congélation.....	8
I-4-1-3- Point d'ébullition .....	8
I-4-1-4-Potentiel d'hydrogène (pH) .....	8
I-4-1-5- Acidité titrable .....	8
I-4-1-6- Extrait sec.....	8
I-4-2- Caractéristiques organoleptiques.....	9
I-4-2-1- Couleur.....	9
I-4-2-2- Odeur.....	9
I-4-2-3- Saveur .....	9
I-4-2-4-Viscosité.....	9
I-5- Principaux facteurs qui affectent le développement des germes dans le lait.....	9
I-5-1-Contamination initiale .....	9
I-5-2-Température .....	10
I-5-3-pH.....	10
I-5-4-Potentiel redox.....	11
I-5-5-Activité de l'eau (aw).....	11
I-5-6- Composition en nutriments .....	11
I-6-Residus, Substances et Propriétés Antimicrobiennes.....	11
I-6-1- Résidus éventuellement présents dans le lait .....	11
I-6-2- Substances antimicrobiennes du lait .....	12

## Chapitre II : Microbiologie du lait

II-Microbiologie du lait .....	14
II-1-1 Flore originelle .....	14
II-1-1-1 Bactéries lactiques .....	15
II-1-2 Flore de contamination.....	15
II-1-2-1-Contaminations du lait cru au stade de la production.....	15
II-1-2-1-1-Contamination par l'animal.....	15
II-1-2-1-2-Contamination au cours de la traite.....	16
II-1-2-1-3-Contamination au cours du transport .....	16
II-1-2-1-4-Sources de contamination du lait cru .....	16
II-1-2-2-Flore mésophile aérobie totale.....	17
II-1-3-Flore d'altération .....	18
II-1-3-1- Psychrotrophes (Site internet) .....	18
II-1-3-2-Coliformes totaux .....	18
II-1-3-3-Coliformes fécaux.....	19

II-1-3-4-Flore thermorésistante .....	19
II-1-4- Bactéries pathogènes.....	20
II-1-4-1-Staphylocoques .....	20
II-1-4-2-Salmonelles.....	21
II-1-4-3- <i>Escherichia coli</i> .....	21
II-2-Altération du lait.....	22
II-2-1- Phase de latence (bactériostatique) .....	22
II-2-2- Phase d'acidification .....	22
II-2-3- Phase de neutralisation.....	22
II-2-4- Phase d'alcalinisation .....	22

### **Chapitre III : Conservation du lait**

III : Conservation du lait.....	24
III-1-Définition de la conservation .....	24
III-2- Techniques de conservation de lait .....	24
III-2-1- Conservation par la chaleur .....	24
III-2-1-1- Pasteurisation .....	25
III-2-1-2 Stérilisation.....	25
III-2-2- Conservation par le froid .....	25
III-2-2-1- Réfrigération.....	25
III-2-3-1-1- Action du froid sur les microorganismes.....	26

### **Deuxième partie: Partie expérimentale**

### **Chapitre IV : Matériel et méthodes**

IV : Matériels et méthodes.....	28
IV-1-Les objectifs de cette étude.....	28
IV-2-Prélèvement et échantillonnage .....	28
IV-2-1- Caractéristiques des laits prélevés .....	28
IV-3-Méthodes .....	29
IV-3-1-Analyses microbiologiques du lait .....	29
IV-3-1-1-Préparation des dilutions décimales .....	29
IV-3-1-2-Dénombrement des flores étudiées .....	30
IV-3-1-2-1- Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT) .....	30
IV-3-1-2-2- Dénombrement des coliformes totaux .....	31
IV-3-1-2-3- Dénombrement des coliformes fécaux .....	31
IV-3-1-2-4- Dénombrement des bactéries psychrotrophes .....	31
IV-3-1-2-5- Dénombrement des bactéries lactiques.....	31
IV-3-1-2-6- Recherche d' <i>Escherichiacoli</i> .....	32
IV-3-1-3-Lecture des résultats .....	32

### **Chapitre V : Résultats et discussion**

V :Résultats et discussion .....	35
V-1-Résultats des analyses microbiologiques .....	35
V-1-1-Contamination des trois laits étudiés par les flores dénombrées et recherchées .....	35
V-1-1-1-Contamination des trois laits étudiés par la flore aérobie mésophile totale .....	35
V-1-1-2-Contamination des trois laits étudiés par les coliformes totaux .....	36
V-1-1-3-Contamination des différents laits étudiés par les coliformes fécaux .....	38
V-1-1-4-Contamination des trois laits étudiés par les bactéries lactiques.....	39
V-1-1-5-Contamination des trois laits étudiés par la flore psychrotrophe .....	40



V-1-2-Evaluation de la contamination des laits étudiés par les différentes flores dénombrées	42
V-1-2-1-Evaluation de la contamination du lait bovin par les différentes flores dénombrées.	43
V-1-2-2-Evaluation de la contamination du lait camelin par les différentes flores dénombrées	44
V-1-2-3-Evaluation de la contamination du lait caprin par les différentes flores dénombrées	46
V-1-3-Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	47
V-1-3-1- Test morphologique	47
V-1-3-2- Tests biochimiques	48
V-2- Discussion	49
V-2-1- Flore aérobie mésophile totale	49
V-2-2- Coliformes fécaux	50
V-2-3- Coliformes totaux	50
V-2-4- Flore psychrotrophe	50
V-2-5- Bactéries lactiques	51
V-2-6- <i>Escherichia coli</i>	51
Conclusion	54
Références bibliographiques	57
Annexes	64

# Introduction

### Introduction

Le lait est un aliment très nutritif qui peut être obtenu à partir d'une variété de sources animales, telles que les vaches, les chèvres, les chameaux..., pour la consommation humaine.

En Algérie, le lait est considéré comme un produit de base dans l'alimentation de la population où il occupe une place importante dans la ration alimentaire. Sa consommation est estimée à 3,2 milliard de litres par an avec une production nationale limitée à 2.2 milliard de litres de lait par an dont 1.6 milliard de litres de lait cru (**Transaction d'Algérie, 2010**) et qui ne couvrent que 40% des besoins, le reste est satisfait par l'importation de poudre de lait (**Yakhlaoui et al., 1989**).

La teneur en nutriments élevée des laits, qui comprend des protéines, lipides, glucides, vitamines, minéraux et acides aminés essentiels, tous à un pH proche de la neutralité et à une activité de l'eau élevée, offre un environnement idéal pour la croissance de nombreux microorganismes. Certains de ces nutriments sont directement accessibles à tous les microorganismes, tandis que d'autres sont fournis après le métabolisme des principales composantes qui sont utilisées par d'autres (**Frank, 1997**).

Les microorganismes du lait sont répartis selon leur importance en deux grandes classes à savoir, la flore indigène ou originelle (les bactéries lactiques) et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classes : la flore d'altération (coliformes, les flores thermorésistantes et les psychrotrophes) et la flore pathogène (Staphylocoques, Salmonelles...etc.) (**Vignola, 2002**).

Le lait est un matériau biologique fragile. Il faut rapidement le stabiliser car ses composants ont une tendance naturelle à se séparer. Pour bien conserver cet aliment il y a des techniques parmi lesquels le traitement par le froid qui permet de ralentir, voire arrêter, la prolifération et l'action de micro-organismes, et de conserver le lait pendant une période plus ou moins longue. (**Murielle, 2009**).

La réfrigération correspond à une conservation par le froid positif pendant une durée limitée puisque les produits réfrigérés bénéficient d'une date limite de consommation (DLC). (**Emilie, 2009**). Généralement, la température de réfrigération se situe dans les alentours de 0°C à 4°C.

L'objectif de ce travail est l'étude de la multiplication au cours du temps de quelques bactéries d'altération dans trois laits réfrigérés (bovin, camelin et caprin) provenant de la région de Ouargla et conservés par réfrigération.

Le manuscrit comprend deux parties :

La première partie est consacrée à une étude bibliographique, elle est divisée en trois chapitres le premier : Généralités sur le lait est réservé à la collecte des informations sur la composition et les caractéristiques du lait. Le second : microbiologie du lait est consacré aux germes les plus rencontrés sur ce produit alimentaire. Alors que le troisième chapitre : Conservation du lait.

La deuxième partie, comprend le chapitre Matériel et méthodes dans lequel la méthodologie de travail est expliquée suivi du chapitre : Résultats et discussion dans lequel les résultats de notre étude obtenus sont collectés et par la suite discutés dans un contexte scientifique. Une conclusion et des perspectives achèvent la présente étude.

# Première partie : Synthèse bibliographique



## I-Généralités sur le lait

### I-1- Définitions légales du lait

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.

Le lait est une mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites sans y ajouter ou en soustraire, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (**FAO, 2000**).

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères après la naissance du jeune. C'est un liquide de composition complexe, blanc et opaque, d'une saveur douce, d'une réaction ionique (pH) voisin de la neutralité. La fonction naturelle du lait est d'être un aliment exclusif des jeunes mammifères pendant la période critique de leur existence, après la naissance, alors que la croissance est rapide et qu'il ne peut lui être substitué d'autres aliments. la grande complexité de la composition du lait répond à cette fonction (**Alais, 1984 ; Amiot et al., 2002**).

Le lait est un élément essentiel de la nutrition humaine. Il est une source très essentielle de Ca, P, de la riboflavine, la vitamine B12, et une grande majorité de protéines, sucre, lipides de qualité, avec tous ces éléments nutritifs exige sa nécessité en matière de nutrition humaine (**Kaan-Tekinsen et al., 2007**).

### I-2- Composition du lait

**Franworth et al., (2010)**, évoquent que le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes.

Le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E (**Favier, 1985**).

Il varie également chez une même laitière en fonction de la période de la lactation et de l'alimentation. C'est pour cette raison qu'on ne peut parler que de compositions moyennes. Donnons la composition moyenne du lait des principales femelles laitières.

**Tableau I:** Composition chimique du lait de quelques espèces animales (Alais ,1984).

Animaux /Composition	Eau (%)	Matière grasse %	Protéines (%)	Glucides (%)	Minéraux (%)
Vache	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8
Chamelle	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7
Brebis	81.5	7.4	5.3	4.8	1.0
Chèvre	87.0	3.8	2.9	4.4	0.9
Jument	88.9	1.9	2.5	6.2	0.5

**I-2-1-Eau**

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

Selon **Amiot et al., (2002)**, l'eau à un caractère polaire qui lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. IL en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides.

**I- 2-2- Matière grasse**

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre (**Luquet, 1985**). La matière grasse du lait se composée principalement de triglycérides, de phospholipides et d'une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de  $\beta$  – carotène (**Grappin et Pochet, 1999**).

**Jeantet et al., (2008)**, rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0,1 à 10  $\mu$ m. Elle 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**).

**I-2-3-Protéines**

La majeure partie des protéines du lait est naturellement synthétisée dans les cellules sécrétoires de la glande mammaire. Cependant certaines proviennent de plasmocytes spécialisés, d'autres du sang (**Ribadeau-Dumas et Grappin, 1989 ; Jeantet et al., 2007**).

#### I-2-4- Caséines

**Jean et al., (1993)**, rapportent que la caséine est un polypeptide complexe, résulte de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine. La caséine de calcium, de masse molaire qui peut atteindre 56000 g/mol, forme une dispersion colloïdale dans le lait. Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 µm.

La caséine native a la composition suivante : protéine 94 %, calcium 3 %, phosphore 2,2 %, acide citrique 0,5 % et magnésium 0,1 % (**Adrian et al., 2004**). 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 déstabilisé 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**).

#### I-2-5-Protéines du lactosérum

L'autre fraction protéique (environ 17 %) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la  $\beta$ -lactoglobuline et l' $\alpha$ -lactalbumine (**Cayot et al., 1998**).

**Thapon (2005)**, définit les protéines du lactosérum comme des protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais sont sensibles à la dénaturation thermique.

#### I-2-6-Lactose

**Mathieu (1999)**, évoque que le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. Le lactose est un sucre spécifique du lait (**Hoden et al., 1991**).

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

#### I-2-7-Minéraux

La matière minérale du lait (7 g à 7,5 g /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**). Selon (**Gaucheron, 2005**), 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.

### **I-2-8-Vitamines**

On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) (Jeantet *et al.*, 2008).

### **I-2-9-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 (Veisseyre, 1975).

### **I-3-Valeur nutritionnelle du lait**

Le lait constitue la source unique de lactose dans la nature (Debry, 2001). La présence du lactose dans le tube digestif favorise l'implantation d'une flore de putréfaction, il favorise également l'assimilation du calcium et des matières azotées.

La valeur protéique du lait est excellente grâce à un très bon équilibre en acides aminés indispensables et à une bonne digestibilité des acides aminés. En plus de leur intérêt nutritionnel, indique que le lait a un rôle fonctionnel important de protection contre les agressions grâce à la fourniture des composants protéiques (immunoglobuline) (Debry, 2001).

Les corps gras sont la meilleure source d'énergie, ils confèrent au lait entier la moitié de sa valeur énergétique qui est environ 48 %, ils constituent la forme de mise en réserve de l'énergie. Le coefficient d'utilisation digestif "CUD" des lipides est de l'ordre de 95. La matière grasse laitière est le véhicule des vitamines liposolubles (Luquet, 1986).

La fraction minérale, bien que mineur dans la composition du lait joue un rôle essentiel du point de vue nutritionnel. Elle est caractérisée par sa teneur élevée en calcium liée à la phosphosérine de la caséine (Luquet, 1986). Le calcium joue un rôle positif dans la coagulation du lait par la présure.

### **I-4- Caractéristiques du lait**

#### **I-4-1- Caractéristiques physico-chimiques**

##### **I-4-1-1- Densité**

La densité d'un liquide est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume d'eau. La densité du lait à 15 °C est en moyenne 1,032 (1,028-1,035). Elle est la résultante de la densité de

chacun des constituants du lait et aussi donnée que la matière grasse est le seul constituant qui possède une densité inférieure à 1 (**Vignola, 2002**).

#### **I-4-1-2- Point de congélation**

Le point de congélation du lait est généralement exprimé comme des degrés Hortvet (H). Il est la température de passage de l'état liquide à l'état solide, c'est l'une des constantes les plus stables du lait. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre - 0,54 °C et -0,55 °C (**Kebchaoui, 2013 ; Mathieu, 1998**).

#### **I-4-1-3- Point d'ébullition**

Les constituants du lait dans la solution vraie sont principalement responsables de l'élévation du point d'ébullition au-dessus de 100 °C. A pression atmosphérique normale, le point d'ébullition de l'eau est 100 °C et celui du lait est de 100, 17°C. Comme pour le point de congélation, il est fonction du nombre de particules en solution et par conséquent, il augmente avec la concentration de lait et diminue avec la pression (**Kebchaoui, 2013**).

#### **I-4-1-4-Potentiel d'hydrogène (pH)**

Le lait a une réaction faiblement acide, le pH est compris entre 6,6 et 6,8 ; c'est la conséquence de la présence de la caséine et des ions phosphoriques et citriques (substances acides), les valeurs inférieures à 6,5 ou supérieures à 6,9 sont considérées comme anormales (**Alais, 1984**).

Selon le même auteur, le pH du lait change d'une espèce à l'autre, étant donné les différences de la composition chimique, notamment en caséine et en phosphate.

#### **I-4-1-5- Acidité titrable**

L'acidité titrable indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de 16 °D à 18 D° (°Dornic). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (**Mathieu, 1998**).

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 du lait en présence de phénolphthaléine (**Dieng, 2001**).

#### **I-4-1-6- Extrait sec**

La teneur en extrait sec du lait des différentes espèces de mammifères se situe entre des valeurs extrêmes très éloignées : de 100 à 600 g/l. La cause de ces différences est essentiellement la teneur en matière grasse. Le lait de vache présente un extrait sec total de 125 à 130 g/l (**Alais, 1984**).



**I-4-2- Caractéristiques organoleptiques**

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

**I-4-2-1- Couleur**

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le  $\beta$ -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (**Fredot, 2005**)).

**I-4-2-2- Odeur**

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

**I-4-2-3- Saveur**

La saveur du lait normale frais est agréable. Celle du lait acide est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra mammaire (**Thieulin et al., 1967**).

Le goût sucré (doux) du lactose est équilibré par le goût salé des chlorures et tous les deux sont modérés par des protéines (**Kebchaoui, 2013**).

**I-4-2-4- Viscosité**

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes (**Rhétais, 2010**).

La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques.

**I-5- Principaux facteurs qui affectent le développement des germes dans le lait****I-5-1- Contamination initiale**

L'intensité de la contamination initiale conditionne la rapidité avec laquelle la multiplication bactérienne commence. Plus le nombre initial de germes est élevé, plus la phase de latence de la croissance bactérienne est courte (**Carlier et al., 1984**).

## I-5-2-Température

La température influe la durée de la phase de latence, la vitesse de croissance et le métabolisme des microorganismes. Par exemple, les *Pseudomonas* libèrent plus de protéases et lipases lorsque la température est inférieure à 10°C ; ils altèrent les laits réfrigérés. *Leuconostoc* et *Pediococcus* produisent des dextrans qui donnent un aspect visqueux au lait (Carlier et al., 1984).

Tableau II: Températures de croissance des bactéries (Carlier, 1984).

Bactéries	Minimales (°C)	Optimales (°C)	Maximales (°C)
Thermophiles ( <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> )	35 à 45	55 à 75	60 à 90
Mésophiles (germes pathogènes et d'altération)	5 à 10	30 à 45	35 à 47
Psychrotrophes ( <i>Pseudomonas</i> , levures, moisissures)	-5 à +5	20 à 30	30 à 35
Psychrophiles	-5 à +5	12 à 15	15 à 20

Les germes thermophiles justifient l'intérêt de refroidir rapidement les produits après pasteurisation (ils peuvent survivre à la pasteurisation mais pas à la réfrigération). De même, la réfrigération du lait avant pasteurisation favorise les psychrotrophes qui seront efficacement détruits par la pasteurisation vu leur sensibilité à la chaleur (et les germes thermorésistants auront été inhibés par le froid et les psychrotrophes). La température favorise donc des populations différentes de germes, ainsi dans du lait à 10°C, les streptocoques lactiques sont majoritaires alors qu'à 0°C, les entérobactéries, salmonelles et shigelles dominent (Carlier et al., 1984).

## I-5-3-pH

Le pH a également une influence qui varie avec le type de bactéries.

Tableau III: pH de croissance des bactéries (Carlier, 1984).

Bactéries / Ph	Minimum	Optimum	Maximum
<i>E. coli</i>	4.3	6.0 à 8.0	9 à 10
<i>Salmonella</i>	4.5	6.0 à 7.5	8 à 9
<i>Klebsilla</i>	4.3	6.0 à 8.0	9 à 10
<i>Staphylococcus</i>	4.2	6.8 à 7.5	9.3 à 9.8
<i>Streptococcus</i>	4.2	6.8 à 7.5	9.3 à 9.8

<i>Bacillus</i>	4.2	6.8 à 7.5	9.3 à 9.8
-----------------	-----	-----------	-----------

Les pH basiques (< 4,7) inhibent la germination des spores et la toxinogénèse de *Cl. Botulinum* mais ne détruisent pas la toxine. Les pH inférieurs à 4,6 diminuent la résistance des spores bactériennes. Les pH acides inhibent ainsi les germes de putréfaction au profit des ferments lactiques. Sur des produits très acides comme le yaourt, seules des moisissures et levures pourront s'installer (**Carlier et al., 1984**).

#### I-5-4-Potentiel redox

Le potentiel redox du milieu agit sur les bactéries. En conditionnement imperméable par exemple, l'oxygène est réduit et les aérobies laissent place à une flore lactique (en raison du pH) dont les effets délétères sont très lents. Le produit voit alors sa durée de vie augmenter. Par ailleurs, la croissance bactérienne fait chuter le potentiel redox du milieu (**Carlier et al., 1984**).

#### I-5-5-Activité de l'eau (aw)

Elle correspond à la quantité d'eau libre dans un milieu, et donc disponible pour le développement des micro-organismes. La valeur théorique de l'aw peut varier de 0 (milieu totalement sec) à 1 (eau pure). Tous les micro-organismes n'ont pas les mêmes exigences vis-à-vis de l'aw (rôle par exemple en début d'affinage des fromages). Lorsque les valeurs sont supérieures à 0,95 (cas des pâtes fraîches, des pâtes molles et de certaines pâtes pressées), l'aw a peu d'effet sur les micro-organismes. En dessous de 0,91 (cas des fromages à pâte dure), la plupart des bactéries voient leur croissance inhibée (**Carlier et al., 1984**).

#### I-5-6- Composition en nutriments

Le lait est composé de lactose, d'une grande variété de vitamines, minéraux, acides aminés, protéines, matières grasses... disponibles pour le développement des micro-organismes mais dont la nature et les concentrations peuvent varier dans le temps et en fonction des pratiques d'élevage. Les micro-organismes qui possèdent les systèmes adéquats pour utiliser ces composés seront avantagés par rapport aux autres (**Carlier et al., 1984**).

### I-6-Residus, Substances et Propriétés Antimicrobiennes

#### I-6-1- Résidus éventuellement présents dans le lait

Outre des microorganismes, il peut exister dans le lait des substances inertes mais néanmoins dangereuses pour la consommation humaine. Les résidus les plus fréquents sont les antibiotiques, soit qu'ils aient été administrés à l'animal par voie générale soit qu'ils aient été injectés directement dans le trayon. La présence d'antibiotiques dans le lait pose des problèmes divers (**Carlier et al., 1984**) : d'ordre toxique : le consommateur peut être

allergique à ces molécules d'ordre microbiologique : sélection de germes antibiorésistants  
perturbation des analyses de laboratoire inhibition de ferments utiles pour la transformation  
du lait On peut déceler des résidus de nature différente comme des métaux lourds, des résidus  
d'antiparasitaires, etc. (**Carlier et al., 1984**).

#### **I-6-2- Substances antimicrobiennes du lait**

Il existe naturellement dans le lait des substances qui inhibent la croissance  
bactérienne comme :

- Le lysozyme qui détruit la paroi des Gram +.
- La lactoperoxydase, protéine antibactérienne.
- La lactoferrine qui chélate les métaux bivalents (absorption intestinale du fer).
- La lacténine qui est une agglutinine, anticorps spécifique des bactéries lactiques.
- Des anticorps.
- Des acides gras qui ont une action inhibitrice par abaissement du pH et interférence avec  
le métabolisme microbien (inhibition d'autant plus efficace que la chaîne est longue et  
insaturée) (**Carlier et al., 1984**).

# Chapitre II :

## Microbiologie du lait



## II-Microbiologie du lait

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 qui 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 (**Gabriel et al., 1995**), mais aussi des conditions hygiéniques 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 contaminant, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première (**Adda et al., 1982**).

### II-1-1 Flore originelle

Le lait contient peu des 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**).

### II-1-1-1 Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, dont les vertus se ressemblent, et qui produisent de l'acide lactique comme produit final du processus de fermentation (**Prescott et al., 2010**).

Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le tube digestif de l'Homme. Elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons (**Prescott et al., 2010**).

### II-1-2 Flore de contamination

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

#### II-1-2-1-Contaminations du lait cru au stade de la production

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évaluer 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 le 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**).

##### II-1-2-1-1-Contamination par l'animal

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 (**Boudier et Luquet, 1978**).

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**).

#### II-1-2-1-2-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) (**Lemire, 2007**).

Dans le lactoduc et l'air du lieu de traite, la diversité microbienne est moindre puisque que seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents (**Lemire, 2007**).

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**).

#### II-1-2-1-3-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**).

#### II-1-2-1-4-Sources de contamination du lait cru

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Le lait peut être contaminé par des microbes d'origines diverses :

**Tableau IV:** Les différentes sources de contamination du lait cru (**Hassan et al., 2002**).

Sources	Genres
<b>Personnel</b>	Coliformes, <i>Salmonella</i> , <i>Entérocooccus</i> , <i>Staphylococcus</i>
<b>Air</b>	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebactérium</i> , <i>Bacillus</i> Levure et Moisissures.
<b>Intérieur du pis</b>	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebactérium</i>
<b>Extérieur du pis</b>	<i>Micrococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Entérocooccus</i> , <i>Bacillus</i>
<b>Fèces</b>	<i>Eschérichia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Listéria</i> , <i>Mycobactérium</i> , <i>Salmonella</i> <i>Micrococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i> , Coliformes <i>Clostridium</i> .
<b>Appareil de traite</b>	<i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i>
<b>Litières</b>	<i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>Mycobactérium</i> Levure et Moisissures
<b>Sol</b>	<i>Clostridium</i> , <i>Listéria</i> , <i>Bacillus</i> , Bactérie lactiques Coliformes,
<b>Alimentation</b>	<i>Pseudomonas</i> , <i>Corynebactérium</i> , <i>Alcaligenes</i>
<b>Eau</b>	

### II-1-2-2-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**).

L'évolution de la flore microbienne dans le lait diminue avec l'abaissement de la température, tel que représenté sur un lait pauvre en germes, peut se conserver 3 jours à 4°C. Le 3<sup>ème</sup> jour, le seuil de population bactérienne atteint 10<sup>6</sup> 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<sup>ème</sup> 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**).

### II-1-3-Flore d'altération

La flore d'altération se compose des bactéries et des champignons indésirables apportés par la contamination. Cette flore regroupe les bactéries thermorésistantes, les coliformes, les psychrotrophes, les levures et moisissures (**Dieng, 2001**).

#### II-1-3-1- Psychrotrophes (Site internet)

On rassemble sous le nom de “psychrotrophes” des microorganismes capables de se développer à une température égale ou inférieure à 7°C, quelle que soit leur température optimum de croissance.

Ils peuvent appartenir à des espèces microbiennes mésophiles ou psychrophiles. Dans le lait, les psychrotrophes mésophiles dont la température optimum de croissance se situe entre 20 et 30°C sont les plus nombreux. Leur température à minimale de développement peut être inférieure à 0°C tandis que leur température maximale peut atteindre 40°C.

Parmi les microorganismes psychrotrophes, on trouve des moisissures, des levures et des bactéries appartenant à des genres et à des espèces variées. Ce sont les bactéries qui offrent le plus d'importance du point de vue technologique car elles constituent la flore dominante du lait et sont les plus aptes à s'y développer et à y provoquer des altérations.

La plupart des bactéries psychrotrophes sont aérobies, Gram négatif et non sporulées. Les plus fréquemment rencontrées appartiennent au genre *Pseudomonas*, fluorescens. Celui-ci peut constituer 60 à 75 % parfois plus, de la flore psychrotrophe du lait.

On trouve aussi des espèces appartenant aux genres *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Escherichia*....

On rencontre d'autre part des souches d'espèces bactériennes Gram positif habituellement non psychrotrophes parmi lesquelles des Microcoques et des Streptocoques.

#### II-1-3-2-Coliformes totaux

Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale.

Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35°C afin de produire des colonies rouges avec reflet métallique sur un milieu gélosé approprié (Archibald, 2000 ; Edberg *et al.*, 2000).

### II-1-3-3-Coliformes fécaux

Les coliformes thermo tolérants sont des microorganismes en bâtonnets, ne formant pas de spores, Gram négatifs, oxydase négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, capables de croître en présence de sels biliaires, ou autres agents de surface ayant des propriétés inhibitrices de croissance analogues et capables de fermenter le lactose avec production d'acide (ou d'aldéhyde) et de gaz en 48 heures à la température de 44°C (Christiane, 2010).

L'espèce caractéristique et principale des coliformes fécaux est *Escherichia coli*, qui vit dans les intestins de l'Homme et des animaux à sang chaud. La souche *E. coli* 0157 :H7 peut provoquer de graves maladies transmises par les aliments. Les bovins sont le principal réservoir de cet agent pathogène (Christiane, 2010).

### II-1-3-4-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 (CO<sub>2</sub> 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.

#### **II-1-4- Bactéries pathogènes**

Le lait et les produits laitiers, de même que ceux ayant subi un traitement d'assainissement, peuvent contenir des germes pathogènes pour l'Homme. L'animal, l'Homme et l'environnement peuvent être à l'origine de cette contamination. Différentes espèces bactériennes sont capables de pénétrer dans la mamelle par le canal du trayon et sont excrétées dans le lait. Certains de ces germes en particulier, les streptocoques et staphylocoques, provoquent des mammites avec contamination du lait (**Kagembega, 1984**).

##### **II-1-4-1-Staphylocoques**

Les staphylocoques sont fréquemment retrouvés dans le lait et parfois en nombre important. L'origine de la contamination est la mamelle et plus fréquemment l'Homme. Leur fréquence tend à augmenter du fait de leur antibiorésistance. Ils provoquent, par leur production de toxines thermostables, des intoxications de gravité variable pouvant être redoutables (**Kagembega, 1984**).

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, sont les principaux réservoirs et les germes sont transférés dans les trayons sains à l'occasion de la traite (**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).

#### II-1-4-2-Salmonelles

Ces entérobactéries lactose-, H<sub>2</sub>S + 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 secondes). 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 produits dérivés sont évalués à environ 15% (Cuq, 2007).

#### II-1-4-3- Escherichia coli

Les *Escherichia coli* forment un groupe de bacilles mobiles ou immobiles, à Gram négatif, de la famille des Enterobacteriaceae. Ils peuvent se multiplier à des températures comprises entre 4 °C et 46 °C, avec un optimum de croissance à 37 °C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5. Les *E. coli* qui provoquent la diarrhée, la gastrite aiguë ou la colite de l'Homme sont désignés sous le nom d'*E. coli* pathogènes (Richard Braquehaye. 1985).

Parmi les bactéries pathogènes qui peuvent se retrouver dans le lait cru, certaines y sont habituellement à un très faible niveau et ont peu de chance de s'y développer. D'autres sont à des niveaux appréciables et peuvent se multiplier. C'est le cas, entre autres, d'*E. coli* qui provient généralement de la peau des mamelles (Richard Braquehaye. 1985).

Cette bactérie d'origine fécale peut survivre sur un sol souillé. Son implantation dans le matériel de traite est inhabituelle. Certaines souches, heureusement rarement présentes,



lorsqu'elles sont à un haut niveau dans le lait cru ou dans les fromages, peuvent produire des gastro-entérites dues à la production de toxines.

## **II-2-Altération du lait**

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

### **II-2-1- Phase de latence (bactériostatique)**

Du fait des substances antibactériennes du lait et des bactériocines produites 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**).

### **II-2-2- 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**).

### **II-2-3- 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**).

### **II-2-4- 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**).

# Chapitre III :

## Conservation du lait

**III : Conservation du lait****III-1-Définition de la conservation**

La conservation est l'ensemble des procédés de traitement dont le but est de conserver des aliments, préserver leur comestibilité et leur propriétés gustative et nutritive. Elle implique notamment d'empêcher la croissance des microorganismes et de retarder l'oxydation des graisses qui provoque le rancissement (**Darinmou, 2000**).

La consommation d'aliments frais est toujours préférable car la conservation diminue la valeur nutritive des produits. Autrement dit, les aliments conservés sont moins bons pour la santé que les aliments frais (**Corlien, 2005**).

Deux objectifs attendus par la conservation sont:

La stabilisation de l'aliment assurée par un traitement qui bloque ou freine le développement microbien. S'il s'agit d'un procédé différent de la conservation au froid, on obtient des semi-conserves qui doivent être transportées et stockées à basse température (**Guy, 2007**).

La stérilisation de l'aliment qui consiste à détruire les microorganismes et les enzymes de l'aliment. Elle débouche sur des conserves qui peuvent être transportées et stockées à température ambiante (**Guy, 2007**).

**III-2- Techniques de conservation de lait**

Les aliments nécessitent, pour être conservés efficacement, une étape de contrôle de leurs biochimies, cela concerne autant les viandes que les poissons, les fruits et légumes que les laitages : il s'agit d'empêcher le développement des bactéries, champignons et autres micro-organismes, et de retarder leur rancissement et autolyse. Pour vivre et proliférer, les micro-organismes ont besoin : De nourriture (carbone, azote, soufre, vitamines, sels minéraux, etc.), d'eau sous forme libre : activité de l'eau qui ne représente pas la teneur en eau (ou humidité) mais bien la disponibilité de cette eau, de chaleur, et d'oxygène (sauf pour les bactéries anaérobies).

Toutes les techniques de conservation ont pour but de priver les germes de l'accès à un de ces éléments. Une fois la privation réalisée, le maintien dans cet état empêche le processus de dégradation de reprendre, cela s'applique par des règles d'hygiène alimentaire et par un emballage protecteur.

**III-2-1- Conservation par la chaleur**

Pour une conservation assez longue, les procédés utilisant la chaleur sont les plus utilisés

**III-2-1-1- Pasteurisation**

Les aliments sont soumis à une température inférieure à 100 °C puis ils sont tout de suite refroidis, ce qui a pour but de détruire les micro-organismes. Cette méthode vise à préserver les caractéristiques organoleptiques des aliments.

**III-2-1-2 Stérilisation**

Les aliments sont soumis à une température supérieure à 100 °C, ce qui détruit toute forme microbienne possible.

**III-2-2- Conservation par le froid**

Les procédés de conservation par le froid ont pour but d'arrêter ou ralentir l'activité cellulaire, les réactions enzymatiques et le développement des micro-organismes. Les aliments ont ainsi une durée de vie plus longue, mais il ne faut surtout pas oublier que les micro-organismes ne sont pas détruits et qu'à tout moment (lors d'un retour à une température favorable à leur développement par exemple) ils peuvent proliférer.

**III-2-2-1- Réfrigération**

C'est le refroidissement par un moyen artificiel, d'un produit alimentaire, sans que soit atteint son point de congélation. Utilisant le froid proche de zéro (niveau auquel l'eau du produit ne se congèle pas) et permettant des conservations limitées, cette technique impose une chaîne du froid contraignante. Elle est cependant très utilisée et se développe par l'apparition de produits élaborés dont la qualité est synonyme de traitement thermique modéré entraînant une conservation au froid.

La réfrigération tend à conserver les aliments dans un état très voisin de leur état initial en ralentissant les réactions chimiques et enzymatiques et en retardant la multiplication des microorganismes.

Elle freine les mécanismes de dégradation de la matière, vivante ou non, et le métabolisme cellulaire des organes vivants (activité respiratoire, croissance, maturation).

Elle retarde la prolifération des populations microbiennes, mais ne détruit qu'un nombre limité de germes. La contamination initiale des produits joue donc un rôle important, toute remontée de température, même de courte durée, entraînant une réactivation du développement des microorganismes.

La réfrigération doit donc être appliquée à un produit sain, intervenir rapidement et ne pas subir d'interruption depuis la récolte jusqu'à la consommation. La durée de conservation reste, en tout état de cause, limitée. Elle est variable d'un produit à un autre.

Pour le lait et les produits laitiers : il faut distinguer les produits ultra-frais, pour lesquels la consigne est de 4 °C et les fromages où les consignes sont très variables suivant le

type de fromage et surtout, suivant l'affinage (les produits à pâte dure tolérant des températures plus élevées).

**III-2-3-1-1- Action du froid sur les micro-organismes**

Les températures positives vont agir sur la vitesse de développement des microorganismes.

- La réfrigération diminue la vitesse de croissance des microorganismes.
- La réfrigération diminue la vitesse de démarrage (augmente la phase de latence) ;
- La réfrigération sélectionne les bactéries psychrophiles ;

Le froid ne tue pas les micro-organismes : il ne fait que ralentir leur développement.

Deuxième partie :

Partie expérimentale

**IV : Matériel et méthodes****IV-1-Les objectifs de cette étude**

Les objectifs de cette étude sont :

- Suivre l'évolution au cours de la réfrigération de certaines flores bactériennes reconnues pour leur pouvoir de provoquer des altérations du lait cru et conservé par réfrigération, par le dénombrement de ces flores, à savoir : La flore aérobique mésophile totale, les coliformes fécaux, les coliformes totaux, les bactéries psychrotrophes et les bactéries lactiques.
- Faire une étude comparative sur l'évolution de ces flores dans trois types de lait provenant de espèces animales : bovine, cameline et caprine, de la région de Ouargla.

**IV-2-Prélèvement et échantillonnage**

Les échantillons du lait ont été aseptiquement prélevés à partir des trois types espèces animales : cameline, bovine et caprine, élevées dans la région de Ouargla.

Le lait est prélevé aseptiquement dans des flacons en verre de 250 ml stériles. Pour ne pas influencer la charge initiale de ces laits en microorganismes, le transport des échantillons vers le laboratoire est réalisé sous froid dans une glacière iso thermique.

Les analyses microbiologiques sont réalisées aux laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Kasdi-Merbah-Ouargla. Les échantillons ont été soigneusement étiquettes (lieu et date de prélèvement...).

**IV-2-1- Caractéristiques des laits prélevés**

**Tableau V : les dates et les lieux des prélèvement**

<b>Échantillon</b>		<b>La date de prélèvement</b>	<b>Le lieu de prélèvement</b>
<b>Lait camelin</b>	<b>1</b>	03/03/2021	Ouargla
	<b>2</b>	09/03/2021	Ouargla
	<b>3</b>	09/03/2021	Ouargla
<b>Lait caprin</b>	<b>1</b>	04/03/2021	Ouargla
	<b>2</b>	06/03/2021	Ouargla
	<b>3</b>	11/03/2021	Ouargla
<b>Lait de bovin</b>	<b>1</b>	03/03/2021	Ouargla
	<b>2</b>	09/03/2021	Ouargla
	<b>3</b>	11/03/2021	Ouargla

Pour réaliser notre étude, 3 types de laits crus réfrigérés sont prélevés chez des éleveurs localisés dans la région de Ouargla. Les prélèvements sont réalisés après la traite

mais provenant de lait collecté plusieurs femelles dans un grand récipient utilisé pour cet usage (Tableau V).

### **IV-3-Méthodes**

#### **IV-3-1-Analyses microbiologiques du lait**

Le contrôle de la qualité microbiologique de nos aliments reste indispensable car il permet d'éviter la commercialisation et la consommation de produits dangereux ou non conformes. Ceci se fait par des analyses règlementées et régit par des normes (nationales ou internationales) qui souvent imposent que l'aliment soit exempt de tous germes pathogènes ou de toxines microbiennes et que la flore totale soit peu abondante.

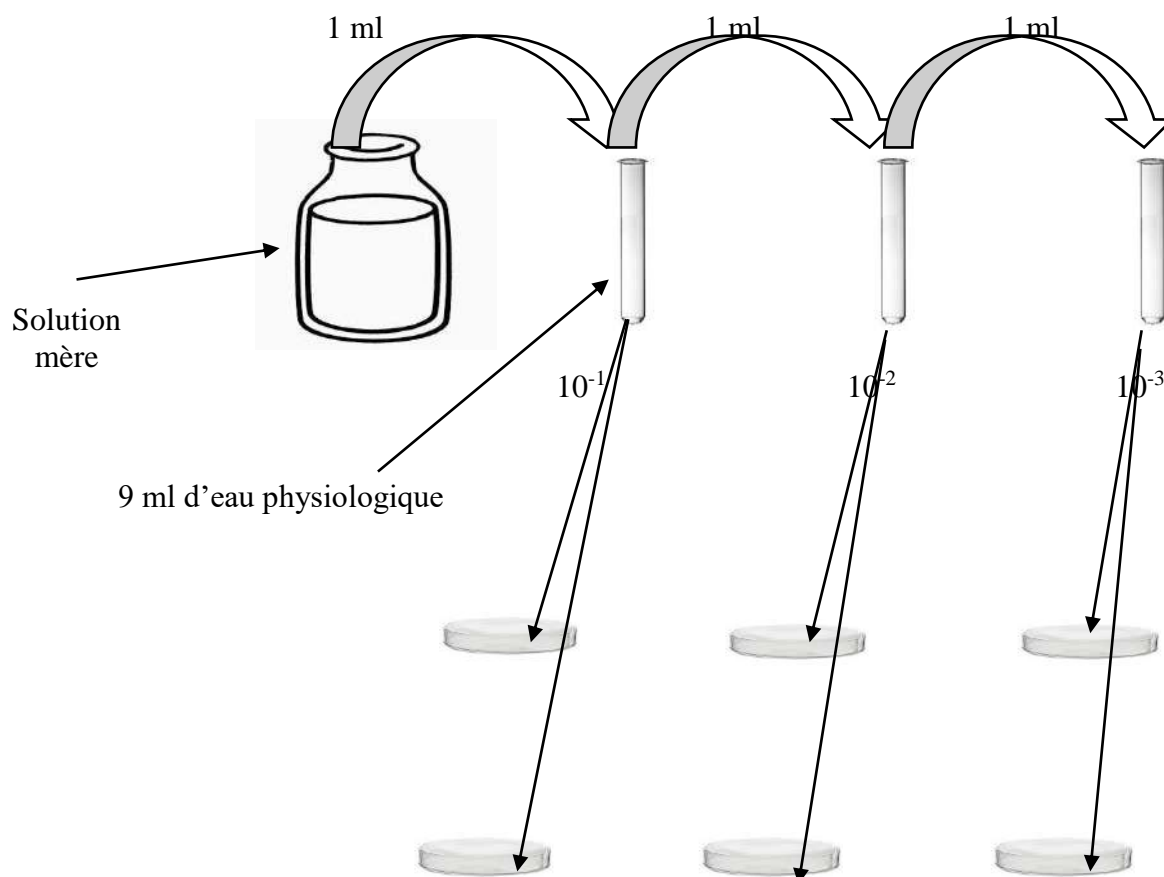
La qualité sanitaire du produit fini se base sur la numération des germes totaux (FTAM et coliformes totaux), les germes indicateurs d'une contamination fécale qui sont les coliformes fécaux (souvent associés aux pathogènes tels que : *Salmonella* et *Shigella*), streptocoques fécaux (ou entérocoques), les germes indologènes, les germes indicateurs d'une contamination tellurique (sol) comme les anaérobies sulfito-réducteurs ainsi que la recherche des germes ubiquitaires et d'origine humaine ou animale comme *Staphylococcus aureus*.

Pour notre étude, la recherche et le dénombrement de certaines flores bactériennes sont faites sur les 3 types de laits étudiés (bovin, camelin, et caprin) au cours de leur conservation par réfrigération.

##### **IV-3-1-1-Préparation des dilutions décimales**

Les dilutions décimales successives sont préparées à partir de la solution mère, dans des conditions d'aseptie (devant bec Bunsen). En utilisant des pipettes, stériles. Après avoir mis 9 ml de diluant (l'eau physiologique) dans une série de tubes à essai stériles. 1ml de la solution mère ou de la dilution décimale précédente, après homogénéisation, est transféré aseptiquement dans le tube de dilution décimale suivante. Ceci permet d'obtenir une précision maximale. La pipette ne doit pas toucher ni les parois des tubes, ni le liquide diluant utilisé et entre deux dilutions la pipette doit être changée (Figures 1) (**Guiraud et Rosec, 2004**).





**Figure 1:** Schéma représente la technique de préparation des dilutions décimales et d'ensemencement

#### IV-3-1-2-Dénombrement des flores étudiées

##### IV-3-1-2-1- Dénombrement de la flore aérobique mésophile totale (FAMT)

La flore aérobique mésophile totale est appelée aussi : la flore aérobique mésophile revivifiable (FAMT) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que l'état de propreté des installations.

Le dénombrement des FTAM est réalisé en mettant 1 ml de chaque dilution décimale au centre de la boîte de pétri puis on fait couler environ 15 ml de la gélose PCA préalablement fondue et refroidie à  $45 \pm 1^\circ\text{C}$  (Guiraud, 1998).

On mélange soigneusement l'inoculum dans le milieu de culture et on laisse ces boîtes sur la pailasse jusqu'à solidification du milieu de culture. La flore est dénombrée après 48 heures d'incubation à  $37^\circ\text{C}$  (Guiraud, 1998).

**IV-3-1-2-2- Dénombrement des coliformes totaux**

Les coliformes sont des micro-organismes d'altération. Leur présence indique une faute d'hygiène relevant soit d'une mauvaise qualité du lait utilisé, soit de la malpropreté du matériel de fabrication (**Larpent, 1997**).

Le dénombrement des coliformes totaux a été fait sur le milieu solide : V.R.B.L (violet cristal rouge neutre bile glucosée) avec un ensemencement en masse de 1 ml de chaque dilution décimale, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures couvercles en bas (**Briki ; Mekhermeche, 2017**).

**IV-3-1-2-3- Dénombrement des coliformes fécaux**

La numération des coliformes fécaux est effectuée sur le milieu VRBL avec un ensemencement en masse et une lecture après 48 heures d'incubation à 44°C des boîtes de pétrie couvercles en bas (**Briki ; Mekhermeche, 2017**).

**IV-3-1-2-4- Dénombrement des bactéries psychrotrophes**

Les bactéries psychrotrophes 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**).

On introduit 1 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri (deux boîtes de Pétri sont ensemencées par dilution), puis on verse environ 12 ml de gélose PCA en surfusion 46-47°C. On mélange l'inoculum avec le milieu. On laisse solidifier puis on incube pendant 5 à 10 jours à une température 5°C (**Guiraud, 1998**).

**IV-3-1-2-5- Dénombrement des bactéries lactiques**

Le dénombrement des bactéries lactiques est effectué sur le milieu de Man Rogosa et Sharpe (MRS) (**Guiraud, 1997**).

L'ensemencement est réalisé en masse par la solution mère et les dilutions décimales. L'incubation à 37°C pendant 48h (**Larpent, 1997**).

Pour confirmer l'appartenance des bactéries cultivées sur MRS à la flore lactique, les colonies obtenues seront soumises à une coloration de Gram (Annexe III) et au test catalase.

**a) La coloration de Gram (Larpent, 1990)**

La coloration de Gram est une coloration classique en microbiologie. Elle permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries de Gram négatifs (Gram<sup>-</sup>) et les bactéries Gram positives (Gram<sup>+</sup>). Celles-ci diffèrent par la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, ou la présence d'une membrane externe.

**b) Test de catalase (Marchal *et al.*, 1991)**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation de peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $1/2 \text{ O}_2$ .



La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à G+ (Annexe IV).

**Les bactéries lactiques sont des coques ou des bacilles, Gram positif et catalase négative.**

#### IV-3-1-2-6- Recherche d'*Escherichia coli*

A partir des colonies des coliformes fécaux, on réalise l'identification d'*E. coli* par des tests morphologiques et biochimiques, qui se résument aux tests suivants :

##### a) Tests morphologiques

La forme des cellules bactériennes est déterminée par leur observation microscopique à la suite d'une coloration de Gram (Annexe III).

##### b) Tests biochimiques (TSI)

Fermentation de glucose et de lactose et de production de gaz sur le milieu TSI :

A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, ensemençer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées. Incuber ces tubes à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 h de manière à favoriser les échanges gazeux (Figure 4) (Cuq, 2007).



**Figure 2 : Le milieu TSI incliné**

##### Lecture

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification virage au jaune du rouge de phénol. La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

- Fermentation de glucose : culot jaune.
- Fermentation de lactose : pente inclinée jaune.
- Production de gaz : apparition de gaz dans le culot.

**IV-3-1-3-Lecture des résultats**

On ensemence deux boîtes par dilution, les boîtes contenant plus de 300 colonies et moins de 15 colonies sont écartées. Le calcul du nombre de microorganismes par millilitre du lait se fait selon la formule pour tous les microorganismes qui ont été recherchés (**Guiraud, 1998**).

$$N = \Sigma c / (v (n_1 + 0.1n_2) d_1) \text{ ufc/ml}$$

- C : est la somme des colonies comptées dans la première et deuxième dilution.
- V ml : volume de solution déposée
- N : nombre total des colonies dans toutes les boîtes.
- 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.

# Chapitre V :

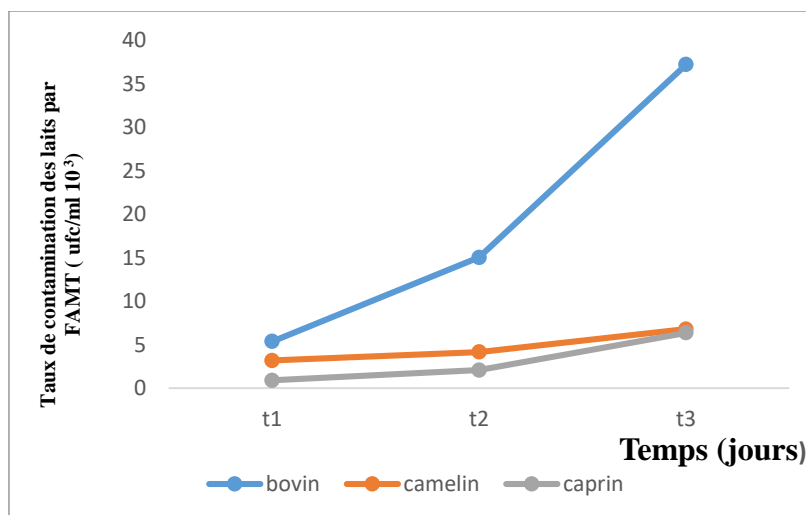
## Résultats et discussion

**V : Résultats et discussion****V-1-Résultats des analyses microbiologiques**

Les résultats des analyses microbiologiques des laits analysés exprimés en ufc/ml sont présentés, dans les tableaux (Annexe II). Ils représentent la charge en différentes microflores recherchées dans les laits réfrigérés analysés. Les photos des résultats dans (l'annexe V).

**Tableau VI:** Résultats de l'analyse bactériologique du lait réfrigéré (Guiraud, 2003).

Germes	Aspect des colonies
FAMT (PCA)	Présence des colonies de couleur blanche de différente taille
Coliformes totaux (VRBL)	Présence des colonies rouges
Coliformes fécaux (VRBL)	Présence des colonies rouges
Flores psychrotrophes (PCA)	Des colonies jaunes
Bactéries lactiques (MRS)	Présence des colonies jaunes

**V-1-1-Contamination des trois laits étudiés par les flores dénombrées et recherchées****V-1-1-1-Contamination des trois laits étudiés par la flore aérobie mésophile totale**

**Figure 3 :** Evolution de la contamination des 3 laits par la flore aérobie mésophile totale

**A- Lait bovin**

D'après les résultats consignés dans la figure 5, le lait bovin présente un niveau de contamination minimale de l'ordre de  $5.36 \times 10^3$  ufc/ml le premier jour et un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $3.72 \times 10^4$  ufc/ml après 3 jours de réfrigération.

La moyenne des taux de contamination des échantillons analysés, par la FAMT est de l'ordre de  $1.91 \times 10^4 \pm 16.33$  ufc/ml.

**B- Lait camelin**

Pour les échantillons prélevés du lait camelin étudiés, les taux de contamination par la FAMT enregistrés dans la figure 5, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre

de  $3.17 \times 10^3$  ufc/ml le premier jour, ensuite la charge en cette flore augmente pour tous les échantillons prélevés le même jour et provenant du même cheptel pour atteindre un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $6.78 \times 10^3$  ufc/ml le troisième jour de conservation par réfrigération.

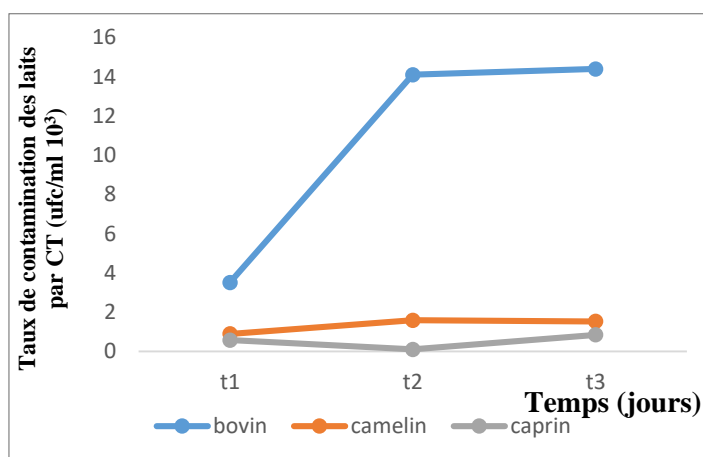
La moyenne des taux de contamination de ces échantillons est de  $4.7 \times 10^3 \pm 1.86$  ufc/ml.

### C- Lait caprin

Pour la flore aérobie mésophile totale, les échantillons prélevés du lait caprin, dont les résultats sont notés dans la figure 5, un niveau de contamination minimale de l'ordre de  $0.90 \times 10^3$  ufc/ml est enregistré le premier jour du prélèvement. Après une durée de conservation de 3 jours par réfrigération des échantillons du lait caprin, on note une hausse dans le nombre de ces germes pour atteindre un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $6.36 \times 10^3$  ufc/ml. Sachant que la moyenne arithmétique des taux de contamination de l'ensemble des prélèvements de ce lait et provenant du même cheptel est de l'ordre de  $3.11 \times 10^3 \pm 2.87$  ufc/ml.

Cette flore suit la même cinétique pour les trois types de laits étudiés. On note que le lait caprin représente les charges les plus élevées dès le premier jour, et que le lait bovin est le moins contaminé par la flore aérobie mésophile totale. Ceci peut être expliqué par le mode de traite utilisé pour chaque espèce animale et par le degré de respect des conditions d'hygiène du personnel et du matériel utilisé pour la traite des animaux.

#### V-1-1-2-Contamination des trois laits étudiés par les coliformes totaux



**Figure 4 :** Evolution de la contamination des 3 laits par les coliformes totaux

### A- Lait bovin

D'après les résultats obtenus pour le dénombrement des coliformes totaux dans le lait bovin, on remarque que les échantillons de ce lait prélevés du même troupeau présentent un

niveau de contamination minimale de l'ordre de  $3.51 \times 10^3$  ufc/ml le premier jour. Cette flore augmente rapidement durant le deuxième au cours de la réfrigération pour arriver à un niveau de contamination maximale de  $1.44 \times 10^4$  ufc/ml, puis on note une stabilisation en charge de cette flore le troisième jour. La moyenne des taux de contamination de tous les échantillons analysés, par les CT est de l'ordre de  $1.06 \times 10^4 \pm 6.20$  ufc/ml (Figure 6).

#### **B- Lait camelin**

Pour les échantillons prélevés du lait camelin étudié, les taux de contamination par les CT, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de  $0.89 \times 10^3$  ufc/ml comme charge initiale comptée le premier jour du prélèvement. Une légère augmentation en cette flore est enregistrée après 24h de réfrigération suivi d'une légère chute le troisième jour. Après une réfrigération de 2 jours la charge en ces bactéries croît et arrive à un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $1.58 \times 10^3$  ufc/ml. La moyenne des taux de contamination de ce lait par cette flore pour l'ensemble des échantillons et durant les 3 jours de réfrigération est de l'ordre de  $1.33 \times 10^3 \pm 0.38$  ufc/ml (Figure 6).

#### **C- Lait caprin**

Pour les coliformes totaux, les échantillons prélevés du lait caprin, dont les résultats sont enregistrés par la figure G, montrent un niveau de contamination initiale et en même temps minimale de l'ordre de  $0.09 \times 10^3$  ufc/ml. La charge en ces germes évolue au cours de la réfrigération et après 2 jours de conservation elle atteint un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $0.84 \times 10^3$  ufc/ml. On note une chute dans le nombre de ces germes à t2 (après une réfrigération d'un jour), suivi d'une légère augmentation à t3, La moyenne arithmétique des taux de contamination des tous prélèvements pendant la durée de conservation est de l'ordre de  $0.50 \times 10^3 \pm 0.37$  ufc/ml.

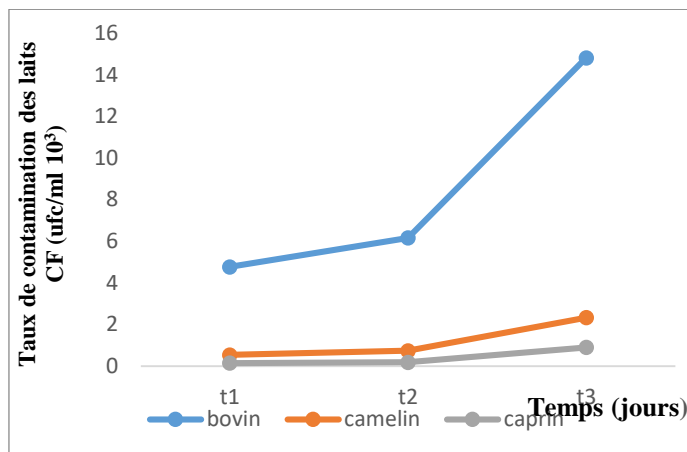
La charge en coliformes totaux des échantillons des laits provenant des 3 espèces animales : bovine, cameline et caprine ne suit le même profil de cinétique au cours de la réfrigération. Une augmentation rapide du nombre de ces germes est enregistrée le premier jour de conservation pour le lait bovin, alors qu'une légère variation est notée pour le lait camelin et le lait caprin.

Le lait bovin est le plus contaminé dès le premier jour de prélèvement suivi par le lait camelin, alors que le lait caprin montre la charge la plus faible en coliformes totaux.

Cette différence dans l'évolution de cette flore pour les lait peut être due en premier lieu au degré du respect des conditions d'hygiène dans les locaux d'élevage de ces animaux, le matériel utilisé lors de la traite ainsi que l'hygiène corporelle des intervenant dans cette tâche.



### V-1-1-3-Contamination des différents laits étudiés par les coliformes fécaux



**Figure 5 :** Evolution de la contamination des 3 laits par les coliformes fécaux

#### A- Lait bovin

Pour les échantillons prélevés du lait bovin étudié, les taux de contamination par les CF enregistrés dans la figure 7, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de  $4.77 \times 10^3$  ufc/ml le premier jour, ensuite la charge en cette flore augmente pour les échantillons prélevés le même jour et provenant du même cheptel pour atteindre un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $1.48 \times 10^4$  ufc/ml le troisième jour de conservation par réfrigération. On note que la charge en cette flore augmente d'une manière très rapide durant le troisième jour de conservation. La moyenne des taux de contamination de ces échantillons est de  $8.58 \times 10^3 \pm 5.43$  ufc/ml.

#### B- Lait camelin

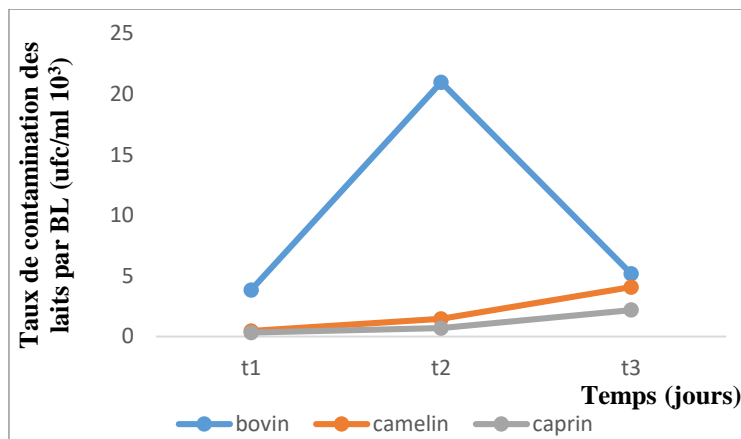
D'après les résultats consignés dans la figure 7, le lait camelin présente un niveau de contamination minimale de l'ordre de  $0.54 \times 10^3$  ufc/ml le premier jour et un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $2.33 \times 10^3$  ufc/ml après 3 jours de réfrigération. La charge de ce lait en cette flore montre de légères variations au cours du temps. La moyenne des taux de contamination des 03 échantillons analysés, par les coliformes fécaux est de l'ordre de  $1.20 \times 10^3 \pm 0.98$  ufc/ml.

#### C- Lait caprin

Les échantillons prélevés du lait caprin, dont les résultats sont enregistrés par la figure 7, montrent un niveau de contamination initiale et en même temps minimale de l'ordre de  $0.15 \times 10^3$  ufc/ml. La charge en ces germes évolue très lentement au cours de la réfrigération et après 3 jours de conservation elle atteint un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $0.90 \times 10^3$  ufc/ml. La moyenne arithmétique des taux de contamination des tous prélèvements pendant la durée de conservation est de l'ordre de  $0.41 \times 10^3 \pm 0.42$  ufc/ml.

On note que le lait de bovin représente les charges les plus élevées dès le premier jour, et que le lait caprin est le moins contaminé par les coliformes fécaux. Cette flore ne suit pas la même cinétique pour les trois types de laits étudiés au cours de la réfrigération.

#### V-1-1-4-Contamination des trois laits étudiés par les bactéries lactiques



**Figure 6 :** Evolution de la contamination des 3 laits par les bactéries lactiques

##### A- Lait bovin

D'après les résultats obtenus pour le dénombrement des bactéries lactiques dans le lait bovin, on remarque que les trois échantillons de ce lait prélevés du même troupeau présentent un niveau de contamination minimale de l'ordre de  $3.84 \times 10^3$  ufc/ml le premier jour. Cette flore augmente au cours de la réfrigération pour arriver à un niveau de contamination maximale de  $2.09 \times 10^4$  ufc/ml le deuxième jour. Au-delà de cette durée, la charge en cette flore chute très rapidement pour atteindre une valeur de  $5.18 \times 10^3$  ufc/ml le troisième jour. La moyenne des taux de contamination de tous les échantillons analysés, par les BL est de l'ordre de  $1 \times 10^4 \pm 9.53$  ufc/ml dans la Figure 8.

##### B- Lait camelin

Pour les échantillons prélevés du lait camelin étudié, les taux de contamination par les BL, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de  $0.45 \times 10^3$  ufc/ml comme charge initiale comptée le premier jour du prélèvement. Après une réfrigération de 3 jours la charge en ces bactéries croît et arrive à un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $4.07 \times 10^3$  ufc/ml. La moyenne des taux de contamination de ce lait par cette flore pour l'ensemble des échantillons et durant les 3 jours de réfrigération est de l'ordre de  $1.99 \times 10^3 \pm 1.86$  ufc/ml. Sachant que ce lait montre de légères variations dans la charge en cette flore au cours de la réfrigération (Figure 8).

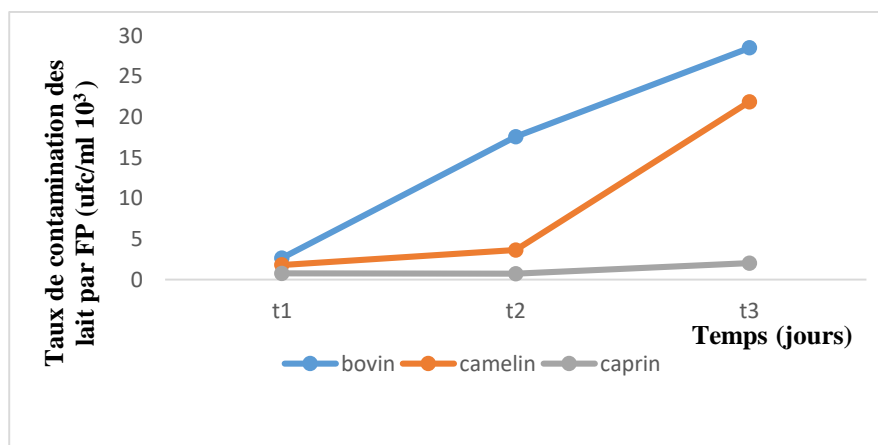
### C- Lait caprin

Les échantillons prélevés du lait caprin, dont les résultats sont notés dans la figure 8, montrent un niveau de contamination minimale de l'ordre de  $0.32 \times 10^3$  ufc/ml enregistré le premier jour du prélèvement. Après une durée de conservation de 3 jours par réfrigération des échantillons de ce lait, on note une augmentation dans le nombre de ces germes pour atteindre un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $2.19 \times 10^3$  ufc/ml. Sachant que la moyenne arithmétique des taux de contamination des trois prélèvements de ce lait et provenant du même cheptel est de l'ordre de  $1.06 \times 10^3 \pm 0.99$  ufc/ml.

La charge en bactéries lactiques des échantillons de lait provenant des 3 espèces animales : bovine, cameline et caprine ne suit pas le même profil de cinétique au cours de la réfrigération. Une augmentation rapide du nombre de ces germes est enregistrée dès le premier jour de conservation pour le lait bovin suivi d'une chute rapide en cette flore entre le deuxième et le troisième jour alors que pour les deux autres laits une augmentation progressive et lente est enregistrée. Le lait bovin est le plus contaminé dès le premier jour de prélèvement suivi par le lait camelin alors que le lait caprin montre la charge la plus faible en bactéries lactiques.

A la lumière des résultats prélevés par cette étude on note que le lait bovin porte la plus haute charge en bactéries lactiques dès le premier jour de sa collecte, mais cette charge chute au cours du temps. Ceci peut être expliqué par l'effet antagoniste des bactéries lactiques qu'elles exercent entre elles et en vers les autres flores existantes dans ce lait.

#### V-1-1-5-Contamination des trois laits étudiés par la flore psychrotrophe



**Figure 7 :** Evolution de la contamination des 3 laits par la flore psychrotrophe

### A- Lait bovin

Pour les échantillons prélevés du lait bovin étudié, les taux de contamination par la flore psychrotrophe enregistrés dans la figure 9, montrent un niveau de contamination

minimale de l'ordre de  $2.64 \times 10^3$  ufc/ml le premier jour, ensuite la charge en cette flore augmente rapidement pour atteindre un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $2.85 \times 10^4$  ufc/ml le troisième jour de conservation par réfrigération. La moyenne des taux de contamination de ces échantillons est de  $1.62 \times 10^4 \pm 12.98$  ufc/ml.

#### B- Lait camelin

D'après les résultats consignés dans la figure 9, le lait camelin présente un niveau de contamination minimale de l'ordre de  $1.80 \times 10^3$  ufc/ml le premier jour et un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $2.18 \times 10^4$  ufc/ml après 3 jours de réfrigération. Sachant qu'une remarquable augmentation est enregistrée entre le deuxième et le troisième jour de réfrigération La moyenne des taux de contamination des 03 échantillons analysés, par la flore psychrotrophe est de  $9.10 \times 10^3 \pm 8.12$  ufc/ml.

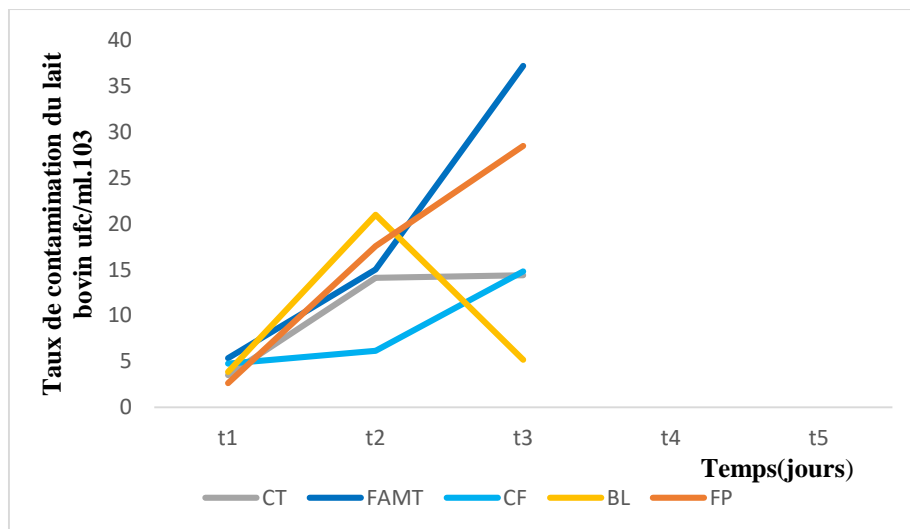
#### C- Lait caprin

Les échantillons prélevés du lait caprin, dont les résultats sont enregistrés par la figure 9, montrent un niveau de contamination initiale et en même temps minimale de l'ordre de  $0.71 \times 10^3$  ufc/ml. La charge en ces germes évolue très lentement au cours de la réfrigération et après 3 jours de conservation elle atteint un niveau de contamination maximale de l'ordre de  $2.01 \times 10^3$  ufc/ml. La moyenne arithmétique des taux de contamination des tous prélèvements pendant la durée de conservation est de l'ordre de  $1.16 \times 10^3 \pm 0.73$  ufc/ml.

Cette flore ne suit pas la même cinétique pour les trois types de laits étudiés. On note que le lait bovin représente les charges les plus élevées dès le premier jour suivi d'une augmentation rapide en cette flore le deuxième et le troisième jours, et que la charge de lait camelin augmente rapidement durant le troisième jour de conservation. Sachant que le lait caprin est le moins contaminé par la flore psychrotrophe. Ceci peut être expliqué par le matériel utilisé pour la traite des animaux.

### V-1-2-Evaluation de la contamination des laits étudiés par les différentes flores dénombrées

#### V-1-2-1-Evaluation de la contamination du lait bovin par les différentes flores dénombrées



**Figure 8 :** Evaluation de la contamination du lait bovin par les différentes flores dénombrées

#### A- Flore aérobie mésophile totale

A l'issu des résultats obtenus, après le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale dans le lait bovin, on note que dès le premier jour du prélèvement les échantillons ont tous montré la charge la plus élevée en cette flore comparé  $3.72.10^4$  ufc/ml comparé aux autres flores dénombrées sur ce même lait et dans les mêmes conditions d'étude.

Donc cette flore est prédominante pour ce type de lait, La moyenne des taux de contamination calculée pour l'ensemble des prélèvements est de l'ordre de  $1.91 \times 10^4 \pm 16.33$  ufc/ml (Figure 10).

#### B- Coliformes totaux

D'après les résultats des analyses bactériologiques du lait bovin, on remarque que les coliformes totaux représentent une flore abondante dans ce lait après la flore totale, les psychrotrophes et les bactéries lactiques. Le taux le plus élevé enregistré en cette flore est de  $1.44 \times 10^4$  ufc/ml. La moyenne en cette flore pour tous les échantillons analysés est de  $1.06 \times 10^4 \pm 6.20$  ufc/ml (Figure 10).

#### C- Coliformes fécaux

D'après les résultats consignés dans la figure 10, les coliformes fécaux passent d'une charge initiale de  $4.77 \times 10^3$  ufc/ml à une charge de  $1,48 \times 10^4$  ufc/ml. La moyenne des taux de contamination des échantillons analysés, par les coliformes fécaux est de l'ordre de  $8.58 \times 10^3 \pm 5.43$  ufc/ml.

Cette flore est moins représentée sur ce lait que les bactéries lactiques, la flore psychrotrophe, et la flore aérobie mésophile totale.

#### D- Flore psychrotrophe

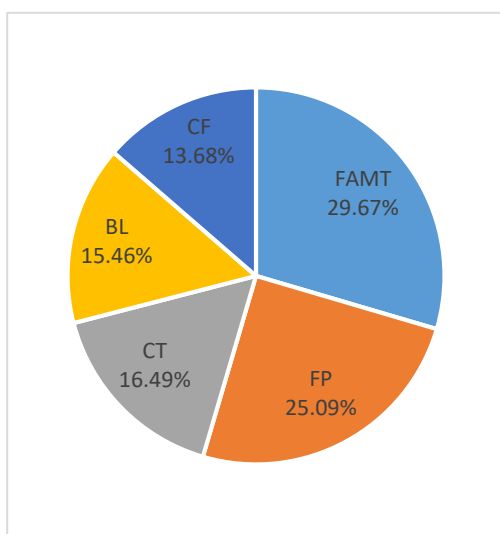
D'après les résultats consignés dans la figure 10, on note que les psychrotrophes dès le premier jour du prélèvement les échantillons ont tous montré la charge plus élevée en cette flore comparé  $2.64.10^3$  ufc/ml aux autres flores dénombrées sur le lait bovin après la flore aérobie mésophile totale. La moyenne en cette flore pour tous les échantillons analysés est de  $1.62 \times 10^4 \pm 12.98$  ufc/ml (Figure 10).

#### E- Bactéries lactiques

Pour les bactéries lactiques, après leur dénombrement dans le lait bovin, cette flore passe d'une charge initiale de  $3.84 \times 10^3$  ufc/ml à une charge de  $2.09 \times 10^4$  ufc/ml. La moyenne des taux de contamination des échantillons analysés, par les BL est de l'ordre de  $1 \times 10^4 \pm 9.53$  ufc/ml.

Cette flore est moins représentée sur ce lait que, les coliformes totaux, la flore psychrotrophe, et la flore aérobie mésophile totale. (Figure 10).

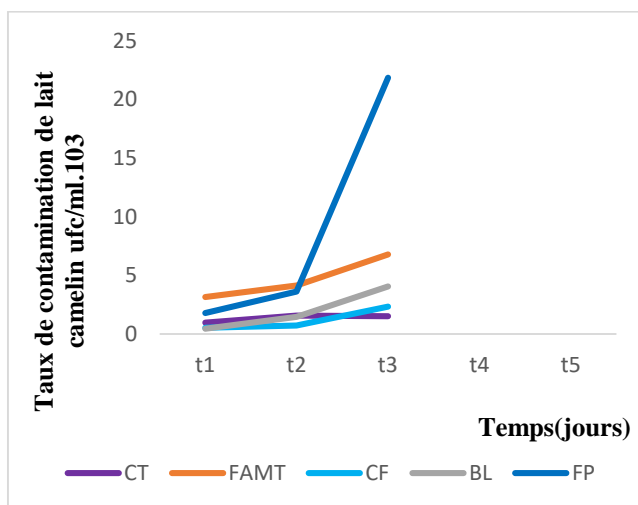
#### Le pourcentage de contamination de lait bovin par les cinq flores dénombrées



**Figure 9 :** Pourcentage de contamination du lait bovin par les cinq flores étudiées

Pour le lait bovin étudié la FAMT est la flore prédominante pour tous les échantillons avec le plus grand pourcentage de 29. 67% de la charge globale de ce lait, suivi par la flore psychrotrophe qui représente un pourcentage égale 25.09% de la charge globale du lait bovin. Par la suite viennent les coliformes totaux, et les bactéries lactiques avec des pourcentages 16.49% et 15.46%. Alors que les coliformes fécaux ont présenté la charge bactérienne la plus faible dans ce lait par un pourcentage de 13.68% (Figure 11).

### V-1-2-2-Evaluation de la contamination du lait camelin par les différentes flores dénombrées



**Figure 10 :** Evaluation de la contamination du lait camelin par les différentes flores dénombrées

#### A- Flore aérobie mésophile totale

D'après les résultats bactériologiques du lait camelin, on remarque que la flore aérobie mésophile représente une flore abondante dans ce lait après les psychrotrophes. Le taux le plus élevé enregistré en cette flore est de  $6.78 \times 10^3$  ufc/ml. La moyenne en cette flore pour tous les échantillons analysés est de l'ordre de  $4.70 \times 10^3 \pm 1.86$  ufc/ml (Figure 12).

#### B- Coliformes totaux

Pour les coliformes totaux, dans le lait camelin Cette flore est moins représentée que, la flore psychrotrophe, la flore aérobie mésophile totale, et les bactéries lactiques. La moyenne des taux de contamination calculée pour l'ensemble de prélèvements est de l'ordre de  $1.33 \times 10^3 \pm 0.38$  ufc/ml (Figure 12)

#### C- Coliformes fécaux

D'après les résultats consignés dans la figure 12, les coliformes fécaux passent d'une charge initiale de  $0.54 \times 10^3$  ufc/ml à une charge de l'ordre de  $2.33 \times 10^3$  ufc/ml avec une moyenne des taux de contamination des échantillons analysés, de l'ordre de  $1.20 \times 10^3 \pm 0.98$  ufc/ml. Cette flore est moins représentée sur ce lait que, la flore psychrotrophe, la flore aérobie mésophile totale, et les bactéries lactiques.

#### D- Flore psychrotrophe

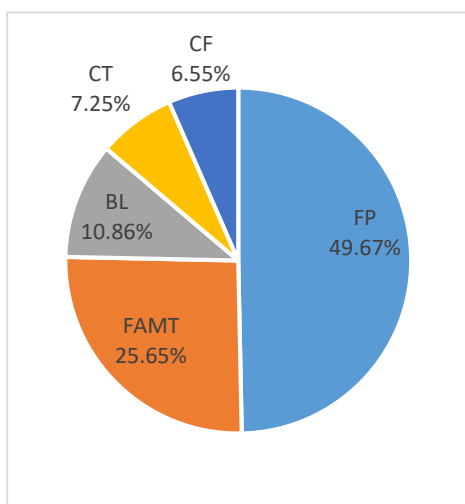
A l'issu des résultats obtenus, après le dénombrement de la flore psychrotrophe dans le lait camelin, on note que dès le premier jour du prélèvement les échantillons ont tous montré la charge la plus élevée en cette flore ( $2.18 \times 10^4$  ufc/ml) comparé aux autres flores

dénombrées sur ce même lait et dans les mêmes conditions d'étude. Donc cette flore est prédominante pour ce type de lait, La moyenne des taux de contamination calculée pour l'ensemble de prélèvements est de l'ordre de  $9.10 \times 10^3 \pm 8.12$  ufc/ml (Figure 12).

#### E- Bactéries lactiques

D'après les résultats consignés dans la figure 12, on note que les bactéries lactiques représentent une flore abondante dans ce lait après les psychrotrophes, la flore aérobie mésophile totale. Le taux le plus élevé enregistré en cette flore est de  $4.07 \times 10^3$  ufc/ml. La moyenne en cette flore pour tous les échantillons analysés est de  $1.99 \times 10^3 \pm 1.86$  ufc/ml (Figure 12).

#### Le pourcentage de contamination de lait camelin par les cinq flores dénombrées

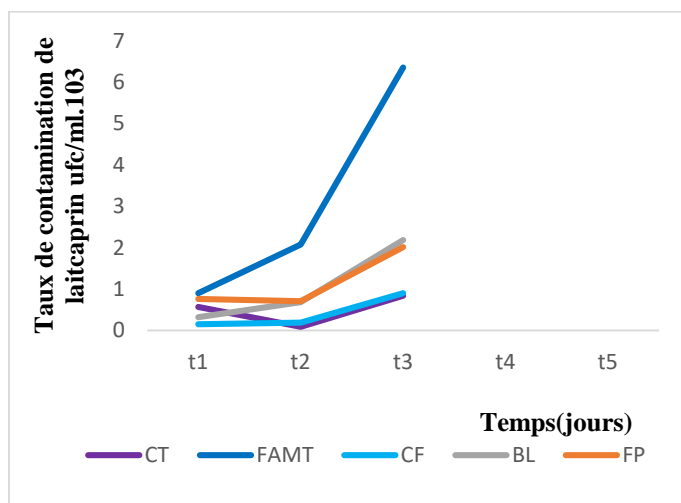


**Figure 2:** Pourcentage de contamination du lait camelin par les cinq flores étudiées

D'après les résultats de la Figure 13 dans le lait camelin étudié la flore psychrotrophe est la flore prédominante pour tous les échantillons, elle représente un pourcentage de contamination de 49.67%, suivi par la flore aérobie mésophile totale avec un pourcentage égale à 25.65%, et les bactéries lactiques qui représentent le pourcentage 10.86% des flores de la contamination globale dans ce lait, alors que les coliformes totaux et les coliformes fécaux sont les moins représentées avec des pourcentages de contamination égales 7.25% et 6.55% de la charge globale du lait camelin respectivement.



### V-1-2-3-Evaluation de la contamination du lait caprin par les différentes flores dénombrées



**Figure 3:** Evaluation de la contamination du lait caprin par les différentes flores dénombrées

#### A- Flore aérobique mésophile totale

D'après le dénombrement de la flore aérobique mésophile totale dans le lait caprin, on note que dès le premier jour du prélèvement les échantillons ont tous montré la charge la plus élevée en cette flore comparé Aux autres flores dénombrées sur ce même lait et dans les mêmes conditions d'étude. Donc cette flore est prédominante pour ce type de lait, La moyenne des taux de contamination calculée pour l'ensemble des prélèvements est de l'ordre de  $3.11 \times 10^3 \pm 2.87$  ufc/ml (Figure 14).

#### B- Coliformes totaux

D'après les résultats des analyses bactériologique du lait caprin, on remarque que les coliformes totaux, sont les moins représentés sur ce lait comparé aux : psychrotrophe, aérobique mésophile totale, et lactiques. La moyenne des taux de contamination calculée pour l'ensemble de prélèvements est de l'ordre de  $0.50 \times 10^3 \pm 0.37$  ufc/ml (Figure 14).

#### C- Coliformes fécaux

D'après les résultats consignés dans la figure 14, on note que les coliformes fécaux dès le premier jour du prélèvement les échantillons ont tous montré la charge moins élevée en cette flore comparé aux autres flores dénombrées sur le lait caprin. La moyenne en cette flore pour tous les échantillons analysés est de  $0.41 \times 10^3 \pm 0.42$  ufc/ml.

#### D- Flore psychrotrophe

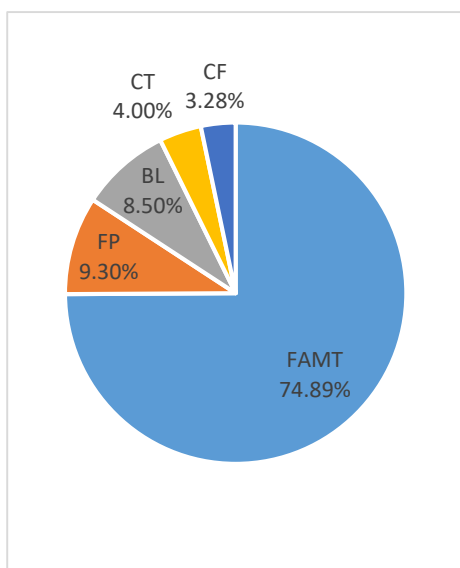
A l'issu des résultats obtenus, après le dénombrement de la flore psychrotrophe dans le lait caprin, on note que dès le premier jour du prélèvement les échantillons ont tous montré

la charge la plus élevée en cette flore  $2.01.10^3$  ufc/ml. On remarque que cette flore est moins représentée sur ce lait que la flore aérobique mésophile totale. La moyenne en cette flore pour tous les échantillons analysés est de  $1.16 \times 10^3 \pm 0.99$  ufc/ml (Figure 14).

#### E- Bactéries lactiques :

Pour les bactéries lactiques, après leur dénombrement dans le lait caprin, on remarque que cette flore est moins représentée sur ce lait que, la flore psychrotrophe, et la flore aérobique mésophile totale. La moyenne des taux de contamination calculée pour l'ensemble de prélèvements est de l'ordre de  $1.06 \times 10^3 \pm 0.73$  ufc/ml (Figure 14)

#### Le pourcentage de contamination de lait caprin par les cinq flores dénombrées



**Figure 4:** Pourcentage de contamination du lait caprin par les cinq flores étudiées

D'après les résultats du pourcentage de contamination du lait caprin par les différentes flores dénombrées consignés dans la Figure 15, on remarque que la FAMT présente le pourcentage le plus élevé de 74.89%, c'est la flore prédominante pour tous les échantillons, suivi respectivement par la flore psychrotrophe, dont le pourcentage est de 9.30% de la charge globale du lait caprin, puis les bactéries lactiques avec un pourcentage égale 8.50%, coliformes totaux qui présentent un pourcentage de l'ordre de 4% et les coliformes fécaux avec le pourcentage le plus faible égale 3.28% de la charge globale du ce lait.

#### V-1-3-Recherche d'*Escherichia coli*

##### V-1-3-1- Test morphologique

L'observation au microscope des colonies prélevées sur milieu VRBL, après incubation des boîtes de pétri à 44°C, donc des colonies de coliformes fécaux détectées sur les laits réfrigérés étudiés et après la coloration de Gram, les résultats montrent que ce sont

des bacilles colorés en rose, donc ce sont des bactéries à Gram négative. Donc on suspecte la présence d'*E coli*.

#### V-1-3-2- Tests biochimiques

Pour l'identification biochimique d'*E coli*, le milieu solide TSI en tube coulé en pente inclinée, est utilisé. La lecture des tubes ensemencés est faite après 24h à 37°C.



**Figure 5:** Le milieu TSI incliné



**Figure 6:** Le milieu TSI après l'incubation

**Tableau VII:** Caractères d'identification biochimique d'*Escherichia coli* (CUQ, 2007).

Les caractères d'identification	<i>Escherichia coli</i>	Les résultats
Fermentation de glucose	+	+
Fermentation de lactose	+	+
Production de gaz	+	+

D'après les résultats on observe le virage de la couleur du rouge de phénol en jaune et la production du gaz se traduit par une acidification, cette bactérie utilise l'un des sucres contenus dans le milieu de TSI pour la fermentation. Donc on suspecte la présence d'*E coli*.

#### Comparaison de la contamination globale des laits étudiés

**Tableau VIII:** Evaluation de la contamination globale des laits étudiés :

	Camelin (Moyenne±écart-type)	Bovin (Moyenne±écart-type)	Caprin (Moyenne±écart-type)
FAMT (ufc/ml)	$4.70 \times 10^3 \pm 1.86$	$1.91 \times 10^4 \pm 16.33$	$3.11 \times 10^3 \pm 2.87$
CT (ufc/ml)	$1.33 \times 10^3 \pm 0.38$	$1.06 \times 10^4 \pm 6.20$	$0.5 \times 10^3 \pm 0.37$
CF (ufc/ml)	$1.20 \times 10^3 \pm 0.98$	$8.58 \times 10^3 \pm 5.43$	$0.41 \times 10^3 \pm 0.42$
FP (ufc/ml)	$9.10 \times 10^3 \pm 8.12$	$1.62 \times 10^4 \pm 12.98$	$1.16 \times 10^3 \pm 0.73$
BL (ufc/ml)	$1.99 \times 10^3 \pm 1.86$	$1 \times 10^4 \pm 9.53$	$1.06 \times 10^3 \pm 0.99$

L'évaluation de la contamination globale des trois laits réfrigérés étudiés, par les différents germes dénombrés (FAMT ; CT ; CF ; FP ; BL), consignés dans le tableau VIII, laisse ressortir que les taux de contamination varient en fonction du type de la flore et du lait analysé.

D'après les résultats de Tableau VIII on note que le lait caprin et le lait bovin la FAMT est la flore prédominant, suivi par la FP et les BL, puis viennent les CT et les CF qui présentent les charges bactériennes les moins faibles. Alors que dans le lait camelin la FP est la flore prédominante suivi respectivement par la FAMT puis les BL, alors que les CT et CF sont les moins représentés.

A la fin on note que le lait bovin porte les plus hautes charges pour tous les germes dénombrés, suivi par le lait camelin, alors que le lait caprin montre les charges les plus faibles.

## V-2- Discussion

### V-2-1- Flore aérobique mésophile totale

A l'issue des résultats obtenus, on note que les moyennes de contamination des trois laits par la flore aérobique mésophile totale sont de l'ordre de  $1.91 \cdot 10^4$  ufc/ml,  $9.34 \cdot 10^3$  ufc/ml, et  $4.70 \cdot 10^3$  ufc/ml respectivement pour le lait bovin, caprin et camelin.

Nos résultats pour le lait de chèvre sont nettement inférieurs à ceux enregistrés par **Guiraud, (1998)**, qui enregistre une valeur de  $10^5$  ufc/ml N.A (1998).

Selon **Farris, (2009)** un lait de chèvre est de très bonne qualité microbiologique s'il contient moins de  $10^5$  germes/ml du lait.

Et aussi on remarque que le nombre de FTAM enregistré dans le lait bovin est inférieur à celui publié par le N.A (1998) ( $10^5$  ufc/ml).

Nos résultats sont aussi inférieures à ceux exigés par les réglementations françaises et américaines qui sont respectivement de  $5 \cdot 10^5$  ufc/ml et  $3 \cdot 10^5$  ufc/ml **selon Alais en 1984**.

La FAMT est égale  $4.59 \cdot 10^3$  ufc /ml pour le lait camelin. Il est intéressant de mentionner qu'il n'y a pas de normes microbiologiques concernant le lait de chamelle.

En effet les échantillons des laits collectés ne dépassent pas les normes Européennes  $5 \cdot 10^5$  ufc/ml d'après **Moustafa. et al., en 2000**.

Les résultats obtenus pour la FTAM pour les trois types de lait étudiés sont inférieurs à ceux annoncés par certains auteurs, cela est due probablement au respect des règles d'hygiène à savoir le nettoyage des mains, de la mamelle et des ustensiles avant et après chaque utilisation.

**V-2-2- Coliformes fécaux**

Selon les résultats enregistrés, les moyennes de contamination par les coliformes fécaux du lait caprin est égale à  $0.41 \cdot 10^3$  ufc/ml, du lait bovin est de  $8.58 \cdot 10^3$  ufc/ml, et du lait camelin est de  $1.20 \cdot 10^3$  ufc/ml.

Les taux de contamination par cette flore notée dans les laits bovin et camelin sont supérieures aux normes selon le JORA, (1998) dont la valeur est de  $10^3$  ufc/ml.

Les taux en coliformes fécaux dénombrés dans le lait caprin sont inférieurs à ceux signalés par le N.A (1998) ( $10^3$  ufc/ml), et sont supérieurs à ceux annoncés par **Guiraud en 1998** dont les valeurs sont  $< 10^2$  ufc/ml.

La présence des coliformes fécaux est considérée comme un indice de contamination fécale, il s'agit donc plutôt de marqueurs de mauvaise maîtrise d'hygiène ainsi qu'à la mauvaise manipulation (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Les nombre des coliformes fécaux trouvé dans le lait de chèvre ne dépassent pas la norme algérienne, par contre le lait de vache il contient un grand nombre de coliforme fécaux ce qui indique un manque d'hygiène lors de la traite car ces germes colonisent facilement le matériel de traite.

**V-2-3- Coliformes totaux**

D'après les moyennes des coliformes totaux prélevées pour les laits étudiés, qui sont de l'ordre de :  $0.50 \cdot 10^3$  ufc/ml pour le lait caprin,  $1.06 \cdot 10^4$  ufc/ml pour le lait bovin et de  $1.33 \cdot 10^3$  ufc/ml pour le lait camelin.

Ces résultats sont inférieurs aux normes signalées par **Guiraud en 1998** ( $10^6$  ufc/ml).

Selon **Larpent, (1990)**, la présence des coliformes totaux 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)**, la présence des coliformes est la prévalence de mammites, dans le cas où il y a une forte charge en coliformes totaux, ceci suggère une contamination des trayons D'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite.

**V-2-4- Flore psychrotrophe**

D'après les résultats de notre travail les psychrotrophes présentent des moyennes de contamination de : dans le lait caprin  $1.16 \cdot 10^3$  ufc/ml, dans le lait bovin  $1.62 \cdot 10^4$  ufc/ml, et dans le lait camelin  $9.10 \cdot 10^3$  ufc/ml.

Selon **Auclair, (1979)** cité par **Thomas (1973)**, un lait de bonne qualité bactériologique ne présente pas une grande augmentation de charge en psychrotrophes quand il est maintenu à une température comprise entre 3°C et 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 des psychrotrophes, capables de se multiplier activement aux températures de réfrigération (**Bloquel et Veillet Poncet, 1980**).

Selon **Dehkal, (1982)**, les valeurs des trois laits, permet de conclure que les laits ne sont pas 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 hygiéniques et non au long séjour de réfrigération.

#### **V-2-5- Bactéries lactiques**

D'après les résultats on trouve que le nombre des bactéries lactiques du lait caprin est égale à  $1.06 \cdot 10^3$  ufc/ml, dans le lait bovin est égale à  $1 \cdot 10^4$  ufc/ml, et dans le lait camelin  $1.99 \cdot 10^3$  ufc/ml.

Nos résultats sur les trois laits sont inférieurs par rapport aux résultats des autres études d'un lait cru qui sont  $2.6 \cdot 10^5$  ufc/ml et  $4.8 \cdot 10^5$  ufc/ml pour les bactéries lactiques mésophiles **signalé par Houbad, (2015)**.

D'après les résultats de recherche et de dénombrement des bactéries lactiques on conclure que les trois types de laits analysés présents en général une charge microbienne moyennent.

#### **V-2-6-'Escherichia coli**

A partir des observations morphologiques et des tests biochimiques, on remarque que les souches isolées des coliformes fécaux, de ces laits sont des bactéries de l'espèce : *E. coli*.

*Escherichia coli* est une bactérie présumée pathogène qui peut se retrouver dans le lait cru, ces bactéries proviennent généralement de la peau des mamelles (**Richard et Braquehay, 1985**).

Cette bactérie d'origine fécale peut survivre sur un sol souillé. Son implantation dans le matériel de traite. Certaines souches, présentes, lorsqu'elles sont à un haut niveau dans le lait, produire des gastro-entérites dues à la production de toxines (**Richard et Braquehay, 1985**).

La contamination des laits peut se produire lors de la fabrication en usine (suivie de la multiplication éventuelle lors du transport et du stockage), La contamination humaine existe

également par l'intermédiaire de porteurs sains avec une faible dose infectante (**Richard et Braquehay, 1985**).

# Conclusion et perspectives



**Conclusion**

Du fait même de leur composition et des conditions de production, le lait et les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui, en se multipliant dans le milieu, provoquent des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, et glucides) et/ ou libération en leur sein de composés indésirables. Ces dégradations peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures et se traduisent par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture.

Le principe de contrôle de la qualité du lait est très simple, il suffit de comparer les résultats obtenus par l'analyse microbiologique avec les normes et les règles citées dans la réglementation. Cette comparaison a pour but de juger de l'acceptation ou le refus d'un lait. Laisse ressortir que les taux de contamination varient en fonction du type de la flore et du lait analysé.

Dans notre travail, nous avons dénombré quelques certaines flores d'altération des laits, exemple de ces bactéries : la flore aérobique mésophile totale, les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les bactéries lactiques et la flore psychrotrophe dans trois types de laits réfrigérés : caprin, bovin et camelin par le suivi de leurs évolutions au cours de la conservation par réfrigération et leur pouvoir de provoqué des altérations dans le lait. Et faire une comparaison sur l'évolution de ces bactéries dans les trois laits est établie.

D'après les résultats obtenus, on observe que la qualité bactériologique lors de l'analyse est en générale acceptable, et que le lait bovin présent les plus hautes charges bactériennes suivi par le lait camelin enfin, le lait caprin.

La flore aérobique mésophile totale est prédominant dans le lait bovin et caprin suivi par la flore psychrotrophe, les bactéries lactiques, les coliformes totaux et enfin les coliformes fécaux. Alors que dans le lait camelin la flore psychrotrophe est la flore qui présente les charges les plus élevées suivi par la FAMT ensuite les BL et à la fin les CT et CF qui présentent les faibles charges.

La présence d'*E. coli* est une enregistré dans les 3 types de laits étudiés.

Enfin, en résumé que la qualité microbiologique finale et la durée de conservation du lait dépend bien de l'hygiène au cours des opérations de la traite, la conservation et le transport du lait cru.

**Perspectives**

Notre étude mérite d'être compléter par d'autre travaux pour apporter plus d'informations sur la contamination des laits crus lors de la réfrigération par :

- Réaliser des travaux sur d'autres flores d'altération

- Réaliser des recherches et des dénombrements des germes pathogènes.
- Identifier phénotypiquement et génétiquement les flores d'altération et pathogènes des laits

# Références bibliographiques

### Références bibliographiques

- **Adda J., Gripon J C et Vassel L. (1982).** The chemistry of flavor and texture generation in cheese. Food chemistry. pp: 9,115 - 129.
- **Adrian J.J. (2004).** Construction productivity: Measurement and improvement. Stips publishing, champing vol.8 No.10.
- **Alais C. (1984).** Science du lait, Principe des techniques laitières, 3eme édition. Paris, 807p, Tom 1 ET 2 sl Paris.
- **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait in VIGNOLA C. L, Science et technologie du lait Transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN: 3-25-29(600 pages).
- **Archibald, F. (2000).** The presence of coliform bacteria in Canadian pulp and paper mill water systems – a cause for concern? Water Quality Research Journal of Canada, 35(1): 1-22.
- **Auclair J. (1979).** Influence des méthodes de réfrigération et de collecte du lait sur sa qualité bactériologique. Revue française lait n°378. 37p.
- **Bloquel R. et Veillet-Poncet L. (1980).** Evolution et détermination de la flore bactérienne d'un lait cru réfrigéré pauci microbien en fonction du temps. Revue Le lait. pp :474-486.
- **Boudier J F et Luquet F M. (1978).** Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, N°21, édition APRIA, Paris.
- **Boutonnier JL. (2008).** Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320), Paris.
- **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.
- **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.
- **Carlier V., Rozier J., Bolnot F. (1984).** Bases microbiologiques de l'Hygiène des aliments. Ecole Vétérinaire de Maisons-Alfort, France, 232 p.
- **Cauty I. et Perreau J-M. (2009).** Conduite du troupeau bovin laitier. Production, Qualité Rentabilité. 2eme édition France Agricole.
- **Cayot P. et Lorient D. (1998).** Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.

- **Christian A.(2010).** La Geste formation professionnels et analyse des pratiques. Paris : l'Harmattan, 239p.
- **Corlien H.(2005).** La conservation du poisson et de la viande. Fonction Agromis.
- **Cuq, J.L. (2007).** Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp : 20-25.
- **Cuq, J. L. (2007).** a Microbiologie Alimentaire : Les relations microorganismes / aliments / consommateurs, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4ème année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. P 2 - 17.
- **Cuq, J. L. (2007).** b Microbiologie Alimentaire : Contrôle microbiologique des aliments, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires 4ème année. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc p 103, 104.des organisation de consommateurs.015-11.pl-3.des organisation de consommateurs.015-11.pl-3.
- **Darinmou. (2000).** Conseil pour le consommateur. Laboratoire darinmoub.  
darinmoub.com /conseils.pdf.
- **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 chaine 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.
- **Dieng M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal.
- **Edberg, SC, EW Rice, RJ Karlin et MJ Allen. (2000).** Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88: 106S-116S.
- **El Atyqy M. (2010).** Réactions d'altération chimique des aliments. Edition Sciences et techniques des aliments.
- **Emilie F. (2009).** Connaissance des aliments. Bases alimentaires et notionnelles de la déitique.2eme Edition Lavoisier. ISBN : 978-7430-1156-7.
- **FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.

- **Farris M. (2009).** Connaissance des aliments : base alimentaires et nutritionnelles de la diététique, 2ème édition Lavoisier Tec & Doc, pp. 18-22.
- **Fatet P. (2004).** Les staphylocoques dans l'industrie laitière. GDS Info 2004/2005 l'action sanitaire ensemble. pp :34-35.
- **Favier J.C., Dorsainvil E. (1985).** Composition du lait de vache : 2. Laits de consommation. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 20 (5), p. 355-363.
- **Frank JF.(1997).** Milk and dairy products. Food Microbiology –Fundamental and Frontiers (Doyle P, Beuchat R & Montville J, eds), pp. 169 – 186. ASM Press, Washington, DC.
- **Frank JF et Hassan AN. (2002).** Micro organisms associated withmilk. In thèse : analyse du microbiote du lait par les méthodes moléculaires. Département des sciences des aliments et de nutrition faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation université lavai Que bec.
- **Fredot E. (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14 (397 pages).
- **Gaucheron F. (2005).** The minerals of milk. Reproduction and Nutrition.
- **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.
- **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.in cow's Milk. Edition Dairy science, 815p. industrielle commercialises sur le marché Dakarois Th. Méd. Vét., n°10, Dakar, Sénégal111p.
- **Guy L., Elizabeth V. (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments. Hygiène et
- **Houbad K. (2015).** Potentialité technologique des bactéries lactiques isolées du lait cru de CHAMELLE. Université Ahmed Benbela Oran.

- **Institut de l'élevage. (2009).** Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1ere Edition France Agricole. Produire mieux. pp :55-506
- **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 :517
- **Jay J. M. (2000).** Taxonomy, role, and significance of microorganisms in food. Dans Modern Food Microbiology, Aspen Publishers, Gaithersburg MD.13p.
- **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G. (2007).** Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, La voisier: 17 (456 pages).
- **Jeantet, R., Croguennec, T., Mahaut, M., Schuck, P., et Brule, G. (2008).** Les produits laitiers, 2éme édition, tec et doc, Lavoisier : 1-3-13-14-17(185 pages).
- **Jean C et Dijon C.(1993).** Au Fil du lait. 847p.
- **Kaan-Tekinsen K., Elmali M et Ulukanli Z. (2007).** Microbiological Quality of UHT Milk Consumed in Turkey. Journal of Food Safety, Vol.7, p. 45-48. laiterie, P15, P 3-4. P164, 171, 174.
- **Kagembega J. M. (1984).** Contribution à l'étude de la salubrité des laits caillés et yaourt à Dakar. Th. Pharm., Dakar, n° 24.
- **Kebchaoui J.(2013).** Le lait compositions et propriétés. 37p.
- **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.
- **Laurent C. (1974).** Conservation des produits d'origine animale en pays chauds. Techniques vivantes éd. Paris.160P.
- **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.
- **Luquet F.M., Bonjean et Linczowski Y. (1985).** Le lait de la mamelle à la laiterie in lait. Life and Flavor of Ultra Pasteurized Milk. Journal of Dairy Science Vol. 84, No. 4.
- **Magnusson M., Christiansson., Svensson B. (2007).** Bacillus cereus
- **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.
- **Morrissay P.A. (1995).** Lactose: chemical and physicochemical properties. dans: Developments in dairy chemistry 3. (FOX PF). Elsevier, London

- **Mocquot G., Guittonneau G. (1939).** Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée aux contrôles de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. Le lait N°182, pp. 114-139.
- **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.
- **Murielle M. (2009).** Nutrition humaine et sécurité alimentaire. Edition Lavoisier, ISBN : 0-1072-7430-2-987Sécurités alimentaires. Doin éditeur, Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine, 4èmeédition spores during housing of dairy cows : factor affectant contamination of raw milk. Journal of dairy science, N° 90, pp. 2745-2754.
- **Moustafa, Y. A; Pätzold, J; Loya, Y; Wefer, G. (2000).** Mid-Holocene stable isotope record of corals from the northern Red Sea. International Journal of Earth Sciences, 88(4), 742-751.
- **Petransxiene D. et Lapied L. (1981).** Qualité bactériologique du lait et produits laitiers. Analyses et tests. Edition Tec. & Doc, Paris.
- **Prescott L.M., Harley J et Klein D.A. (2010).** Microbiologie 2ème édition. De Boeck, paris, p. 979.produits laitiers. Vache, brebis, chèvre" (LUQUET F.M) Tome (1) : les laits de la mamelle à la
- **Ramet J.P. (1985).** La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection FAO Alimentation et nutrition n°48.
- **Rheotest M. (2010).** Rhéomètre et viscosimètre à capillaire RHEOTEST LK Produits alimentaires et aromatisants.
- **Richard J. & Braquehay C. (1985).** - Origine et nature des bactéries coliformes du lait cru. In Colloque Société française de microbiologie. Sci. Aliments, 5 (5), 21-24.
- **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.
- **Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p. Tamilnadu. Food and Chemical Toxicology 50: 4158-4162. Tec. Et Doc., Paris. Temperature, short time pasteurization températures inversely affect bacterial numbers during refrigerated storage of pasteurized milk. J. DairySci., 92(10) : 4823-4832.
- **Thapon J.I. (2005).** Science et technologie du lait, Agrocampus-Remmes, France :14(77 pages).



- **Thomas T. (1973).** Agar medium for differentiation of streptococcus cermoris from other bacteria, NZJ Dairy Sci Tech 8: 70-71.
- **Thieulin G. et Vuillaume R. (1967).** Eléments pratiques d'analyse et inspection du lait de produits laitiers et des oeufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, President Wilson, Paris : 71-73(388 pages).
- **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.
- **Vierling E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de ladocumentation pédagogique d'Aquitaine :11(270 pages).
- **Vignola, C. (2002).** Science et technologie de lait. Ecole polytechnique de Monterial. P70.
- **Veisseyre R. (1975).** Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3ème édition. Edition la maison rustique, Paris.
- **Weber F. (1985).** Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47.
- **Yakhlef H. (1989).** La production extensive de lait en Algérie, Institut National Agronomique, Département de Productions Animales, El Harrach, Alger (Algérie) :135(139 pages).
- **Wageningen Agrodok 12. ISBN :90-9573-033-3. P6-8-14-15**

# Annexes

**Annexes****Annexe I – les milieux de culture et leurs compositions :****❖ Gélose PCA : PH=7**

Hydrolysate Trypsine De Caséine	5 g
Extrait De Levure	2,7 g
Glucose	1 g
Agar	9 g
Eau Distillée	1000 ml

**❖ Gélose TSI (Triple sugar-ion agar =gélose glucose – lactose- saccharose –SH2)**

Peptone	20g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Glucose	1g
Lactose	10g
Saccharose	10g
Citrate de fer	0,5g
Hyposulfite de sodium	0,5g
Rouge de phénol	25g
Gélose	12 g

**❖ Gélose VRBL**

Peptone	7 g
Extrait de levure	3 g
Lactose	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Mélange sel biliaire	1,5 g
Cristal violet	0,002 g
Rouge neutre	0,03 g
Agar-agar	15 g
Eau distillé	1 000 ml
pH	7,4

**❖ L'eau physiologique**

Na cl	9 g
Eau distillé	1000 ml

**❖ Milieu MRS**

Peptone	10 g
Extrait de viande	8 g
Extrait de levure	4 g

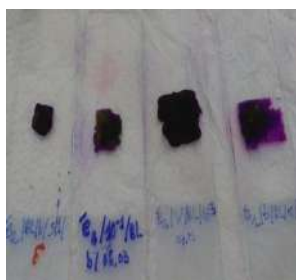
Glucose	20 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate d'ammonium	2 g

### Annexe II- La technique de coloration de Gram

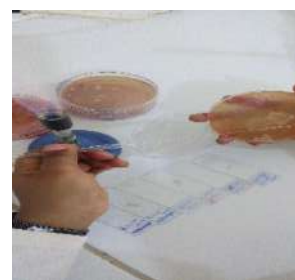
- ❖ La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur un milieu solide) à l'aide d'une anse de platine ou pipette stérile, puis on étale par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame.
- ❖ La seconde étape est le séchage et la fixation par la chaleur.
- ❖ La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur une frotti fixé pendant une minute, après rinçage et on ajout lugol pendant 30 secondes.
- ❖ La quatrième étape, à savoir le bain d'alcool 90 % (ne traverser que la paroi des bactérie G- et décolorer leur cytoplasme), puis on rince avec l'eau distillée.
- ❖ En fin, quelques gouttes de fuchsine de Ziehl sont versées sur la lame et laisser agir une minute, puis un rinçage par l'eau distillée et on passe à l'observation microscopique.



La fixation des suspensions



L'ajout de quelques gouttes de lugol



L'ajout de fuchsine de Ziehl

### Annexe III- La technique du test de catalase

- ❖ Déposer, une goutte d'eau oxygénée sur une lame.
- ❖ À l'aide de l'anse de platine une colonie isolée de la souche tester y déposer.
- ❖ Observer l'apparition de bulles.

### Annexe IV : les résultats des dénombrements

**1- Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale :**

	Echantillon 1 bovin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 camelin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 camelin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 camelin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)
1jour	5.35	5.33	5.40	5.36	5.31	0.82	3.38	3.17	2.10	0.40	0.21	0.90
2jour	2.99	5.33	36.75	15.02	5.25	1.80	4.50	4.15	5.27	0.49	1.49	2.08
3jour	5.24	52.63	54.09	37.21	5.35	1.50	13.5	6.78	13.7	0.86	4.52	6.36

**2- Dénombrement des coliformes totaux :**

	Echantillon 1 bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 camelin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 camelin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 camelin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)
1 jour	5.19	0.05	5.31	3.51	0.11	0.12	2.44	0.89	1.43	0.15	0.15	0.57
2 jour	2.85	0.05	39.41	14.10	0.48	2.36	1.90	1.58	0.11	0.01	0.15	0.09
3 jour	5.31	5.34	53	14.40	1.33	2.09	1.16	1.52	2.35	0.10	0.09	0.84

**3- Dénombrement des coliformes fécaux :**

	Echantillon 1 bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 camelin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 camelin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 camelin( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)
1jour	4.10	5.25	4.97	4.77	0.06	0.13	1.43	0.54	0.05	0.17	0.24	0.15
2jour	0.45	8.72	9.33	6.16	0.69	0.17	1.36	0.74	0.18	0.18	0.22	0.19
3jour	5.36	12.50	26.57	14.81	4.59	2	0.41	2.33	2.46	0.15	0.09	0.9

**4- Dénombrement des bactéries lactiques :**

	Echantillon 1 Bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 Bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 Bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 Camelin( $\times 10^3$ ufc/ ml)	Echantillon 2Camelin( $\times 10^3$ ufc/ ml)	Echantillon 3 Camelin( $\times 10^3$ ufc/ ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 caprin( $\times 10^3$ ufc/ml )	Echantillon 3 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)
1 Jour	5.22	3.17	3.15	3.84	1.05	0.10	0.21	0.45	0.05	0.16	0.77	0.32
2 Jour	5.40	5.28	52.27	20.98	2.53	0.85	1.00	1.46	0.14	1.12	0.82	0.69
3 Jour	5.19	5.25	5.12	5.18	5.22	1.72	0.54	4.07	5.29	0.49	0.80	2.19

**5- Dénombrement de la flore psychrotrophe :**

	Echantillon 1 bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	3Echantillon bovin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 camelin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 camelin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 camelin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 1 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 2 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Echantillon 3 caprin ( $\times 10^3$ ufc/ml)	Moyenne ( $\times 10^3$ ufc/ml)
1 jour	2.66	2.65	2.63	2.64	5.30	0.07	0.05	1.80	1.95	0.17	0.17	0.76
2 jour	2.01	5.36	45.33	17.56	5.28	3.45	2.18	3.63	1.74	0.24	0.15	0.71
3 jour	1.17	54	30.33	28.5	5.26	7.27	53.09	21.87	2.68	2.79	0.58	2.01

**Annexe V : les photos des résultats**



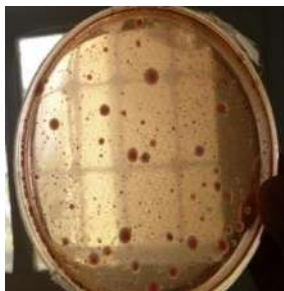
Dénombrement de FAMT



Dénombrement des BL



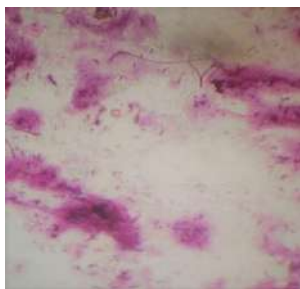
Dénombrement des CT



Dénombrement des CF



Dénombrement de FP



Les bactéries lactiques  
après la coloration de  
Gram « Gram<sup>+</sup> »



Les coliformes fécaux après  
la coloration de Gram  
« Gram<sup>-</sup> »



Les résultats de test catalase des bactéries lactiques  
« catalase<sup>-</sup> »





## Etude comparative de la multiplication de quelques bactéries d'altération dans trois types des laits réfrigérés : camelin, bovin et caprin

**Résumé :** Le lait est considéré comme un aliment complet et équilibré du fait de sa richesse en plusieurs éléments nutritifs.

Pour conserver cet aliment il existe plusieurs techniques parmi lesquelles la réfrigération qui doit être appliquée rapidement après la traite et dont la température est au voisinage de 4°C. Cette technique ne tue pas les micro-organismes mais ralentit leur développement.

Dans ce travail nous avons suivi l'évolution par le dénombrement, au cours de la réfrigération de certaines flores de bactéries : FAMT sur PCA, CT sur VRBL, CF sur VRBL, BL sur MRS, FP sur PCA. Sachant que les prélèvements des trois laits et toutes les manipulations sont réalisés en respectant au maximum les conditions d'aseptie.

D'après les résultats d'analyses microbiologiques on remarque que la FAMT est la flore prédominante dans les laits bovin et caprin, alors que dans le lait camelin la FP est la flore prédominante.

Les charges en ces flores ont varié entre des valeurs maximales de l'ordre de  $1.91 \times 10^4$  ufc/ml,  $3.11 \times 10^3$  ufc/ml dans les laits bovin et caprin pour FAMT, et  $9.10 \times 10^3$  ufc/ml dans le lait camelin pour FP, alors que les minimales sont de  $4.70 \times 10^3$  ufc/ml dans le lait camelin pour FAMT, et  $1.16 \times 10^3$  ufc/ml dans le lait caprin de FP, et des pourcentages de 29.67% pour la FAMT, 49.67% de FP.

La présence d'E. coli est enregistrée dans les trois types de laits.

On note aussi que le lait bovin est le plus contaminé par les germes dénombrés suivi par le lait camelin, alors que le lait caprin a présenté les charges les plus faibles.

**Les mots clés :** Lait – réfrigération – bactéries d'altération – dénombrement – contamination.

## دراسة مقارنة لتكاثر بعض بكتيريا التلف في ثلاثة أنواع من الحليب المبرد: الإبل، الأبقار والماعز

**الملخص:** يعتبر الحليب غذاء متكامل ومتوازن لغناه بالعديد من العناصر الغذائية.

للمحافظة على هذا الطعام، توجد عدة تقنيات من بينها التبريد والتي يجب تطبيقها بسرعة بعد حلب والتي تكون درجة حرارتها حوالي 4 درجات مئوية. هذه التقنية لا تقتل الكائنات الحية الدقيقة ولكنها تبطئ نموها.

في هذا العمل، تابعنا التطور من خلال حساب بعض النباتات البكتيرية أثناء التبريد: FAMT على PCA، CT على VRBL، CF على VRBL، BL على MRS، FP على PCA. مع العلم أن عينات الألبان الثلاثة وجميع عمليات التلاعب تتم بأقصى درجات الاحترام لظروف التعقيم.

وفقاً لنتائج التحليلات الميكروبيولوجية، يمكن ملاحظة أن FAMT هي السائدة في حليب الأبقار والماعز، بينما في حليب الإبل FP هي النباتات السائدة.

تفاوتت الأحمال في هذه النباتات بين القيم القصوى  $1.91 \times 10^4$  ufc/ml،  $3.11 \times 10^3$  ufc/ml في حليب الأبقار والماعز و  $9.10 \times 10^3$  ufc/ml في حليب الإبل لـ FAMT، و  $1.16 \times 10^3$  ufc/ml في حليب الماعز لـ FP، ونسب مئوية

29.67% لـ FAMT، و 49.67% لـ FP.

يتم تسجيل وجود الإشريكية القولونية في جميع أنواع الحليب الثلاثة

كما نلاحظ أن حليب الأبقار هو الأكثر تلوثاً بالجراثيم التي يتم عدها يليه حليب الإبل، بينما كان حليب الماعز أقل حمولة.

**الكلمات المفتاحية:** الحليب- التبريد- بكتيريا التلف- العد- التلوث

## Comparative study of the multiplication of some spoilage bacteria in three types of chilled milk: camel, bovine and goat

**Summary:** Milk is considered as a complete and balanced food due to its richness in several nutrient.

To preserve this food there are several techniques among which refrigeration which must be applied quickly after milking and whose temperature is around 4°C. This technique does not kill the microorganisms but slows down their development

In this work we followed the evolution by enumeration, during refrigeration of some bacteria flora: FAMT on PCA, CT on VRBL, CF on VRBL, BL on MRS, FP on PCA. Knowing that the samples of the three milks and all the manipulations are carried out under maximum aseptic conditions

According to the results of the microbiological analyses, it can be seen that LAMF is the predominant flora in the bovine and caprine milks, whereas in the camel milk, PF is the predominant flora

The loads of these flora varied between maximum values of  $1.91 \times 10^4$  ufc/ml,  $3.11 \times 10^3$  ufc/ml in bovine and caprine milk for FAMT, and  $9.10 \times 10^3$  ufc/ml in camel milk for FP, while the minimums are  $4.70 \times 10^3$  ufc/ml in camel milk for FAMT, and  $1.16 \times 10^3$  ufc/ml in goat milk for FP, and percentages of 29.67% for FAMT, 49.67% for FP

The presence of E. coli is recorded in all three types of milk.

It is also noted that bovine milk is the most contaminated by the germs enumerated, followed by camel milk, while goat milk presented the lowest loads.

**The key words:** Milk - refrigeration - spoilage bacteria - enumeration – contamination