

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE
LA TERRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : agroalimentaire et contrôle de qualité

Présenté par : MESSAOUDI fatiha & MESSAOUDI anissa

Thème

La présence de *Clostridium butyrique* dans le lait cru et leur impact sur la production fromagère

Soutenu le : ...01 / .07.... / 2018

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mme. CHEKROUNE malika

MCB

Univ. de Bouira

Présidente

Mme. DOUMANDJI waffa

MAA

Univ. de Bouira

Promotrice

Mme FERHOUM fatiha

MCA

Univ. de Bouira

Examinatrice

Année universitaire 2017/2018

Remerciements

- ❖ *Avant tout, nous remercions **Dieu** le tout puissant, le Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce travail dans de meilleures conditions.*

- ❖ *Nous exprimons nos remerciements et nos gratitudees à notre encadreur **Mme Doumandji waffa** pour nous avoir guide et encourage pendant toute la durée de notre travail, ainsi qu'à la confiance qu'elle nous a attribuée tout au long de nos études.*

- ❖ *Nos vifs remerciements sont adressés aux membres du jury **Mme FARHOUME** et **Mme CHEKROUNE**, de nous avoir honoré de leur présence et d'avoir voulu évaluer ce travail.*

- ❖ *Nos plus vifs remerciements s'adressent au personnel du laboratoire microbiologique de répression des fraudes pour leur patience et leur précieuse aide, pendant la réalisation de ce travail.*

- ❖ *Enfin, nous remercions, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail*

Dédicaces



Grace à Allah

Je dédie ce modeste travail

A ma chère mère

Pour sa patience. J'espère que je suis la bonne fille que t'as rêvé d'avoir.

A mes sœurs

Christina et hassina

A mes frères

Kemel, lounis, aziz, halim

Ames tantes et mes oncles

Rezkia, daykha, Djamila

A toute la famille

Imessaoudene et bouakline

Ma copine de mon chemin

Ma sœur Hanane qui est toujours à coté de moi dans les rires comme dans les larmes

A toutes mes amies

Zaza, Asma, lousif

Mon fiancé houas

D'être toujours à mes côtés pour me soutenir surtout pour donner du goût à ma vie par sa
tendresse

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin :

Fatiha



DEDICACES

Grace à Allah

Je dédie ce modeste travail

Ames très chers parents

*Qui m'ont toujours soutenue, et ont été toujours présents
pour m'encourager durant mes études.*

A mes sœurs.

Fatiha et hassina

A mes tantes et mes oncles.

Rezkia, lhadi, lahlou, Louisa

A toute ma famille.

A toutes mes amies

Ghania, Fahima, zaza, Asma, Taous et Moumen

A tous les étudiants de notre promotion

Dalila, karima, yamina

A tous qui m'ont aidé de près ou de loin.

Anissa

Résumé:

Notre étude a été réalisée dans le but d'évaluer la présence de germe genre clostridium dans le lait cru provenant de deux fermes de la commune d'Aghbalou afin d'éviter tout risque d'ordre technologique (production de fromage) lié à la présence de ces germe dans le lait de vache.

A cette effet 20 échantillons de lait cru ont été collecté a raison de 10 prélèvements par ferme réalisé pendant un mois, tout les échantillons ont été analysés à l aide d'un équipement scientifique performant.

Les résultats d'analyse microbiologique comparés aux critères rapportés par le J.OR.A. De 27mai 1998 montrent que 100% des échantillons analysés sont conformes a la norme.

L'étude relève une présence négligeable de germe de genre clostridium dans le lait cru pour les deux fermes et caractérisent aussi la commune étudié comme une zone à risque faible de contamination par ce germe.

Les mots clés : lait cru, fromage, clostridium, qualité hygiénique

Abstract

Our study was carried out in order to evaluate the presence of Clostridium genus in raw milk coming from two farms of the commune of Aghbalou in order to avoid any technological risk (cheese production) linked to the presence of these germs in cow's milk.

For this purpose, 20 samples of raw milk were collected at the rate of 10 samples taken per farm for a month, all the samples were analyzed using scientific equipment.

The results of microbiological analysis compared to the criteria reported by J.OR.A. From May 27, 1998 show that 100% of the samples analyzed are in compliance with the standard.

The study notes a negligible presence of clostridium genus in raw milk for both farms and also characterizes the commune studied as a low risk zone of contamination by this germ.

Key words: raw milk, clostridium, cheese, hygienic quality

ملخص

أجريت دراستنا من أجل تقييم وجود كلوستريديوم جنس في اللبن الخام من اثنين من مزارع في بلدية أغبالو من أجل تجنب أي المخاطر التكنولوجية (إنتاج الجبن) المتعلقة بوجود من هذه الجراثيم في حليب البقر لهذا الغرض ، تم جمع 20 عينة من اللبن الخام بمعدل 10 عينات تم أخذها في المزرعة لمدة شهر ، وتم تحليل جميع العينات باستخدام الأجهزة العلمية من 27 مايو 1998 تبين أن 100 ٪ من العينات J.O.R.A. نتائج التحليل الميكروبيولوجي مقارنة بالمعايير التي أبلغ عنها التي تم تحليلها تمتثل للمعايير وتلاحظ الدراسة وجود قليل من جنس الكلوستريديوم في الحليب الخام لكل من المزارع وأيضا تميز الكومبونة التي تم دراستها على أنها منطقة منخفضة المخاطر من التلوث بهذه الجرثومة

الكلمات المفتاحية: الحليب الخام ، كلوستريديوم ، الجودة الصحية ، الجبن

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

CF : Coliforme fécaux

CSR : Clostridium sulfito-réducteur

°D : degré dornic.

FTAM : Flore totale aérobie mésophile

J.O.R.A.D.P. : Journal Officiel de la république Algérienne Démocratique et Populaire

ISO: organisation international de normalisation

PCA: Plate Count Agar.

S.aureus : Staphylococcus aureus.

TSC : triptose sulfite à la cyclosémie

TSE (tryptone sel eau)

UFC/ml : Unité Formant Colonie par millilitre.

VRBL : Violet Red Bile Lactose.

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition globale du lait de vache.....	3
Tableau 2. Composition lipidique moyenne du lait de vache.....	4
Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques du lait cru.....	9
Tableau 4: Flore indigène du lait cru.....	10
Tableau 5: Sources et niveaux de contamination du lait cru.....	13
Tableau 6 : Spécificités microbiologiques du lait cru (J.O, N° 35, 1998).....	19
Tableau 7: Résultats des analyses microbiologiques du lait cru provenant de la ferme 1..	24
Tableau 8: Résultats des analyses microbiologiques du lait cru provenant de la ferme 2....	25

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : Généralités sur le lait cru.....	3
I-1- Définition du lait.....	3
I-2- Composition chimique et biochimique du lait	3
I-2-1-Eau de constitution	4
I-2-2-Les glucides.....	4
I-2-3- La matière grasse.....	4
I-2-4-La matière azotée	4
I-2-5-Les minéraux et les vitamines.....	5
I-2-6-Les enzymes.....	5
I-3- Facteurs d altération de composition chimique du lait cru.....	6
I-3- 1-Les facteurs liés aux conditions intrinsèques.....	6
I-3- 1-1-L'âge.....	6
I-3- 1-2-Les facteurs génétiques.....	6
I-3- 1-3-Stades de lactation.....	6
I-3- 2-Facteurs liés aux conditions extrinsèques	7
I-3- 2-1-Alimentation de l'animal.....	7
I-3- 2-2-Saison et climat.....	7
I-4- Propriétés physiques du lait.....	7
I-4-1- La densité.....	7
I-4-2- Point de congélation.....	8
I-4-3- Point d'acidité.....	8
I-4-7-Le Ph	8
I-4-8-Point d'ébullition.....	8
CHAPITRE II : Etude Bactériologique du lait cru	
II -1- Microbiologie du lait cru.....	10
II- 1-1- la flore originelle.....	10
II-1- 2- flore de contamination.....	11
II-1- 2-1-Contaminations du lait cru au stade de la production.....	11

II-1- 2-2-Contamination par l'animal.....	11
II-1- 2-3- Contamination au cours de la traite.....	12
II-1- 2-4- Contamination au cours du transport.....	12

CHAPITRE III : l'impact de présence de Clostridium butyrique sur le fromage

III-1- Les caractéristiques générales des bactéries butyriques appartenant au genre des Clostridium.....	14
III-2- Contamination de lait par des spores butyriques.....	15
III-3- La présence des spores butyrique dans le fromage et leur impact.....	16
III-4- La stratégie pour lutter contre une contamination butyrique.....	16

ETUDE EXPERIMENTALE

1. Présentation du Laboratoire.....	18
2. L'objectif de ce travail.....	18
3. Matériel et méthodes.....	18
4. Mode opératoire	
4.1 Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30° C	20
4.2.Recherche et dénombrement des coliformes fécaux à 44°c :(NFV08-060).....	20
4.3.Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> (ISO6888-1).....	21
4.4. Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs.....	22
Résultats Et Discussion.....	22
Conclusion Et Perspectives.....	28
Références bibliographique	30
Les annexes	

Introduction

Le lait de vache présente un intérêt particulier pour toutes les populations, car il est parfaitement conforme aux exigences de l'homme vu sa haute teneur en nutriments de base (glucide ; protéine ; lipide), le lait de vache peut être consommé cru, pasteurisé ou fermenté (raïb) ou acidifié (lben).

Le lait cru de vache est un aliment consommé sans aucun traitement dans la plupart des régions Algériennes. **(J.O.R.A, 1993).**

Ce lait présente un risque sanitaire sérieux pour les consommateurs s'il est consommé cru, il peut être un vecteur de transmission des germes genre *staphylococcus Aureus* qui entraîne des toxi-infections chez le consommateur.

Le lait cru peut contenir un nombre élevé des Clostridies butyriques; qui sont des germes non pathogènes pour l'homme, ils sont présents dans des aliments des animaux (fourrage ; ensilage) qui ont en contact direct avec la terre et contaminent le lait par l'intermédiaire des fèces.

La contamination de lait cru par ces germes relève d'abord d'un problème d'hygiène générale. Il faut savoir que ces spores ne passent jamais directement de l'animal au lait cru.

De nombreuses catégories des germes ne sont pas dénombrées lors de contrôle de lait de vache mais ces germes peuvent être néanmoins responsables de graves défauts dans divers types de fromages et entraîner des pertes économiques très importantes à l'industrie fromagère.

Ces pertes sont dues principalement à la croissance du *Clostridium butyrique* lors de la maturation de certains fromages. Le phénomène est visible pour les fromages à pâte pressée cuite et certains fromages à pâte non cuite. Pendant les premières phases de la fabrication du fromage, les spores butyriques ne germent pas ; elles entrent en activité au cours de l'affinage. **(Demarquilly, 1998, vissere et al, 2006)**

La pasteurisation ne permet pas l'élimination de ces spores mais peut être complétée par une bactériofuge, une centrifugeuse spécialement conçue pour séparer mécaniquement les spores du lait de vache.

Le *Clostridium butyrique* va produire donc :

- ✚ l'acide butyrique qui induit un mauvais goût de fromage.
- ✚ gaz carbonique qui provoque des laieurs dans les fromages.
- ✚ l'hydrogène qui provoque l'éclatement des meules. **(Demarquilly, 1998)**

Notre recherche concernera :

Introduction

- Identification de la présence de clostridium sulfito-réducteur dans le lait cru au niveau de deux fermes de la région de Bouira et comparer les résultats aux normes nationales
- Détecter les sources de contamination du lait cru par ces germes
- Proposer des stratégies afin d'éviter toute contamination de lait cru par ces dernières qui aura d'importantes conséquences sur la production fromagère

Pour mieux cerner l'objectif dans lequel s'inscrit ce sujet de mémoire nous avons subdivisé notre travail en deux parties :

- ✚ La première partie fait référence à une bibliographie faisant le point sur le lait cru (compositions, caractéristiques physico-chimique, la microbiologie de lait cru et l'impact de présence des germes du genre clostridium sur certains fromages)
- ✚ La deuxième partie est consacrée aux méthodes d'échantillonnage, la qualité hygiénique de lait collecté et l'identification de Clostridium sulfito-réducteur présent dans le lait cru et l'état des résultats obtenus et leur interprétation. Une discussion générale est suivie d'une conclusion et des perspectives,

Partie

Bibliographique

I.1 Définitions du lait :

Le lait apparait comme un liquide opaque, blanc, mat, plus ou moins jaunâtre selon sa teneur en β -carotènes et en matière grasse. Il a une odeur peu marquée mais reconnaissable. ((**BOURGEOIS et al., 1996**))

Le lait est le produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères, destiné à l'alimentation du jeune animal naissant (**Amiot et al. 2002**).

En 1909, le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini par le Congrès International de la Répression des Fraudes, comme étant le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée.

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. (**Deforges et al.1999**)

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

I-2- Composition chimique et biochimique du lait :

Le lait comprend quatre types de constituants importants que sont : les lipides, constitués essentiellement de graisses ordinaires (triglycérides), les protides, les glucides et les sels.

La composition du lait varie selon différents facteurs liés généralement aux animaux. Les principaux sont : la race, les périodes de lactation, l'alimentation, la saison, l'âge et l'espèce (**Vignola, 2002**).

La composition générale du lait de vache est présentée dans le tableau suivant :

Tableau 1: Composition globale du lait de vache (Vignola, 2002)

Constituants majeurs	Variations limites (%)	Valeurs moyennes (%)
Eau	85,5 – 89,5	87,6
Matières grasses	2,4 – 5,5	3,7
Protides	2,9 – 5,0	3,2
Glucides	3,6 – 5,5	4,6
Minéraux	0,7 – 0,9	0,8

I-2-1-Eau de constitution :

L'eau est un élément quantitativement le plus important, elle représente environ 9/10 (81 à 87 %) du lait (ANONYME, 2000). Le lait est riche en eau : ½ litre de lait (2 grands Verres) apporte 450 ml d'eau. Il participe donc à la couverture des besoins hydriques de L'organisme (FREDOT, 2005).

L'eau 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. (Amiot et al., 2002)

I-2-2-Les glucides .

Les glucides représentent dans le lait de vache une teneur qui varie entre 32-47g/l, (Vierling, 1999).

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est le composé majeur de la matière sèche totale. C'est un disaccharide constitué par de l' α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (Luquet, 1985).

I-2-3- La matière grasse :

Le lait de vache contient de 3 à 5 %de matière grasse dispersée sous forme de globule gras sphérique dont le diamètre varie de 0,1 à 15 μ m .

La composition lipidique moyenne du lait de vache est résumée dans le tableau n° 2 :

Tableau 02. Composition lipidique moyenne du lait de vache d'après (CHRISTIE, 1995).

Constituants lipidiques	Proportion (%)
Triacylglycérols	97 ,5
Diacylglycérols	0,36
Monoacylglycérols	0,027
Acides gras libres	0,027
Cholestérol	0, 31
Hydrocarbures	Traces
Caroténoïdes	0 ,008
Phospholipides	0,6

I-2-4-La matière azotée :

Selon (LUQUET, 1986), on distingue deux types de matières azotées dans le lait:

-Les matières azotées non protéiques pour 5%.

-Les protéines pour 95%.

➤ **Matières azotée non protéiques :**

Ce sont des composés à poids moléculaire faible qui appartiennent à plusieurs familles chimiques, le plus important est l'urée, on trouve aussi des acides aminés libres, des peptides et des bases organiques (Mietton *et al*, 1994).

➤ **Matières azotées protéiques**

Les protéines du lait forment un ensemble assez complexe constitué de 80% de caséines et 20% de protéines solubles qui englobent les lactalbumines, sérum albumines, et Immunoglobuline (Jeantet *et al*, 2007).

I-2-5-Les minéraux et les vitamines : sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme.

On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait.

- les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (Debry, 2001).

• **Minéraux :**

La fraction minérale est considérée mineure dans la composition du lait. En revanche, elle est importante tant d'un point de vue structural que nutritionnel et technologique. Le lait et ses dérivés constituent le principal apport de calcium et de phosphore dans la ration alimentaire.

Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations Phosphate, chlorure et citrate pour les anions (Jeantet *al*. 2007).

I-2-6-Les enzymes :

Les enzymes sont définies comme des substances organiques de nature protéique, produites par des cellules ou des organismes vivants. Ils agissent comme catalyseurs dans les réactions biochimiques.

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- Facteurs de d altération de composition chimiques de lait cru :

La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs (Stoll, 2003). Ces principaux facteurs de variation sont bien connus.

- ✓ Intrinsèques liés à l'animal (l'âge, facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire, etc...)
- ✓ Extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation).

I-3- 1-Les facteurs liés aux conditions intrinsèques :**I-3- 1-1-L'âge :**

La quantité du lait augmente généralement du 1er vêlage au 5ème, puis diminue sensiblement et assez vite à partir du 7^{ème}. (Veisseyre en 1979) Ce facteur agit nettement sur le rendement laitier, il existe un écart entre la production des génisses suivant que leur première vêlage a eu lieu à 2 ou 3 ans d'âge, la production de la première lactation est plus faible chez les génisses très jeunes que chez les génisses les plus âgées.

Le vieillissement des vaches provoque un appauvrissement de leur lait, ces variations dans la composition sont attribuées la dégradation de l'état sanitaire de la mamelle ; en fonction de l'âge, le nombre de mammites croit et la proportion de protéines solubles augmente en particulier celles provenant du sang.

I-3- 1-2-Les facteurs génétiques :

La composition chimique de lait varient entre les individus de même race et entre les différentes races laitières, ces variations individuelle sont très importants on remarque que les fortes productrices donnent un lait plus pauvre en matières azotées et en matière grasse. Ces dernières sont les plus instables par rapport au lactose (Veisseyre, 1979).

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

I-3- 1-3-Stades de lactation

Au cours des premiers jours de lactation les teneurs en taux protéiques et en taux de matière grasse sont maximales. Cependant cette teneur est minimale Durant les 2ème ou 3ème mois de lactation, et s'accroissent ensuite jusqu'à la fin de la lactation. Cette

augmentation est due en partie à l'avancement du stade de gestation, qui diminue la persistance de la production laitière. Pour les deux taux (**Schultz *al.* 1990**).

I-3- 2-Facteurs liée aux conditions extrinsèques :

I-3- 2-1-Alimentation de l'animale :

L'alimentation de l'animal est très importante, car elle permet l'amélioration de taux de matière grasse et les protéines.

- Le taux protéique peut être amélioré par des apports spécifiques en acides aminés (lysine et méthionine).
- Le taux butyreux dépend à la fois de la part d'aliment concentré dans la ration, de son mode de présentation et de distribution (finesse de hachage, nombre de repas, mélange des aliments). (**Coulon et Hoden ,1991**)

I-3- 2-2-Saison et climat :

➤ **saison**

L'effet global de la saison sur les performances des vaches laitières est traduit par :

- Une production maximale au printemps et minimale en été selon l'influence de la saison de vêlage ;
- Une teneur en matières grasses minimal à fin du printemps et maximale en automne.
- Une teneur en calcium minimale en été et maximal au printemps (**KEILING et**

WILDE, 1985).

➤ **Climat :**

Les facteurs climatiques tel que La température, les radiations solaires, l'humidité relative agissent par leurs interactions considérables sur les performances de l'élevage.

Un ensemble d'auteurs démontrent par leurs nombreux travaux que L'augmentation de la température ambiante pourrait avoir un effet propre favorable à la production laitière et défavorable à la richesse du lait. C'est à dire la production laitière augmente avec l'augmentation de la température, tandis que les taux butyreux et protéiques du lait sont les plus faibles en été et les plus élevés en hiver.

La température idéale pour la production laitière oscille autour de 10°C.

I-4- Propriétés physiques du lait

I-4-1- La densité :

La densité est le rapport de la masse volumique avec celle de l'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 inférieur à 1. (**Vignola, 2002**).

La densité varie proportionnellement à la concentration des éléments dissous et en suspension mais varie de façon inverse à la tension en graisse (**Alais, 1984 ; Boudier et Luquet ,1981**).

I-4-2- Point de congélation :

Le point de congélation du lait est l'une de ces caractéristiques physiques les plus Constantes (**Mathieu, 1998**). Il est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la Présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Il peut varier de -0,530°C à - 0,575°C (**Mathieu, 1998**).

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

I-4-3- L'acidité

Le lait possède une certains acidité une fois qu'il sorte de pis de vache. Cette acidité est dû principalement à la présence des protéines, surtout les caséines et les lactalbumines, de substances minérales telles que les phosphates et le gaz carbonique, ainsi que des acides organiques, le plus souvent l'acide citrique (**Amariglio ,1986**).

Un lait frais normal a une acidité titrable de 16 à 18° degré Dornic selon (**Veisseyre ,1975**).

I-4-4-Le PH :

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait, Le pH du lait frais normal est de l'ordre de 6,7.Cette valeur est dû en grande partie aux groupements basiques ionisables et acides dissociables des protéines, aux groupements esters phosphoriques des caséines et aux acides phosphoriques et citriques (**MATHIEU, 1998**).

Une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique si il ya une action des bactéries lactiques ce qui entraine une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H3O+) et donc une diminution du pH

I-4-5-Point d'ébullition :

Le point d'ébullition est la température atteinte lorsque la pression de la solution est égale à la pression appliquée.

Le point d'ébullition de lait est légèrement supérieur au point d'ébullition d'eau, soit 100,5°C. (**Vignola, 2002**).

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques du lait cru (**BOURGEOIS et al., 1996**)

Caractéristiques	Valeurs
Densité	1,028 -1,034
Acidité titrable en degré Dornic (°D)	1 5 – 18
Point de congélation	-0,5- 0,55
Point d'ébullition	100,5 °C
pH (20°C)	6,5-6,7

II -Etude Bactériologique du lait cru

II -1- Microbiologie du lait cru :

- La composition chimique et les propriétés physico-chimiques de lait font un milieu favorable pour la multiplication de grandes variétés du microorganisme d'origine divers.
- Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries, des levures et des moisissures, des virus **(Billon et al. 2009)**.
- Certains de ces microorganismes constituent un danger pour le consommateur du lait cru. D'autres sont seulement des agents d'altération de ce produit ; ils dégradent les composants du lait en donnant des produits de métabolisme indésirables **(Guiraud, 1998)**
- Les microorganismes du lait sont répartis en deux grandes classes :
 - ✓ la flore originelle
 - ✓ la flore contaminant.

II- 1-1- la flore originelle :

C'est l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des microorganismes mésophile **(Vignola, 2002)**.

Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores :

- ✓ *Micrococcus sp.*
- ✓ *Streptococcus lactiques.*
- ✓ *Lactobacillus*

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)**

Tableau 4: Flore indigène du lait cru **(Amiot et al, 2002)**.

Microorganismes	Pourcentage (%)
Micrococcus sp.	30-90
Lactobacillus	10-30
Streptococcus ou Lactococcus	< 10
Gram negative	< 10

II-1- 2- flore de contamination

La flore de la contamination est l'ensemble des microorganismes, susceptible de contaminer le lait depuis sa récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une :

- ✓ flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels et réduira la durée de conservation des produits.
- ✓ flore pathogène : dangereuse du point de vue sanitaire (**Vignola, 2002**)

Les contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de :

- **L'environnement:** entérobactéries, Pseudomonas, Flavobacterium, Microcoques, Bacillus.
- **Des contaminations d'origine fécale :** Clostridium, les entérobactéries (coliformes), les entérobactéries pathogènes (*Salmonella, Yersinia*)
- **Air et eau :** Pseudomonas, bactéries sporulées
- **Sol :** bactéries sporulées, spores fongiques, listéria
- **Équipements de la traite et de stockage du lait :** flore lactique, microcoque, Lactobacilles, Streptocoques, Leuconostoc, levure.
- **Manipulateurs:** Staphylocoques dans le cas de traite manuelle, mais aussi germes provenant de contaminations fécales.

II -2-Les principales sources de contamination du lait cru :

La contamination de lait peut provenir de :

- L'animal : intérieur ou extérieur de la mamelle.
- L'environnement : sol, atmosphère, eau...
- Matériel servant à la collecte du lait (machines à traire, filtre, récipients divers)
- L'homme. (**Guiraud, 1998**).

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

Les microorganismes de lait ont la capacité de multipliés rapidement dans les conditions favorables, il faut donc d'assurer l'abaissement de la température a moins de 10°C dans les heurs qui suit la traite pour freiner la croissance microbienne.

Le lait recueillir à la ferme doit être toujours maintenu a froid afin de stabiliser la flore microbienne.

II- 2-2-Contamination par l'animale

L'usage des antibiotiques contre les infections des vaches laitières au cour de la période de lactation traduit par la présence des résidus dans le lait, ces laits anormaux doivent être séparés du lait sain (**Ben Mahdi et Ouslimani, 2009**).

Les surfaces des trayons et l'extérieur des mamelles sont toujours très chargés des microorganismes, cette charge qui est liée aux conditions de stabulation et la propreté de l'animale représente une source de contamination majeure de lait.

La propreté de l'animale et particulièrement celle des mamelles a un impacte significative sur le taux des mammites environnementales, il faut donc maintenir un niveau de propreté de vache pour éviter la transmission des agents pathogènes vers les canaux des trayons.

Il est nécessaire d'effectuer un nettoyage de pis de vache avant la traite pour avoir un lait de bonne qualité microbiologique (**Boudier et Luquet, 1978**).

II- 2-3- Contamination au cours de la traite :

Un nombre important de groupes microbiens sont systématiquement détectés à la surface des trayons d'entre eux : la flore de contamination et la flore utile qui est fortement dominante.

Il existe une différence de charge et de composition microbienne pour un même réservoir, cette différence liée à la saison. En été, les surfaces des trayons sont des réservoirs d'un nombre très moindre des microorganismes d'origine divers ; par contre, dans les lactoducs, 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. (**Lemire, 2007**).

II- 2-4- Contamination au cours du transport :

Le lait est transporté par des camions-citernes réfrigérés pour le but d'arrêter la croissance des microorganismes. (**Weber, 1985**).

Une mauvaise réfrigération de lait au cours de transport peut altérer la qualité du lait (**Jakob et al, 2011**).

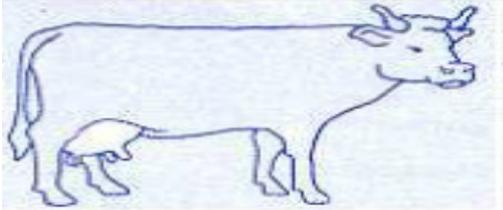
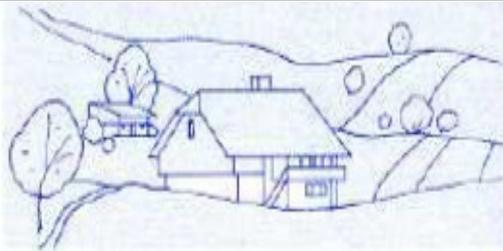
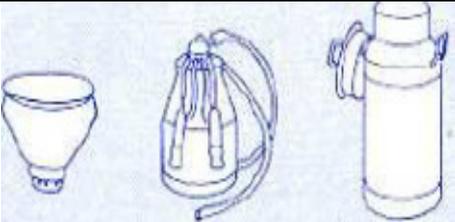
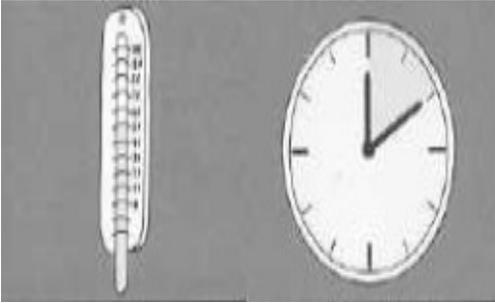
	Normale	Anormale	
Pis	< 100 germes par milliliter	100000 et plus par millilitre	
Environnement	1000-5000 germes par milliliter	10000 et plus par millilitre	
Ustensiles à lait	1000-30000 germes par milliliter	100000 et plus par millilitre	
Refroidissement et durée de stockage	Pas d'augmentation significative	500000 et plus par millilitre	

Tableau 5: Sources et niveaux de contamination

Chapitre III : l'impact de la présence des germes de genre *Clostridium* sur la production du fromage

III-1- Les caractéristiques générales des bactéries butyriques appartenant au genre des *Clostridium* :

- Le genre de *Clostridium* butyrique est un genre bactérien regroupant des bacilles Gram positif anaérobie stricte, gazogène, mobile en générale.
- Les *Clostridium* appartiennent à la famille *Clostridiaceae*.
- Ce sont des Germes thermorésistants : ils résistent aux traitements thermiques comme la pasteurisation et se développent à des températures élevées.
- Provoque un gonflement tardif de fromage
- ce sont des germes saprophyte tellurique intervenant dans la putréfaction des déchets organiques, ils peuvent aussi se trouver en commensaux de la flore intestinale.
- Ils sont également très répandus dans la nature (le sol, l'alimentation des bétails, les étables, eau contaminée).
- ce sont des bactéries qui forment des spores lorsque le milieu physique ou nutritionnel devient limitant ce qui leur permet de survivre dans des milieux qui leur sont hostile.
- Possède la faculté de fermenter des différents sucres avec la production de gaz carbonique, hydrogène.
- La croissance de ces bactéries s'arrête en présence d'oxygène

Le genre *Clostridium* comporte de nombreuses espèces dont certaines hautement pathogène pour l'homme les plus connus sont : *Clostridium botulinum* , *Clostridium perfringens*.

D'autres espèces comme *C. butyricum*, sans danger pour l'homme, présent dans les aliments d'animaux (ensilage), peuvent être séparé en trois principaux groupes :

- Les clostridies protéolytiques :

Ces espèces ferment des acides aminés avec la production d'azote ammoniacale, un mélange des acides organiques, production d'ammoniac et gaz carbonique, il s'agit généralement des réactions de désamination, décarboxylation, oxydo-réduction. ces groupes travaillent à un pH supérieure à 5.

- Clostridies saccharolytiques :

Ces espèces ferment les hydrates de carbone avec la production de l'acide acétique et butyrique.

Cette dernière travail à un ph légèrement plus bas que ce lui des clostridies protéolytiques

- Les clostridies saccharolytique d'espèce *C. trybutyricum* :

Cette espèce ferment qu'un nombre limite du sucre, elle possède la faculté de fermenter l'acide lactique en acide butyrique et l'hydrogène, gaz carbonique ce qui enjoint une augmentation de PH dans les ensilages

Cette espèce a un impacte sur la fabrication des certains fromages.

III-2- Contamination de lait par des spores butyriques :

La contamination de lait par des spores butyriques est lié d'une part à l'utilisation de l'ensilage (fourrage conservé à l'absence de l'aire) pour l'alimentation des vaches, et d'autre part aux mauvaises conditions d'hygiènes dans l'étable et lors de la traite de vache (environnement de vache, sol).

Il est impossible d'avoir un lait exempt des spores butyriques, le niveau de contamination toléré pour le lait cru est 1000 spore /l (**Demarquilly, 1998, vissere et al, 2006**) mais pour le le niveau de contamination toléré est plus bas 10-100 spore pour les fromages de types gouda (**klijine al, 1995**).

La contamination des ensilages est le facteur plus important, après une étude de processus de contamination de lait cru les résultats ont démontré que pour avoir un niveau de contamination maximale des 1000spore/l, les clostridies dans l'ensilage ne devrait pas dépasser 1000spore/g d'ensilage.

Lorsque les ensilages dépassent le niveau de contamination toléré, ces ensilages ne devrait pas être utilisé pour nourrir des vaches dont le lait utilise peut provoquer un gonflement tardif de fromage.

Une alimentation traditionnelle a base de l'herbe ou foin peut réduire le niveau de contamination par les spores butyrique

Les méthodes utilisées pour le nettoyage de pis de vache lors de traite doivent être efficace de l'ordre de 75 pourcent. (**visseres et al, 2006**).elle se fait par l'utilisation d'une serviette du papier humide imprégnée d'une solution de 10 % de iso-propanol avec un lavage pendant 10 second afin d'atteindre des meilleures cette efficacité.

III-3- La présence des spores butyrique dans le fromage et leur impact :

L'ensilage est un milieu humide et sans oxygène, très favorable au développement des butyriques. Si l'ensilage contaminé (à partir de 1'000 spores par gramme) est distribué, les spores se retrouveront 10 fois plus nombreuses dans la bouse de ces animaux. Il suffit alors que les mamelles des vaches laitières en soient légèrement souillées pour que le lait soit contaminé

Pendant les premières phases de la fabrication du fromage, les spores butyriques ne germent pas ; elles entrent en activité lors de l'affinage. Ce qui provoque des défauts grave tel que la présence d'ouvertures, de fissures, d'écaillages, de crevasses et parfois, une consistance spongieuse de la pâte, odeur et saveure désagréable.

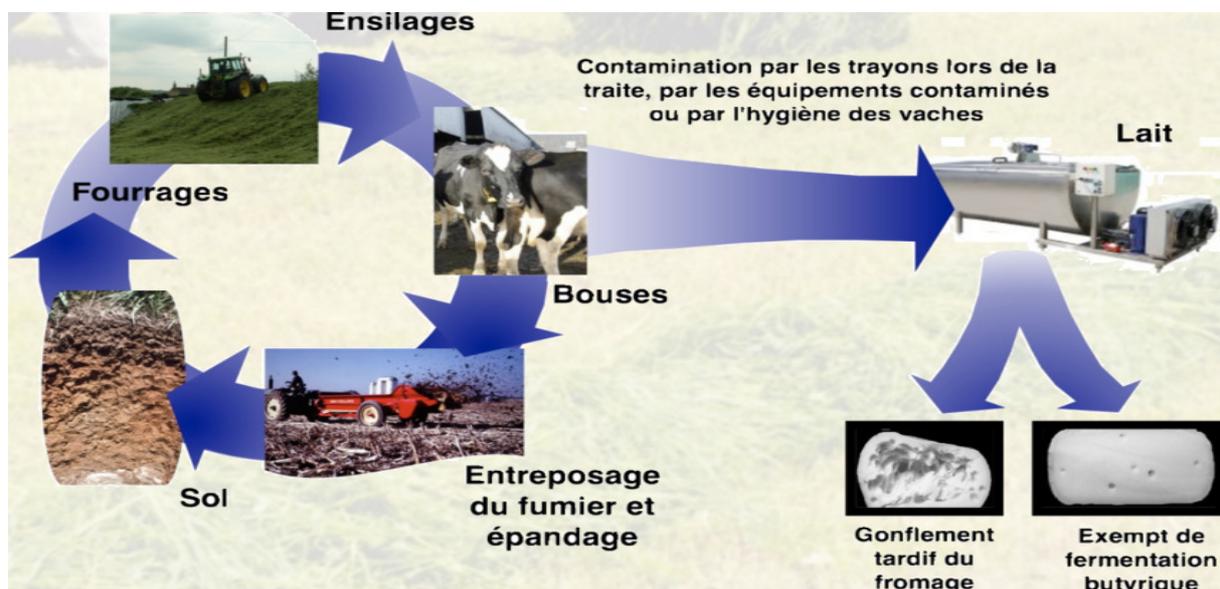


Figure 1. Cycle de contamination du lait par les spores de Clostridium . **Pahlow et al. (2005);** **Viissers et al. (2006)**

III-4- La stratégie pour lutter contre une contamination butyrique :

✚ Optimiser l'ensilabilité des plantes

- L'atteinte d'une matière sèche de 30"%" pour les graminées et le maïs ensilage et de 35"%" pour les légumineuses est un niveau minimal pour l'ensilabilité lorsque le fourrage est haché.
- Lorsque le fourrage est ensilé en balles rondes, il faut augmenter la teneur minimale en matière sèche de 5%.
- Il est important de respecter les teneurs en matière sèche recommandée pour s'assurer des bonnes conditions d'ensilement.

✚ Diminuer l'inoculum de spores butyriques entrant au silo :

- Il faut minimiser l'apport de sol et tout autre résidus contenant un nombre élevé de Clostridium.
- Dans des conditions sub-optimales de fermentation, l'utilisation d'un additif à ensilage est

recommandée.

- Pour le lait destiné aux fromageries, éviter l'épandage de fertilisants organiques.

Favoriser l'établissement rapide de la fermentation lactique

- Effectuer un préfanage, un remplissage et une fermeture rapide du silo.
- Hacher les fourrages pour libérer les sucres.
- Ensiler à la teneur en matière sèche recommandée.
- L'utilisation d'un inoculant lactique pourrait aider au démarrage rapide de la fermentation.

Assurer une bonne stabilité aérobie

- Assurer une fermentation lactique rapide et efficace.
- Maintenir de bonnes conditions d'étanchéité du silo.
- Assurer une bonne compaction des fourrages lors de la mise en silo.
- Éviter les teneurs en matières sèches supérieures à 50%.
- Avoir un silo adapté à la grosseur du troupeau pour assurer une reprise adéquate.
- Avoir une méthode de reprise qui limite l'infiltration d'air dans la masse d'ensilage

Avoir une bonne hygiène lors de la traite et dans l'étable

- Avoir une bonne technique de nettoyage des trayons lors de la traite.
- Avoir de bonnes mesures d'hygiène dans l'étable pour éviter que les vaches soient souillées de façon excessive.

Partie expérimentale

Partie expérimentale

1. Présentation de Laboratoire :

L'étude expérimentale a été faite au niveau de laboratoire de répression des fraudes qui est situé à la wilaya de Bouira, plus précisément dans le quartier de Abdelkader el Djilali Sour el ghozlane

Ce laboratoire exerce ses compétences dans un large domaine d'activité ; depuis la simple mesure de routine jusqu'au contrôle de protocoles locaux imposés, soit par un plan qualité, soit par réglementation locale et internationale relative à la sécurité sanitaire.

Le laboratoire de répression des fraudes est divisé en deux départements : physico-chimique et microbiologique dotés d'un équipement scientifique performant et personnel qualifié pour effectuer des analyses et des essais à la vérification de la conformité de produits conformément à l'article de 25/02/2009.

Les prestations que le laboratoire s'offre s'orientent autour des principaux axes :

- ✓ Les analyses des produits industriels et les aliments
- ✓ Les analyses d'eau.

2. L'objectif de ce travail :

La mise en évidence de la qualité hygiénique et sanitaire de lait cru de vache provenant de plusieurs fermes de la région d'Aghbalou tout en comparant les résultats obtenus par rapport aux normes requises.

3. Matériel et méthodes :

- **La collecte et le transport de lait :**

Le lait cru de vache utilisé dans cette étude expérimentale est prélevé à partir de 2 fermes situées dans la commune d'Aghbalou ; chaque ferme contient environ 15 vaches et 10 vaches ont été prises au hasard pour la traite. Les prélèvements ont lieu à 8 h de matin et sont effectués chaque jour de 15 avril jusqu'à 5 mai 2018 manuellement directement de pis de vache, les échantillons de 1 à 10 proviennent de la 1^{er} ferme et de 10 à 20 de la deuxième ferme.

Des échantillons de 200 ml conditionnés dans des flacons stériles en verre ; ont été identifiés par étiquettes et placés directement dans une glacière munie d'un accumulateur de glace et sont acheminés au laboratoire afin de les analyser

- **Analyse bactériologique de lait cru :**

Toutes nos recherches et analyses ont été effectuées selon les normes du journal officiel (N°35 de 27 mai 1998).

Partie expérimentale

L'arrêté interministériel du 24 janvier 1998, relatif aux spécificités microbiologiques de certaines denrées alimentaires, qui fixe les critères microbiologiques du lait cru, en poudre, fermenté acidifié ou infantile ainsi que les modalités d'interprétation des résultats d'analyses microbiologiques.

Tableau 6 : Spécificités microbiologiques du lait cru (J.O, 1998).

Bactéries recherchées dans le lait cru	n	c	M
Germes aérobies à 30°C.	1	-	10 ⁵
Coliformes fécaux.	1	-	10 ³
Streptocoques fécaux.	1	-	Absence/0.1ml
Staphylocoques aureus.	1	-	Absence
Clostridium sulfito-réducteurs à 46°C.	1	-	50
Antibiotiques.	1	-	Absence

M : seuil limite d'acceptation au-delà duquel le lait est de qualité non satisfaisante et considéré comme toxique.

n : nombre d'unités composant l'échantillon.

c : nombre d'unités de l'échantillon donnant les valeurs situées entre « m » et « M ».

Mode opératoire

- **Préparation des solutions mères et dilutions :**

Dilution : On réalise à partir du lait des dilutions successives en progression géométrique de raison de 1/10. Les dilutions s'effectuent de la façon suivante :

4 .Mode opératoire :

Les dilutions décimales :

Introduire 1 ml de suspension mère (10⁰) dans un tube contenant 9 mL de TSE pour obtenir la dilution au 1/10 (10⁻¹).

- Homogénéiser parfaitement par agitation.

Pour réaliser la dilution 10⁻², on répartit 1 ml de la dilution 10⁻¹ dans 9 ml du diluant TSE à l'aide d'une pipette de 1 ml(ou d'une pipette automatique à embouts jetables.)

Après avoir homogénéisé par agitation le contenu du tube N° 1, on en transfère 1 ml dans le tube N° 2 contenant 9 ml de TSE à l'aide d'une autre pipette, de même manière on réalise les dilutions suivantes 10⁻⁴, 10⁻⁵. (Voir l'Annexe 3.1)

Partie expérimentale

4.1 Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30° C :

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) est dénombrée sur la gélose PCA après ensemencement en profondeur et incubation 24 h à 30°C.

- Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1ml d'échantillon pour essai et des dilutions décimales retenues dans des boîtes pétri stériles.
- Couler 12 à 15 ml de gélose PCA après liquéfaction.
- Pour l'homogénéisation de l'inoculum et la gélose on doit faire les mouvements circulaires.
- Laisser solidifier en posant la boîte sur une surface fraîche et horizontale.
- Placer les boîtes de pétri retournées dans une étuve à 30°C pendant 72h (Voir Annexe 3. 2).

Dénombrement :

Pour interpréter les résultats, on ne doit pas tenir compte des boîtes qui contiennent entre 30 et 300 colonies (en surface et dans la masse),

On compte toutes les colonies de tailles et de formes différentes. La moyenne du dénombrement est réalisée selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

N : nombre de micro-organismes par ml.

$\sum c$: est la somme des colonies comptées sur les deux premières boîtes retenues successives.

d : la dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été obtenus.

4.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux à 44°C : (NFV08-060)

Les coliformes fécaux sont des entérobactéries qui possèdent la capacité de se multiplier à 44°C ainsi que la propriété de fermenter du lactose en présence de sels biliés.

Les coliformes sont recherchés par ensemencement en profondeur sur gélose biliée lactosée au rouge neutre et violet cristal (VRBL) et incubée à 44°C pour les coliformes fécaux.

Mode opératoire :

L'ensemencement se fait en profondeur.

1. Après identification des boîtes, déposer stérilement 1 ml chaque dilution (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). homogénéiser.

Partie expérimentale

2. Couler 12 à 15 ml de gélose VRBL fondue au préalable et refroidie dans un bain d'eau à 45°C ou dans une étuve à 50°C.
3. Mélanger en maintenant la boîte couverte sur la surface de la table, lui faire décrire 6 cercles, dans le sens des aiguilles d'une montre, puis 6 cercles en inverse, en suite 6 aller et retour de haut en bas et 6 autres de gauche à droite en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis laisser refroidir.
4. Rajouter 5 ml de la gélose VRBL.
5. Incuber 44°C pendant 24 (voir Annexe 3. 3)

Lecture :

Après la période d'incubation procéder au comptage des colonies caractéristiques de coliformes fécaux (violacées, d'un diamètre de 0.5 mm au plus et entourées d'une zone rougeâtre

Dénombrement :

Retenir pour le comptage la boîte contenant entre 15 à 150 colonies.

Calcul du nombre des colonies par millilitre.

La moyenne de dénombrement est réalisée selon la formule suivante:

$$N = \frac{\Sigma c}{1,1 d}$$

N : nombre de micro-organismes par ml.

Σc : la somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.

d : la dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été obtenus.

4.3. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* (ISO6888-1)

Le dénombrement des *staphylococcus aureus* est réalisé par ensemencement en surface sur un milieu sélectif solide (Baird Parker). L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures).

Mode opératoire :

- Transférer à l'aide d'une pipette stérile 0,1 de l'échantillon pour essai à la surface d'une boîte de pétri contenant un milieu gélosé sélectif complet (Baird Parker) additionné de jaune d'œuf et de tellurite de potassium
- Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface de milieu

Partie expérimentale

- Retourner les boîtes préparées et les incuber dans une étuve à 37° c pendant 24h à 48 h (voir Annexe 3-4)

Lecture :

Absence ou bien présence des colonies caractéristiques et non caractéristiques

- **Les colonies caractéristiques** : sont des colonies noire brillantes convexes entouré d'une zone transparente qui peut être translucide
- **Les colonies non caractéristiques** : sont des colonies noires brillantes convexes ou grises noirâtre ayant parfois un aspect mat dépourvues de zone transparente

4.4. Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs :

Les Clostridium sulfito-réducteurs sont considérés comme germes témoins de la contamination.

Mode opératoire :

- Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des bactéries d'anaérobiose des bactéries sulfito-réducteur, ces dernières forment en anaérobiose, des colonies caractéristiques noires.
- Ensemencement en profondeur de milieu gélosé triptose sulfite à la cyclosémie dans des tube contient 1ml de dilution 10^{-1} .
- Laisser refroidir quelque minute puis en ajoute une deuxième couche de TSC pour favoriser l'anaérobiose
- L'incubation se fait à 46°C pendant 24h à 48 (voir Annexe 3-5)

✓ Lecture :

- La lecture est effectuée par comptage de colonies caractéristiques (entourées d'un halo noir).
- Retenir pour le comptage le tube contenant entre 15 à 150 colonies.
- Calculer de nombre des colonies par millilitre.
- On utilise toujours la même formule pour le calcul du nombre des microorganismes.

5. Résultats Et Discussion :

Les résultats relatifs aux caractéristiques microbiologiques des échantillons de lait sont présentés dans les tableaux suivant :

Tableau 7: Résultats des analyses microbiologiques du lait cru provenant de la ferme 1

Partie expérimentale

	FTAM	CF	S.aureus	CSR
Echantillon 1	$1.1 \cdot 10^5$	0	–	$4 \cdot 10^1$
Echantillon 2	$1.5 \cdot 10^6$	$5.2 \cdot 10^3$	–	0
Echantillon 3	$1.9 \cdot 10^6$	0	–	$3.2 \cdot 10^1$
Echantillon 4	$1.8 \cdot 10^6$	$1.1 \cdot 10^2$	–	$1.9 \cdot 10^1$
Echantillon 5	$7.7 \cdot 10^5$	0	–	$2 \cdot 10^1$
Echantillon 6	$4.5 \cdot 10^6$	$1.51 \cdot 10^3$	–	0
Echantillon 7	$5.3 \cdot 10^5$	10^2	–	0
Echantillon 8	$5.6 \cdot 10^6$	$1.1 \cdot 10^2$	–	$1.1 \cdot 10^1$
Echantillon 9	$3.2 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^3$	–	0
Echantillon 10	$2 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^3$	–	$2.2 \cdot 10^1$
Moyenne	$1.72 \cdot 10^6$	$1.4 \cdot 10^3$	–	$1.4 \cdot 10^1$

Les résultats obtenus montrent une présence considérable de la flore mésophile aérobie totale avec un nombre varie de $1.1 \cdot 10^5$ à $5.6 \cdot 10^6$ ufc/ml ufc qui dépasse la norme de 10^5 UFC/ml fixé par la loi nationale (JORA, 1998) pour tous les échantillons.

Une absence des staphylocoques aureus dans tous les échantillons de lait analysés. De points de vue coliformes fécaux, trois échantillons (N° 01 et N° 03 et N° 04 et N° 05 et N° 08) sont considérés comme satisfaisants par rapport à la norme algérienne mes les autre échantillons sont dépassent la norme 10^3 UFC/ml fixé par la loi nationale (JORA, 1998).

Pour les échantillons ((N° 02 et N° 06 et N° 07 et N° 09) en remarque une absence totale des Clostridium sulfito-réducteur mais pour les autre échantillons sont présents avec des valeurs considérables et normales

Partie expérimentale

Tableau8 : Résultats des analyses microbiologiques du lait cru provenant de la ferme 2

	FTAM	CF	ST	CSR
Echantillon 1	$2.2 \cdot 10^4$	$6.9 \cdot 10^2$	-	$4.3 \cdot 10^1$
Echantillon 2	$6.5 \cdot 10^3$	$7.3 \cdot 10^2$	-	$1.9 \cdot 10^1$
Echantillon 3	$1 \cdot 10^2$	$3.6 \cdot 10^3$	-	0
Echantillon 4	$3.2 \cdot 10^4$	0	-	$1 \cdot 10^1$
Echantillon 5	$5.8 \cdot 10^4$	$1.4 \cdot 10^2$	-	$3.3 \cdot 10^1$
Echantillon 6	$4.3 \cdot 10^3$	0	-	$1 \cdot 10^1$
Echantillon 7	$1.7 \cdot 10^4$	$2.5 \cdot 10^1$	-	$1.8 \cdot 10^1$
Echantillon 8	$4 \cdot 10^2$	$6.4 \cdot 10^1$	-	$2.7 \cdot 10^1$
Echantillon 9	$1.9 \cdot 10^4$	0	-	0
Echantillon 10	$2 \cdot 10^4$	$3.5 \cdot 10^3$	-	0
La moyenne	$1.6 \cdot 10^4$	$8.7 \cdot 10^2$	Absence	$1.6 \cdot 10^1$

Les échantillons prélevés au niveau de la ferme 2 présentent une charge microbienne normale en germe aérobic mésophile avec une valeur $1 \cdot 10^2$ à $5.8 \cdot 10^4$ UFC/ml. Donc elle est inférieure à la norme décrite par la loi nationale (JORA, 1998 pour tous les échantillons. (10^5 UFC/ml)

La norme concernant le *Staphylococcus aureus* est l'absence du germe dans le lait cru, les résultats obtenus sont conformes à la norme (JORA, 1998).

Une charge globale microbienne de coliforme fécaux et en *Clostridium sulfite-réducteur* est variable et normale.

Discussions

I. la flore mésophile aérobic totale

Les résultats obtenus montrent une présence considérable de la flore mésophile aérobic totale dans la première ferme (tableau N°7) dépasse la norme de 10^5 UFC/ml fixé par la loi nationale (JORA, 1998).

Partie expérimentale

La présence importante de cette flore résulte d'une multiplication bactérienne intense, favorisée par la, non-maîtrise des conditions d'hygiène lors de la traite (**Amhoury et al., 1998**).

Selon **Faye et Loiseau (2002)**, lait cru est produit par un animal sain, dont la traite effectuée dans de bonnes conditions d'hygiène, donne normalement un lait peu contaminé contenant une flore globale de 10^3 à 10^5 UFC/ml.

On constate que le nombre de FTAM dans le lait de vache enregistré dans la deuxième ferme est inférieur à la norme publiée par N.A (1998) (10^5 UFC/ml). Donc la valeur de la contamination est négligeable, cela est dû probablement à la principale méthode d'hygiène respectée à savoir le nettoyage des mains et les mamelles.

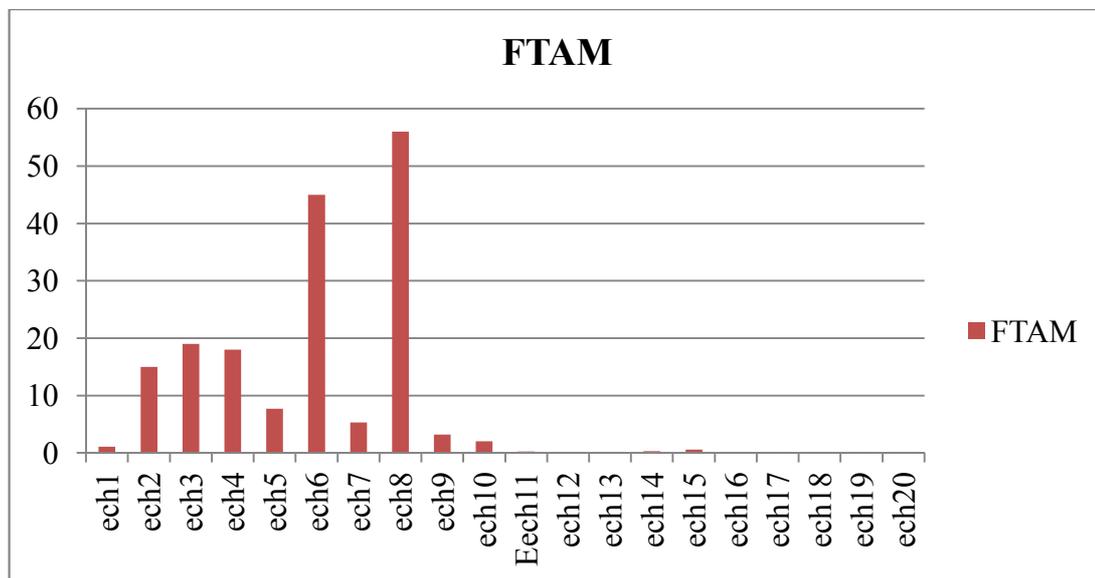


Figure n°7: Contamination des 20 échantillons de lait étudié en flore totale (UFC/ml).

II. Les Coliformes fécaux

Selon le tableau N°7, on trouve le nombre des coliformes fécaux dans le lait de la première ferme dépassent la norme 10^3 mentionnée par la loi nationale (**JORA, 1998**)

La présence de ces germes dans le lait cru indique une source de contamination environnementale, Leur abondance dans le lait cru reflète la non-observance des dispositions sanitaires requises au cours de la traite pour la récolte du lait, Les principaux vecteurs sont fortement liés à la peau des trayons, souillée par les fèces (**Richard, 1983**).

Selon le tableau N° 8 On constate que le nombre des coliformes dans le lait de vache enregistré dans la deuxième ferme est inférieur à la norme publiée par N.A (1998) (10^3 UFC/ml). Donc la valeur de la contamination est négligeable

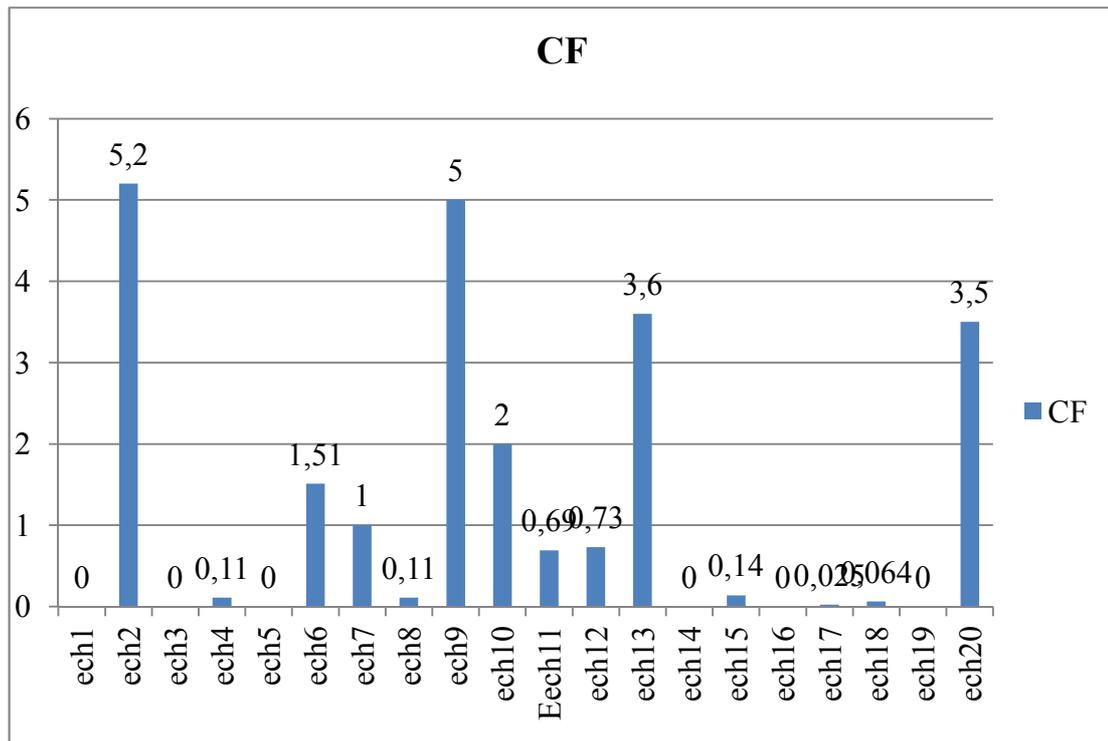


Figure n° 8 : Contamination des 20 échantillons de lait étudié en coliformes fécaux (UFC/ml).

III. Les staphylocoques

L'absence de staphylocoques dans le lait de vache de deux fermes indique une bonne santé des vaches des deux étables et une bonne hygiène de la traite.

Les principales sources de contamination sont, en premier lieu la mamelle. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production, d'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que la machine à traite (THIEULON, 2005)

IV. Clostridium sulfito-réducteurs

La présence des Clostridium sulfito-réducteurs dans les laits crus des deux fermes avec des valeurs inférieures à la norme décrite par le journal officiel de la République algérienne (1998) qui égale à 50 UFC/ml, et GUIRAUD (1998) (< 50 UFC/ml). donc le lait est de bonne qualité et acceptable du point de vue hygiénique qui est dû à une bonne santé des vaches des étables et une bonne hygiène de la traite (Benzakour et al. 2009). Leur présence peut traduire par un manque d'hygiène, car ces bactéries sont très répandues dans la nature (le sol, l'alimentation de bétails, l'environnement des étables et l'eau contaminée).

(Gledel, 1978).

Les clostridium sont donc capables de survivre dans l'environnement et de

Partie expérimentale

Contaminer n'importe quel type d'aliment si les conditions d'hygiène et les traitements thermiques ne sont pas respectées (LEBRES, 2002)

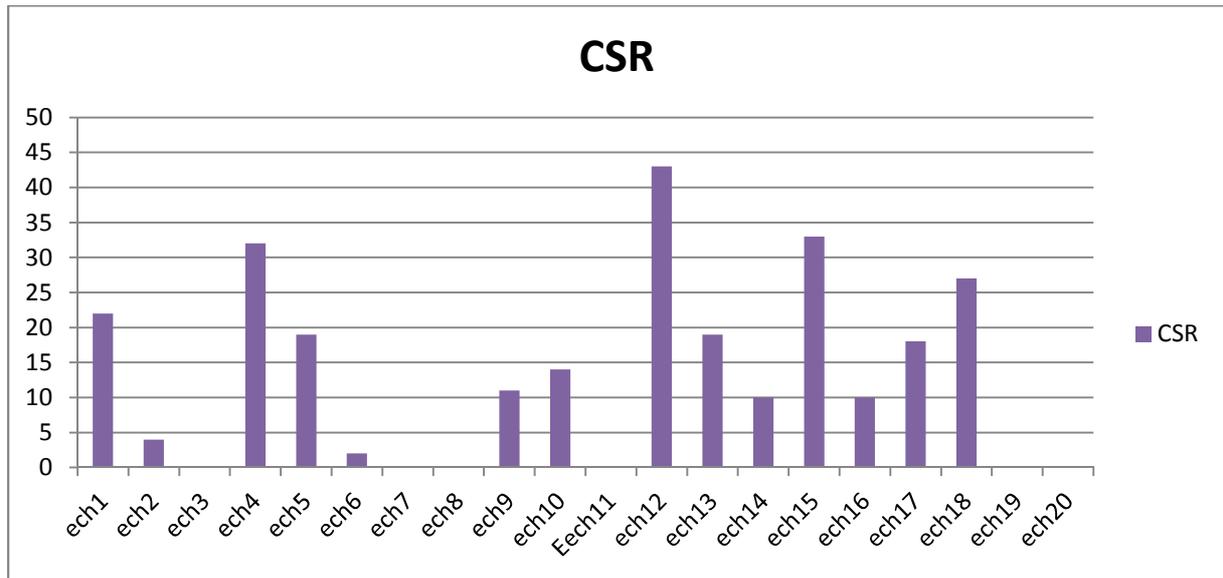


Figure n° 9 : Contamination des 30 échantillons de lait étudié en Clostridium sulfite-réducteur (UFC/ml).

CONCLUSION

CONCLUSION :

La qualité sanitaire du lait répond à plusieurs enjeux, il s'agit, d'une part, d'une condition nécessaire pour assurer la santé des consommateurs et, d'autre part, la question de la qualité est essentielle au sein de la filière car elle conditionne en grande partie l'évolution économique de celle-ci. Le défi est donc non seulement de garantir la sécurité et la salubrité du lait, mais aussi d'assurer au secteur un bon développement économique dans le temps.

Dans l'industrie laitière, les bactéries thermophiles sont des micro-organismes qui croissent dans le lait ou dans d'autres produits laitiers maintenus à une température élevée, soit 55°C ou plus. Ne pouvant croître à des températures inférieures à 40°C, ils ne constituent pas une préoccupation majeure dans le domaine laitier. Toutefois, étant donné que les principales souches thermophiles proviennent de l'ensilage, du sol et d'un manque d'assainissement du pis de la vache, un compte élevé en thermophiles pourra être un indice de manque d'hygiène à la ferme

Malgré l'importance de certaines clostridies surtout dans le lait et les produits laitiers, on constate qu'il n'existe pas de milieux sélectifs. ce qui complique la numération des spores et rend pratiquement impossible la numération des cellules végétatives.

La présence de germe de clostridium dans le lait cru destiné à la fromagerie peut devenir un problème économique pour les industries fromagères

Plusieurs facteurs de risque de contamination de lait cru de vache par les spores de clostridium dû sans doute au :

- ✓ Mauvaise condition d'élevage
- ✓ Une alimentation inadéquate par l'ensilage butyrique
- ✓ Absence des mesures d'hygiène
- ✓ Manque de la propreté des animaux et son environnement

Perspectives

Perspectives

Pour améliorer la qualité du lait cru destiné à la fabrication de fromage, différentes mesures à prendre en charge sont :

- ✓ Propreté de l'étable et des animaux.
- ✓ Evacuer les restes de fourrage, les bouses et le lait qui a coulé sur les couches
- ✓ N'utiliser que des matériaux appropriés (pas de chiffons) pour nettoyer la mamelle.
- ✓ Maintenir propres les endroits où les animaux séjournent.
- ✓ Maintenir propres les ustensiles de traite.
- ✓ Contrôler l'alimentation et la composition du fourrage ;
- ✓ Ne pas distribuer d'ensilage de mauvaise qualité aux vaches laitières et le tenir à l'écart de l'étable.
- ✓ Préparer le fourrage et le distribuer dans les règles de l'art.
- ✓ Respecter les prescriptions relatives à l'alimentation sans ensilage.
- ✓ Remplacer l'ensilage par une alimentation traditionnelle à base de l'herbe pour diminuer le risque de contamination par les spores de *clostridium butyrique*.
- ✓ On espère qu'une meilleure connaissance des caractères physiologiques, biochimiques et sérologiques des espèces importantes de *clostridium (perfringens)* permettra dans un proche avenir d'améliorer les milieux de culture et les techniques de recherche et de numération de ces bactéries.
- ✓ L'utilisation des anticorps fluorescents est peut-être un exemple de ces techniques d'avenir.

A

- **Alias C, 1984.** Science du lait principes des techniques laitier.
- **Amariglio S., 1986.** Contrôle de la qualité des produits laitiers : analyses physiques et chimiques.- 3ème éd.- Paris : ITSV. 1030p.
Amhoury F, Said B, Hamama A et Zahar M., 1998. Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la region d'Errachidia. Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc) 18 (1). pp : 31-35.
- **Amiot J, Fournier S, Lebeuf Y, Paquin P et Simpson R., 2002.** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait: transformation du lait/ Ecole polytechnique de Montreal. pp : 1-74
- **ANONYME, (2000).** « Manuel de transformation du lait, 2ème édition ,105 p »
- **Arrêté interministériel 1998** Relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées. Journal Officiel de la République Algérienne et Populaire 35:7–24.

B

- **Ben Mahdi MH. et Ouslimani S. (2009).** Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. European Journal of Scientific Research vol.36 n°3. pp: 357-362
- **Benzakour A, Berny EH, Elmoualdi L, Labioui H, Ouhssine M et Yachioui M., 2009.** Étude physicochimique et microbiologique de laits crus. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 148. pp : 7-16.
- **Billon P, Corbet V, Leclerc M C, Menard JL, Sauvee O et Troboa D., 2009.** Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretien. 1ère Edition France Agricole. Institut d'élevage. Produire mieux. 849 p.
- **Booth J et Dodd FH., 2000.** Mastitis and milk production. Dans the health y of dairy cattle. Edition Andrews. London. pp: 213-255.
- **Boudier JF et Luquet FM., 1981.** Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, N°21, édition APRIA, Paris.

Références bibliographiques

- **BOURGEOIS C.M. ,MESCLE J-F.et ZUCCA J.,1996.**Microbiologie alimentaire aspect microbiologique de la securité et de la qualité des aliments .vol 1p272 ,275,277,281 ,289.Ed.Tec .et DOC .Lavoisier

C

-
- **Christie, W.W. (1995).** Composition and structure of milk lipids, dans Fox PF. Advanced Dairy, Chemistry, Volume 2, Lipids, 2nded, 1-28.
- **Coulon J-B. et Hoden A. (1991) :** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim., 4 (5).pp: 361-367.

D

-
- **Debry G, (2001)** le lait : Caractéristiques physicochimique. In : lait, nutrition et santé. Technologie et documentions, Paris, Lavoisier, 566p.
- **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.
- **Demarquilly,c .1998 .**Ensilage et contamination du lait par les spores butyriques.INRA production animales :359-364

F

- **Faye B et Loiseau G., 2002.** Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. Edition : CIRAD-FAO, Montpellier, France, pp : 1-5.
- **Fredot E, (2005).**Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier, 14-379p.

G

- **Gledel J., 1987.** Aspect microbiologique : matière première de l'industrie laitiere. Ed Tec et Doc. Paris .pp : 213-223

Références bibliographiques

- **Goursaud J., 1985.** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris
- **Guiraud, J.P. 1998.** Microbiologie des principaux produits alimentaires, Microbiologie alimentaire. Ed ©Dunod, Paris.
- **Guiraud JP. (2003).** Microbiologie alimentaires. Ed. DUNOD. Paris

J

- **JAKOB E. et HäNNI J.P. (2004) :** Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebefeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F
- **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
- **Jeantet R, Croguennec T, Schuck P, Brule G, (2007).** Science des aliments : biochimie, microbiologie, procédés, produits. Paris, Lavoisier, 456-457p.
- **J.O.R.A.N°69 du 27 octobre(1993).** Arrêté interministériel du 29 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. 16. 134. Karst, C. (1984). Les résidus du chloramphénicol : leur rôle dans les anémies.
- **J.O.R.A.N°35. 1998.** Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers.
-

K

Klijin ,N ,F .F .Nieuwenhof ,J.D .Hoolwerf,C .B.Van des waals et A.H.Weerkamp.1995 .Identification of clostridium tyrobutyricum as the causative agent of late blowing in cheese by species-specific PCR amplification .Appel .environ .Microbiol .66 :1328-1333.

L

- **LEBRES. 2002.** Manuel des travaux pratiques, cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments, unité microbiologie des laits et des produits, laitiers, institut pasteur d'Algérie, pp. 21-27.

Références bibliographiques

- **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. (1985).** Lait et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.
- **LUQUET F-M., (1986).** « Lait et produits laitiers: vache, brebis, chèvre » Tome III,Edit Lavoisier, Tech & Doc, Paris.

M

- **Mathieu, J. (1998).**Initiation de la physicochimie du lait. Edition technique et Documentation Lavoisier. Paris. 220.
- **Mietton B, Dermazeau M, Deroissart H, Weber F, (1994).**transformation du lait en fromage : bactérie lactique. Lorica, 614p

P

Pahlow,G ,R .E.Muck,F.Driehuis,et S.J.W.H.O.Elferink .2003.Microbiology of ensiling.Page31 , 93 dans silage science and Technology .Buxton,D.R.,R.E.Muck et J.H.Harrison(éds) .Madison,WI.USA.

S

- **Schultz M, Hassen L, Steuernagle G, Kuck A, (1990).** Variation of milk, fat,protein and somatic cells for dairy. J. DairySci, 73,484p
- **Stoll W. (2003) :** Vaches laitières: l'alimentation influence la composition du lait. RAP Agri. N° 15/2003, vol. 9, Suisse.

V

- **Varnam AH 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.

Références bibliographiques

- **Veisseyre R., 1975.** Technologie du lait: Principes des techniques laitières 3ème éd, Paris, SEPAIC, 714 p.
- **Veisseyer R. (1975)** : Technologie du lait 3ème édition, la maison rustique .Paris.
- **VEISSEYRE R. (1979)** : Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3ème édition. Edition la maison rustique, Paris.
- **Vignola C., 2002.** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. Pp
- **Vissers,M.M.M,F.Driehuis,M.C.T.Giffel,P.D.Jong et J.M.Lankveld .2006 .**

Improving farm management by modeling the contamination of farm tank milk with butyric acid bacteria.J.Dairy sci .89 :850-858

W

- **Weber, F. (1985).** Réfrigération du lait à la ferme et organisation du transport. Food and agriculture organization of the United nations. Tome.12.

Les Annexes

Annexe N° 01 : Matériels pour analyse bactériologique

Matériel courant de laboratoire de microbiologie, et notamment :

1. Appareillage :

- Homogénéisateur ;
- Etuves d'incubation ;
- Capture de colonie;
- Bain marie;
- Bec Bunsen ;
- Portoirs.

2. Verrerie :

- Pipettes graduées ;
- Pipettes Pasteur ;
- Boîtes de pétri ;
- Tubes à essai.

Annexe N° 02 : Milieux de cultures

1. Bouillons et milieux de culture :

- TSE (tryptone sel eau).

2. Milieu de culture solide (gélose) :

- Les milieux de culture hydratés prêts à l'emploi conditionnés en flacon de 250ml ou 180ml utilisés sont :
- Gélose PCA;
- Milieu VRBL ;
- Baird parker ;
- TSC.

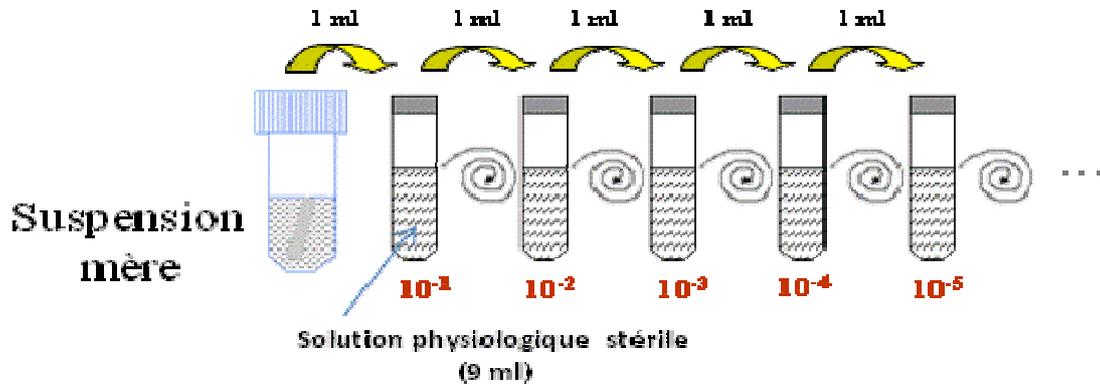
3. Les additifs :

- Solution Tellurite de potassium ;
- Jaune d'œuf

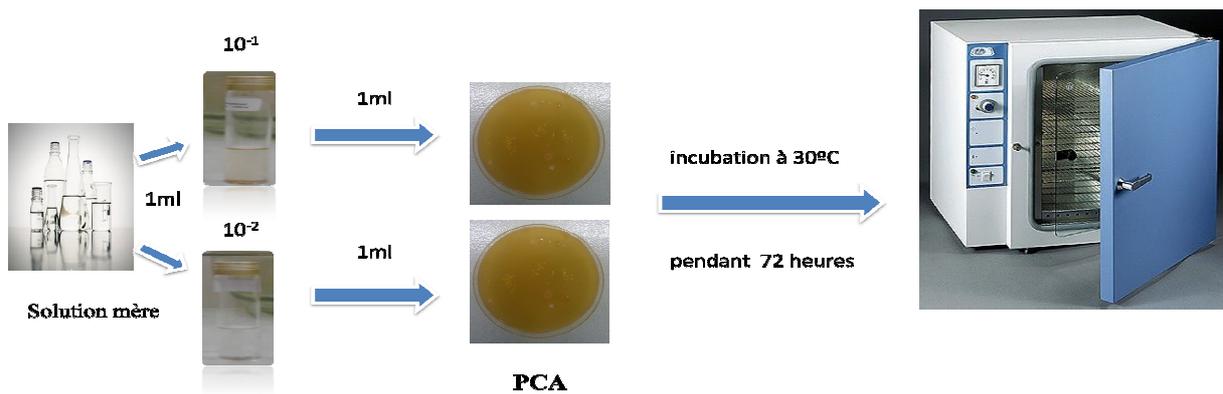
Les Annexes

Annexe 03 : le mode opératoire

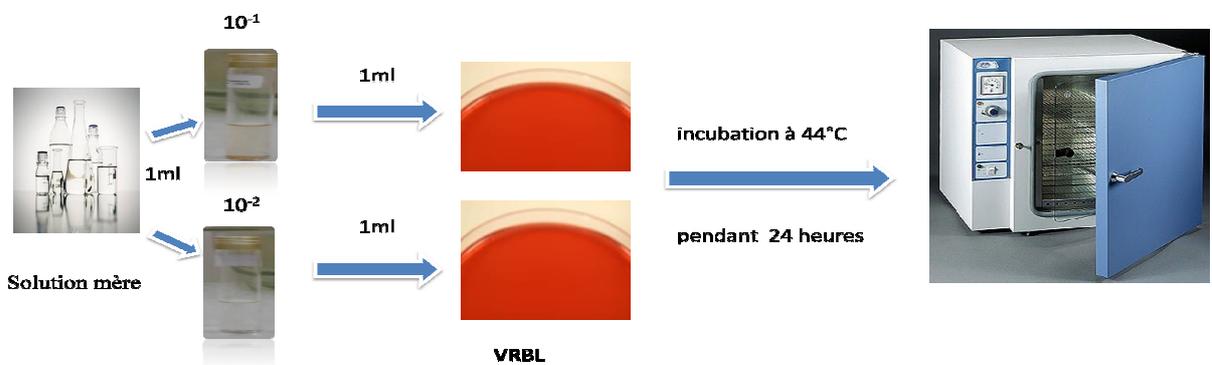
Annexe 3.1- préparation des dilutions décimales



Annexe 3. 2- Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30° C

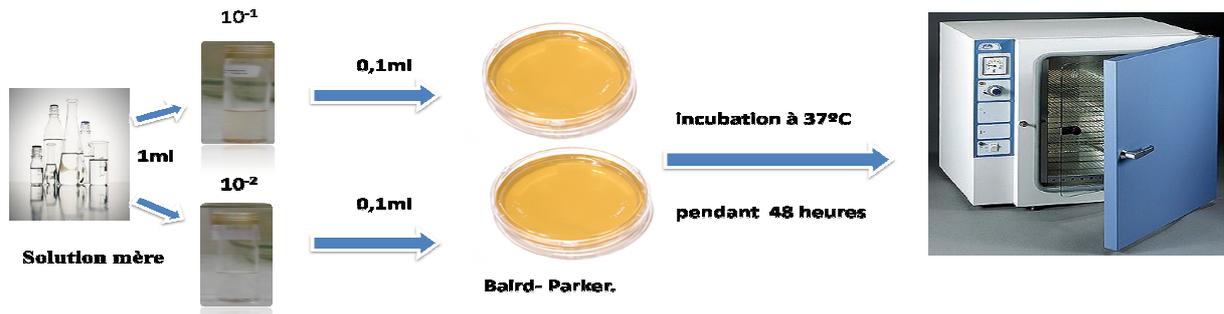


Annexe 3. 3- Recherche et dénombrement des coliformes fécaux à 44°



Les Annexes

Annexe 3. 4-Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* (ISO6888-1)



Annexe 3-5- Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs

