

MINISTERE 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 DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2018



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de la qualité

Présenté par : BENHACICEN Leila et MADKOUR Samira

### *Thème*

**RISQUE DE CONTAMINATION PAR DES GERMES ANAEROBIES SULFITO REDUCTEURS  
DU LAIT ECREME EN POWDRE**

Soutenu le : 08 / 07 / 2019

Devant le jury composé de :

*Nom et Prénom*

*Grade*

Mr. LEKBAL Farouk.

MAA

Univ. de Bouira

Président

Mme. DOUMANDJI Waffa.

MCA

Univ. de Bouira

Promotrice

Mme. CHEKROUNE Malika.

MCB

Univ. de Bouira

Examinatrice

Année universitaire 2018/2019

## REMERCIEMENTS

*En premier lieu nous remercions Allah le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il nous a donné pour l'achèvement de ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre très grande gratitude et nos profonds respects à Notre généreuse promotrice Mme DOUMANDJI.W pour son enthousiasme, sa gentillesse et sa simplicité. Nous saluons aussi sa disponibilité, sa qualité d'encadrement.*

*Nous remercions les membres du jury M LÉKBEL .F Mm CHEKROUN M d'avoir*

*accepté de faire partie du jury et de juger notre travail.*

*Nos vifs remerciements s'adressent également à toute l'équipe de laboratoire de LFB BOUDOUAOU , laboratoire d'hygiène BOUIRA et laboratoire d'institut PASTEUR Dely IBRAHIM .*

*qui nous ont beaucoup aidé durant notre stage*

*A Mme CHAHAD . A , Mme SAYAH .*

*Nous remercions, également toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de notre mémoire.*



## *Dédicaces*

*Avant toute dédicace je tiens à remercier « Allah » le tout puissant qui  
m'a donné le courage pour mener ce travail à terme.*

*Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers, en particulier*

*Mon cher père qui ne cesse de donner sans jamais recevoir, dont je suis*

*fière*

*et j'espère que Dieu lui accorde une longue vie pour qu'il puisse assister à*

*d'autres succès.*

*À ma chère mère, symbole du sacrifice et du dévouement, qui m'a  
accompagnée durant tout ce parcours laborieux, veillée sur moi m'offrant*

*ce qu'une mère a de mieux, l'amour et la compréhension.*

*À toute ma grande famille, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde  
reconnaissance et mes sincères gratitude.*

*À ma chère binôme Samira et à tout sa famille.*

*À toutes les personnes que j'ai connues, en particulier mes amis*

*Et toute ma promotion TAA 2018/2019.*

*À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail,*

*ne serait-ce que par humble présence.*

*LEILA*



## *Dédicaces*

*Tout d'abord, Je remercie Dieu qui m'a aidé à accomplir ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail à ma mère que Dieu lui donne une autre vie au paradis.*

*À mon père qui attend et espère ma réussite.*

*À mes frères et mes sœurs fatiha et souad , À toute ma famille sans exception.*

*À ma chère binôme Leïla qui a beaucoup de patience pour réaliser ce travail.*

*À ma promotrice mme doumangi Waffa pour son suivi, sa patience, sa compréhension et ces précieux conseils.*

*J'ai le grand plaisir de dédier ce travail à mes très chères amies .*

*Je dédie mon travail à toute la promotion TAA 2018/2019.*

*Ainsi que tous les enseignants.*

*Je tiens à remercier tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Samira.*

## **Partie I : Synthèse bibliographique.**

### **Résumé**

### **Liste des abréviations**

### **Liste des figures**

### **Liste des tableaux**

## **INTRODUCTION**

### **Chapitre I : Généralités sur le lait**

I- 1-Définition du lait.....	04
I-2-Composition du lait et sa valeur nutritionnelle.....	05
I-2-1-Eau.....	07
I-2-2-Les glucides du lait .....	07
I-2-3-Les lipides du lait .....	07
I-2-4-Protéines du lait.....	09
I-2-5-La matière saline du lait.....	10
I-2-6-Vitamines du lait .....	11
I-3-Propriétés physico-chimiques du lait.....	12
I-4-Propriétés organoleptiques du lait.....	12
I-4-1- Couleur.....	12
I-4-2-Odeur.....	12
I-4-3-Saveur.....	13
I- 5-Le lait reconstitué .....	13
I-5-1-Définitions du lait reconstitué .....	13
I-5-2-Matières premières .....	13
I- 5-2-1-La poudre de lait.....	14
I-5-2-2-Matières grasses.....	16
I-5-2-3-L'eau de reconstitution .....	16
I-5-2-4-Les additifs .....	17

### **Chapitre II : Microbiologie du lait**

II. 1-La microbiologie de lait cru et leur altération .....	18
II.1.2- Altération du lait.....	18
II.1.2.1- Phase de latence (bactériostatique).....	18
II.1.2.2Phase d'acidification.....	18
II.1.2.3 Phase de neutralisation.....	18

II.1.2.4 Phase d'alcalinisation.....	19
II.2. Les flores microbiennes du lait .....	19
II.2.1 Flore originelle ou indigène .....	19
II.2.1.1. Les bactéries lactiques .....	19
II.2.2. Flore de contamination et Altération .....	20
II.2.3. Les flores pathogènes .....	20
II.2.3.1- <i>Clostridium spp.</i> .....	20
II.2.3.1.1- <i>Clostridium perfringens</i> .....	21
II.2.3.1.2- <i>Clostridium botulinum</i> .....	21
II.2.3. 2 - <i>Bacillus cereus</i> .....	22
II.2.3.3- Moisissures et des levures .....	22
II.3. Intérêt de la recherche des microorganismes.....	23
II.3. 1. - Intérêt hygiénique .....	23
II.3. 2. - Intérêt nutritionnel.....	23
II. 3. 3- Intérêt technologique .....	23

### **Chapitre III : contamination du lait**

III.1-Sources de contamination du lait.....	24
III.1.1 -Contaminations par la poudre de lait.....	24
III.1.2-Contamination à partir des équipements.....	24
III.1.3-Hygiène du personnel .....	25
III.1.4-Qualité de l'eau .....	25

### **partie II : PARTIE EXPERIMENTALE**

I- Présentation de l'unité laitière LFB de B oudouaou .....	26
I.1- Activité principale.....	27
I.2- Gamme de produits.....	27
I.3- Capacité de production.....	27
I.4- L'effectif.....	28
II. Echantillonnage.....	29
II.1. Eau de proces.....	29
II.1.1Analyse physico-chimique d'eau de proces.....	29
II.1.1.1 Mesure du pH.....	29
II.1.1.2-Titre hydrométrique (TH) .....	29
II.1.1. 3-Mesure du taux de chlorures (Cl-) .....	30

II.1.1.4-Titre alcalimétrique (TA) .....	30
II.1.1.5-Titre alcalimétrique complet (TAC) .....	31
II.1.2- Analyses microbiologiques.....	32
II.1.2.1-Recherche et dénombrement des coliformes (totaux et fécaux) .....	32
II.1.2.2-Méthode de recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	34
II.1.2.3- Méthode de recherche et dénombrement des Anaérobies sulfite réducteurs.....	35
II.2- Poudre du lait .....	36
II.2.1-Analyse microbiologique.....	37
II.2.1.1- Méthode de recherche et dénombrement de la flore mésophile totale (FMT).....	38
II.2.1.2-- Méthode de recherche et dénombrement des coliformes fécaux .....	41
II.2.1.3- Méthode de recherche et dénombrement des <i>staphylococcus aureus</i> .....	42
II.2.1.4- recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices et des Clostridium sulfite-réducteurs dans le lait en poudre.....	45

### **Party III : Résultats et discussion**

I.1- resultat de L'eau de procès.....	57
I.1.1 - résultat d'analyse physico-chimique .....	57
I.1.2- Résultat d'analyse microbiologique .....	58
I.1.3- Discussion du résultat.....	58
I.2- Poudre du lait.....	59
I.2.1- Discussion du résultats .....	60
I.2.1.1-Coliformes totaux et fécaux.....	60
I.2.1.2- <i>Staphylococcus aureus</i> .....	60
I.2.1.3- Anaérobies sulfite reducteurs .....	60

### **CONCLUSION**

### **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

### **ANNEXES**

Liste des figures

<b>Figure N° 01</b> : Composition de la matière grasse du lait.....	08
<b>Figure N°2</b> : Procédé de fabrication de la poudre de lait .....	15
<b>Figure N°3</b> : Diagramme de risques de contamination du lait .....	24
<b>Figure N° 04</b> : l'unité de laiterie fromagerie de Boudouaou .....	26
<b>Figure N° 05</b> : carte géographique de Boumerdes .....	26
<b>Figure N° 06</b> : Dénombrement des coliformes avec caractérisation d'E. coli.....	33
<b>Figure N°07</b> : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux .....	34
<b>Figure N° 08</b> : Recherche et dénombrement des <i>clostredium</i> sulfito-réducteurs.....	36
<b>Figure N° 09</b> : la méthode utilisée pour la préparation de la solution mère et des dilutions...38	
<b>Figure N° 10</b> : recherche et dénombrement des germes Aérobie Mésophile Totale à 30°C.....	40
<b>Figure N° 11</b> : Recherche et dénombrement des coliformes en milieu solide.....	41
<b>Figure N° 12</b> : Recherche et dénombrement des <i>staphylococcus aureus</i> .....	43
<b>Figure N° 13</b> : Diagramme de la méthode de l'épreuve de coagulase.....	44
<b>Figure N°14</b> : Galerie Api Système.....	50
<b>Figure N° 15</b> : Lecture de galerie api système « A » spécifique aux germes anaérobies...51	
<b>Figure N°16</b> : Exemples de résultats Api 20A.....	55
<b>Figure N° 17</b> : présentation graphique des résultats d'analyse physico-chimique de l'eau.....	57
<b>Figure N° 18</b> : méthode de Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs dans la poudre de lait.....	61
<b>Figure N° 19</b> : les <i>clostridium</i> sulfito-réducteurs sous forme de colonies, entourés d'un halo noir.....	62



<b>Figure N° 20:</b> galerie API 20.....	62
<b>Figure N°21 :</b> résultats des germes sulfite réducteurs anaérobies.....	63

**Liste des tableaux**

<b>Tableau N°01</b> : composition du lait.....	05
<b>Tableau N°02</b> : Composition de la matière saline (en g par litre de lait).....	09
<b>Tableau N°03</b> : Composition des oligo-éléments (en mg par litre de lait).....	09
<b>Tableau N°04</b> : composition vitaminique moyenne du lait.....	10
<b>Tableau N°05</b> : constantes physique du lait.....	11
<b>Tableau N°06</b> : Les compositions des différentes poudres de lait.....	13
<b>Tableau N°07</b> : les compositions de la MGLA et les huiles de beurre.....	14
<b>Tableau N°08</b> : Flore originelle du lait cru.....	17
<b>Tableau N°09</b> : résultat d'analyse physicochimique de l'eau de procès.....	55
<b>Tableau N°10</b> : résultat d'analyse microbiologique de l'eau de procès.....	56
<b>Tableau N°11</b> : résultat d'analyse microbiologique de lait en poudre .....	57
<b>Tableau N°12</b> : Normes selon le journal officiel Algérien.....	58

**Liste des abréviations**

**°F** : Degré Français

**µm** : micromètre

**API** : analytical profile index

**BCP** : Pourpre de bromocrésol

**BCPL** : Bouillon Lactosé au proupre de bromocrésol

**BHIB** : bouillon infusion cœur cerveau

**CF** : coliformes fécaux

**CT** : coliformes totaux

**D/C**: Double concentrer

**D°** : Degré dormic

**E/H** : eau / huile.

**EDTA** : Ethylène diamine tétraacétique

**EPS**: Exopolysaccharides

**FAMT** : flore mésophile aérobie totale .

**FTAM** : Flore totale aérobies mésophile

**G.I.P LAIT** : groupement industriel pour la production du laite .

**GC**: Giolitti Contoni

**H/E** : huile / eau.

**LFB** : Laiterie et Fromagerie Boudouaou.

**LS** : Lactose-Sulfite

**MG** : Matière grasse

**MGLA** : matières grasses laitières anhydres

**NB** : note a binet.

**NET** : noir erichrome T

**NPP** : nombre plus probable

**PCA** : Plate Cout Agar

**PH** : Potentiel hydrique.

**S/C** : Simple concentrer

**S/L** : solide/liquide

**SFB** : Bouillon sélénite céstéiné tamponné

**SM** : Solution mère

**SPA** : société par action

**TA** : Titre alcalimétrique

**TAC** : Titre alcalimétrique complet

**TH** : Titre hydrométrique

**TSC** : Tryptone-Sulfite-Cyclosérine

**UFC** : unité forma colonne

**UHT** : Ultra haut température.

**UV** : Ultra-violet

**VF** : Viande foie

**VRBL** : Milieu lactose biliée au cristal violet et au rouge neutre

### Introduction

Le lait est un aliment riche en nutriment fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment complet. En Algérie, le lait est considéré comme un produit de base dans la consommation où il occupe une place importante dans la ration alimentaire de la population. Les besoins sont estimés à 3,2 milliard de litre par an et ne couvrent que 40% des besoins le reste des besoins est satisfait par l'importation de poudre de lait et des matières grasses laitières anhydres (**Yakhlef , 1989**).

Le lait est un aliment parfaitement adapté aux besoins nutritionnels et physiologiques de tous les âges de la vie. De part sa valeur nutritive, ce produit s'intègre dans une alimentation saine et équilibrée (**Boukir ,2008**).

Le lait représente l'un des plus importants marchés de l'univers alimentaire. Le corps humain a toujours besoin à un apport calorique pour le bien être, en raison de ce besoin le lait est un partenaire important de notre alimentation quotidienne, et il joue un grand rôle dans le régime alimentaire des pays consommateurs (**Mathieu et al ., 1986**). 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 protéine, sucre, lipides de qualité, avec tous ces éléments nutritifs exigés pour la nécessité en matière de nutrition humaine (**Kaan-Tekinsen et al ., 2007**).

La production laitière en Algérie ne permet pas l'autosuffisance. L'accroissement du cheptel arrive à peine à suivre l'évolution de la population dont la consommation de produits laitiers est couverte aux 2/3 par des importations. A côté des secteurs intensifs public et privé, il existe un important cheptel (plus de 50 pour-cent) exploité extensivement. Ce système extensif se caractérise par son hétérogénéité et joue un rôle important dans l'économie familiale. Il est très dépendant des conditions climatiques. Dans de nombreux cas, il s'agit en réalité d'une production mixte, lait-viande à partir de sujets croisés. Ce secteur est peu amélioré ; son évolution reste liée à la mise en place de coopératives et d'un réseau de collecte et de commercialisation du lait. Il peut être favorisé par une politique de prix encourageante. (**Yakhlef , 2012**).

La qualité, est depuis toujours une exigence de sécurité de l'économie moderne et aussi une préoccupation permanente, pour le consommateur le producteur et le transformateur, activant dans la chaîne de la production et la commercialisation du lait et produits laitiers. Le lait fournit aussi aux microorganismes un milieu favorable et des facteurs physico-chimiques pour une croissance optimale. Il est le siège du développement d'une flore de contamination dont l'importance dépend des conditions d'hygiène et des traitements par

pasteurisation que subit le lait favorise la sélection d'une flore thermophile de bactéries sporulées résistant à la chaleur (**Kabir , 2015**) .

Le lait cru est rare dans de nombreux pays où la production laitière est insuffisante. La technique de reconstitution représente ainsi une solution pour offrir un produit proche du lait frais . (**Moller, 2000**).

Généralement, le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement thermique (chauffage). Ce qui a pour conséquence qu'il conserve intégralement sa flore bactérienne (les microbes). Il s'agit du lait tel qu'il sort du pis des animaux.

Le lait cru constitue la matière première de tous les laits. Mais avant que le lait n'aboutisse dans les frigos des consommateurs, il subit bon nombre de traitements. Ces traitements ont pour but de garantir la sécurité et la durabilité du lait. Le type de traitement effectué influence la qualité finale du lait. (**Leyou et al ., 2014**).

Mais le lait est un produit périssable. C'est un excellent milieu pour les microorganismes et comme il est liquide il est très facilement contaminé et envahit par les bactéries. Ainsi, par sa consommation ou celle de ses produits dérivés le lait peut transmettre des maladies d'origine microbienne aux hommes par l'intermédiaire d'animaux malades et/ou d'individus porteurs de certaines maladies qui contaminent le lait et les produits laitiers avec des bactéries pathogènes lors de leur manipulation. (**Moullec, 2002**).

Le lait est un excellent milieu de croissance pour les microorganismes et leur nombre peut augmenter rapidement dans le lait si les conditions de production et d'entreposage ne sont pas bien contrôlées. Toutefois, et malgré les traitements thermiques la qualité du lait et sa durée de vie sont limitées **al** par le développement des populations microbiennes de contamination surtout les moisissures et les germes anaérobies thermophiles (clostridium sulfito-réducteur ) . Pour limiter le risque de contamination, il est indispensable d'effectuer des analyses microbiologiques des matières premières, et produit fini (poudre de lait eau de reconstitution, lait pasteurisé et lait stérilisé U.H.T.).

Le but de ces analyses est de prévenir les altérations microbiennes et de déceler les germes pathogènes, qui nuisent à la qualité hygiénique et marchande du produit et essentiellement de protéger le consommateur des intoxications dangereuses ( **El-hadiL et al .,2015**).

L'importation de la poudre de lait (matière première) doit répondre aux normes et aux exigences sanitaires hautement satisfaisantes justifiant sa bonne qualité des points de vue nutritionnelle et organoleptique et surtout sanitaire respectant les normes nationales (JORA 1998/2017)..Le contrôle de la qualité du lait est devenu par conséquent un contrôle réglementaire De ce fait on peut dire, que le lait est devenu un indicateur d'éventuelle contamination de la chaîne alimentaire (production collective,

séchage transformation), peut dans certaines conditions contenir des contaminants à des taux qui pourraient créer des problèmes néfastes pour la santé des consommateurs ou à des taux moindres non pathogènes et intervenir dans l'altération de fromage en fromagerie industrielle d ou dégât économique considérable .

L'objectif de ce travail est

Le plan expérimental de ce travail est : connaître la qualité du lait en poudre importé et sa reconstitution de la laiterie de la Boudouaou

La mise en évidence de la présence de bacilles thermophiles dans la matière première par l'évaluation et la caractérisation du risque de contamination du lait pasteurisé (la poudre du lait,) distribué dans les différentes wilayas des d'Algérie par des bacilles thermophiles.et faire si possible l'Identification des souches isolées par galerie API20 A.

## **Chapitre I : Généralités sur lait.**

La dénomination « **lait** » sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache .Le lait est alors le produit de sécrétion mammaire normale, obtenu par un ou plusieurs traites, sans aucune addition ou soustraction (**Majdi , 2008**).

Le lait est un liquide opaque blanc mat, plus au moins jaunâtre selon la teneur en matière grasse et en bêta carotène, d'odeur peu marquée et au goût douceâtre, il est secrété par les glandes mammaires des femelles mammifères après la naissance du jeune. Selon le congrès international de la répression des fraudes à Genève : « le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum » (**Alias, 1975**).

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

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 protéine, sucre, lipides de qualité, avec tous ces éléments nutritifs exigent la nécessité en matière de nutrition humaine (**Kaan-Tekinsen et al ., 2007**).

Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans 24h. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes).

Le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état cru mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation (**Jeantet et al ., 2008**).

Le petit LAROUS le définit tout simplement comme : le liquide produit par les femelles des mammifères, aliment complet qui assure la subsistance du jeune au début de sa vie grâce à sa richesse en graisses émulsionnées, en protide, en lactose, en vitamines, et en sel minéraux (**Claude Grenon, 2004**).

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



### **I.2-Composition du lait et sa valeur nutritionnelle**

Le lait est un système complexe constitué d'une solution vraie, d'une solution colloïdale, d'une suspension colloïdale et d'une émulsion. Le tableau-01- montre la dimension approximative et l'état physicochimique de chacun des constituants solides majeurs du lait. Une solution vraie est un mélange de substances liquides ou solides solubilisées, appelées solutés, dans un solvant liquide.

Une suspension colloïdale est un mélange constitué d'une phase dispersée solide non solubilisée, présente sous forme de très fines particules solides dans une phase dispersante liquide (S/L): quand les particules ont beaucoup d'affinité pour la phase aqueuse, on nomme ce système une solution colloïdale.

Une émulsion consiste en un mélange d'une phase dispersée liquide non solubilisée, présente sous forme de très fines gouttelettes, dans une phase dispersante liquide; on peut donc avoir une émulsion huile dans l'eau (H/E) ou une émulsion eau dans l'huile (E/H) les matières grasses et l'eau du lait forment une émulsion H/E, tandis que l'eau et les matières grasses du beurre forment une émulsion E/H(**Carole et Vignola, 2002**).

## *Synthèse bibliographique /Généralités sur le Lait*

**Tableau N°01:** composition du lait ( Alais et al ., 2008).

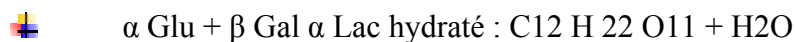
	<b>Composition (g/L)</b>	<b>Etat physique de composants</b>
<b>Eau</b>	905	Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7%)
<b>Glucides</b> (lactose)	49	Solution
<b>Lipides</b>	35	Emulsion des globules gras (3 à 5 $\mu\text{m}$ )
-Matière grasse proprement dite	34	
-Lécithine (phospholipides)	0,5	
-Insaponifiable (sterols , carotènes, tocophérol)	0,5	
<b>Protides</b>	34	Suspension micellaire phosphocaséinate de calcium (0,08 à 0,12 $\mu\text{m}$ ) Solution (colloïdale) Solution (vraie)
-Caséine	27	
-Protéines solubles (globulines, albumines)	2,5	
-Substances azotées non protéiques	1,5	
<b>Sels</b>	9	Solution ou état colloïdale
-De l'acide citrique ( en acide)	2	
-De l'acide phosphorique (P2O3)	2,6	
-Du chlorure de sodium (NaCl)	1,7	
<b>Constituants divers</b> (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Trace	
<b>Extrait sec total</b>	127	
<b>Extrait sec non gras</b>	92	

### I.2.1-Eau

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire 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 (**Amiot et coll, 2002**).

### I.2.2-Les glucides

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre. C'est un disaccharide constitué par de l' $\alpha$  ou  $\beta$  glucose uni à du  $\beta$  galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (**Morrissey, 1995**).



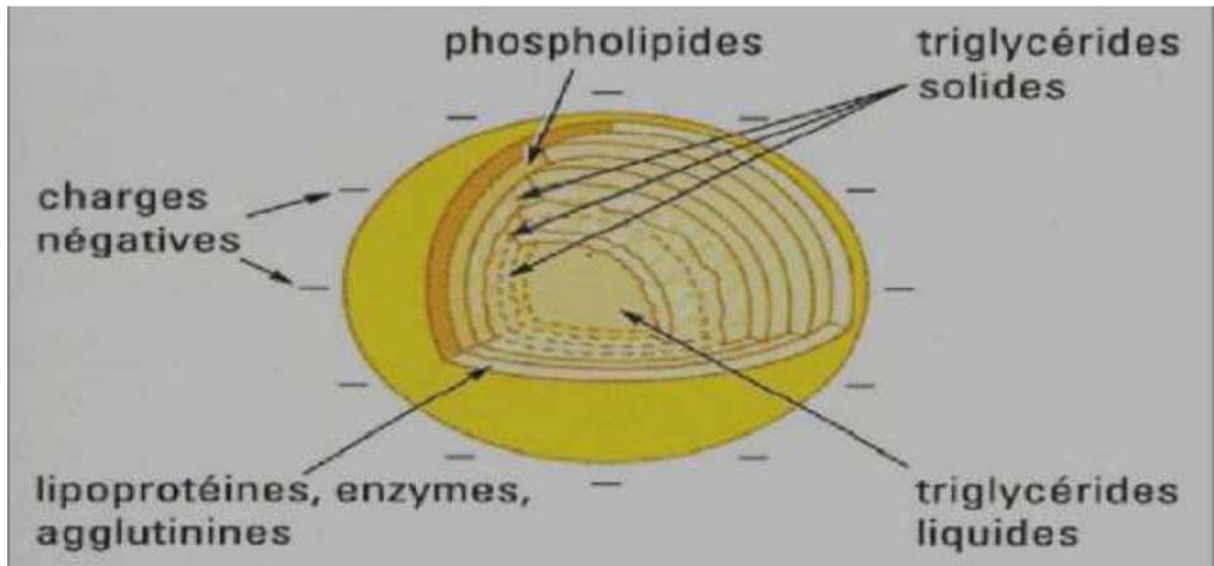
Le lactose est un constituant majeur de la matière sèche du lait. Il favorise l'assimilation du calcium et de la matière azotée (**Jeantet et al., 2008**).

### I.2.3-Les lipides

La matière grasse du lait se compose principalement de triglycérides, phospholipides et une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de  $\beta$ -carotène (**FILQ, 2002**).

Les matières grasses du lait ont la forme de petits globules sphériques qui sont invisibles à l'œil nu. La dimension des globules de matières grasses est d'environ 0.1 à 20  $\mu\text{m}$  (1 $\mu\text{m}$  = 0.001 mm). Il est bon de noter que la dimension des globules de matières grasses varie selon l'espèce (les globules sont plus petits dans le lait de chèvre) ; selon la race (les globules sont plus petits chez la race Holstein que chez les Ayrshire et les Jersey) et selon la période de lactation (la dimension des globules diminue vers la fin de la lactation). Le diamètre moyen des globules étant de 3 à 4  $\mu\text{m}$ , on estime qu'il y a environ de 3 à 4 milliards de globules de gras par millilitre de lait entier (**Grappin et Pochet, 1999**).

La matière grasse du lait a une importance considérable dans l'industrie laitière, puisque c'est l'un des paramètres de base du paiement du lait par les producteurs (**Luquet, 1985**).



**Figure N° 01** : Composition de la matière grasse du lait (**Bylund, 1995**).

### **a- Les phospholipides et les acides gras**

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés. Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels (acide linoléique et acide linoléique) (**Chilliard, 1996**).

### **b- Les acides gras**

Le lait de vache est un peu riche en acides gras à chaîne moyenne (C6, acide caproïque, C8, acide caprylique, C10, acide caprique)

Le lait de vache un peu plus riche en acides butyrique (C4), et acides oléique (C18) (**Chilliard, 1996**).

### **c- Les triglycérides**

Les triglycérides, à bas point de fusion, sont au centre du globule et les triglycérides solides, à plus haut point de fusion, se superposent aux précédents. Les triglycérides constituent près de 98% de la matière grasse présente dans le lait.

Les matières grasses du lait ont la forme de petits globules sphérique qui sont invisible à l'œil nu. La dimension des globules des matières grasses est d'environ 0,1 à 20µm. (**Chilliar, 1996**).

La consommation de la matière grasse laitière est indispensable dans l'alimentation elle fournit 48% de la valeur énergétique du lait entier. Ces lipides d'origine laitière ne soulèvent pas d'objection particulière sur le plan nutritionnel (**Jeantet et al., 2008**)

### I.2.4-Protéines

Elles constituent avec les sels la partie la plus complexe du lait. Leur importance tient à plusieurs raisons : quatrième groupe de substances par son abondance après l'eau, le lactose et les matières grasses (**Mathieu, 1998**). On distingue deux grands groupes de protéines dans le lait : les caséines et les protéines (**Pougeon et Goursaud, 2001**),

✚ Les caséines ont une teneur de 27 g/l ; elles se répartissent sous forme micellaire de phosphocaséinate de calcium et elles sont facilement dégradées par toutes protéolytique.

✚ Les protéines solubles du lactosérum se répartissent entre (**Luquet, 1985**)

- Les albumines :  $\beta$  lactoglobuline : 3 g  
Lactalbumine : 1,2 g  
Sérum albumine : 0,4 g
- Les globulines : Immunoglobulines : 0,7 g  
Lacto-transferrine : 0,3 g
- les enzymes : Lipase, protéase, phosphatase alcaline,  
Xanthine-oxydase, lactoperoxydase

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**).

La composition du lait en acides aminés est voisine de celle de l'œuf (produit de référence). Il contient 8 à 10 acides aminés essentiels dont principalement la lysine, la thréonine, l'histidine, particulièrement indispensable chez le nourrisson, et la méthionine chez les personnes âgées. Le lait est donc le complément idéal des céréales (**Jeantet et al , 2008**).

### I.2.5-La matière saline (9g/l)

Le lait contient des sels à l'état dissous, sous forme notamment de phosphates, de citrates et de chlorures de calcium, magnésium, potassium et sodium.

**NB :** le lait est le seul liquide biologique à contenir une concentration aussi importante d'acide citrique , sous forme de citrate de calcium et de magnésium ; celui-ci s'oppose à la précipitation des phosphates de calcium.

**Tableau N° 2 :** Composition de la matière saline (en g par litre de lait) (**Idrissi Katouni, 2011**).

Les sels minéraux du lait							
Mg	Na	Ca	K	S	P	Cl	Citrates
0,12	0,58	1.23	1,41	0,30	0,95	1,19	1,6

Le lait est pauvre en oligo-éléments, le besoin alimentaire en oligo-éléments est de 2 à 4 mg par jour. Le lait renferme 4 mg/l de l'ion de Zinc, élément nécessaire à la croissance de l'enfant.

**Tableau N°3 :** Composition des oligo-éléments (en mg par litre de lait) (**Idrissi Katouni, 2011**).

Oligo-éléments du lait				
Fer	Cuivre	Manganese	Zinc	iode
0,6 à 1,2	0,2 à 0 ,4	0,001 à 0,03	4	0,024

Le lait et les produits laitiers sont les principales sources alimentaires de calcium et phosphore, pour lesquels ils couvrent plus de moitié de nos besoins journaliers. Ce sont des éléments plastiques intervenant dans l'ossification, et leur apport est crucial pour les sujets jeunes et âgés. Le lait apporte de nombreux minéraux. Les plus importants sont : le calcium (1,2 g. l-1), le phosphore (0,9g. l-1) et le potassium (1,5g. l-1) (**Jeantet et al., 2008**) .

### I.2.6-Vitamine

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser (**Juillard et Richard, 1996**).

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, K) (**Juillard et Richard, 1996**).

**Tableau N°04 : composition vitaminique moyenne du lait (Veisseyre , 1975).**

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

D'une manière générale, le lait ne permet pas de satisfaire tous les besoins vitaminiques. Il existe des laits sur le marché à teneur garantie en vitamines. Ce sont surtout les vitamines A, B1, et B2, qui constitue la valeur nutritive du lait, leur consommation protège l'individu des syndromes de déficience vitaminique (**Jeantet et al ., 2008**).

## 3-Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques du lait sont plus ou moins stable, elles dépendent soit de l'ensemble des constitutions comme la densité, soit des substances en solution comme le point de congélation ou encore des concentrations en Ions comme le pH (acidité).

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique ou la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (VignolaI , 2002).

**Tableau N°05: constantes physique du lait(VignolaI , 2002).**

<b>Constants</b>	<b>Valeur</b>
<b>Densité</b>	1.028 et 1.035
<b>Point de congélation</b>	-0.530°C a -0.575°C
<b>Point d'ébullition</b>	00.5°C.
<b>L'acidité</b>	à 17°D
<b>PH à 20</b>	6,6-6,8

## 4-Propriétés organoleptiques

### 4-1- 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 B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (Fredot, 2005).

### 4-2-Odeur

L'odeur est caractéristique du lait du fait de la matière grasse qu'il contient, 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) (Vierling , 2003 ).



### **4-3-Saveur**

La saveur du lait normal frais est agréable. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. 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 à suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**Thieulin et Vuillaume,1967**).

### **I.5- Le lait reconstitué**

#### **I.5.1-Définitions**

A- **La recombinaison**: l'opération de recombinaison consiste à mélanger dans une eau convenable les différents composants du lait pour réaliser un produit le plus voisin possible du lait initial. Les trois composants essentiels sont l'eau, la poudre de lait écrémé spray et la matière grasse laitière anhydre. Dans certains cas quelques adjuvants complémentaires sont utilisés (**Avezard et Lablee ,1990**).

B- **La reconstitution** : la reconstitution est l'opération qui consiste à diluer dans une eau convenable une poudre spray grasse, elle peut aussi correspondre à reconstituer un lait écrémé (**Avezard et Lablee ,1990**).

- le lait reconstitué est dit:
  - ✓ écrémé, en cas d'utilisation de lait en poudre écrémé extra grade c'est-à-dire tirant moins de 1,25 % de matières grasses.
  - ✓ entier, en cas d'utilisation de lait en poudre tirant au moins 26% de matières grasses.
- Le lait recombinaison est obtenu par mélange d'eau, de matière grasse et de lait en poudre écrémé extra grade titrant moins de 1.25 de matière grasse (**JORA, 1993**).

#### **I.5.2- Matières premières**

- Des laits en poudre gras ou écrémé.
- Des matières grasses laitières ou végétales.
- De l'eau de reconstitution.
- Des additifs (**Apria,1980**).

### I.5.2.1- La poudre de lait

Selon la loi sur les aliments et drogues du Canada, les poudres de lait sont des produits résultants de l'enlèvement partiel de l'eau du lait. On répartit les poudres en trois groupes :

La poudre de lait entier, la poudre de lait partiellement écrémé et la poudre de lait écrémé. (Vignola, 2002).

C'est le produit obtenu par déshydratation du lait. Ce procédé permet ainsi une longue conservation et les microorganismes ne peuvent se multiplier en absence d'eau (Boudier et Luquet, 1981).

#### A- La composition

La composition des différentes poudres de lait ainsi que leurs teneurs sont reportées dans le tableau N°6.

**Tableau N°06** : Les compositions des différentes poudres de lait (AFNOR,1986).

Composition	La poudre du lait entiere	La poudre de lait écrémé
L'eau	4	2.5-3
Matiere Grasse	26	0.7
Lactose	37	51
Matiere proteique	27	36
Matiere minerale	6	8.2

#### B-Technologie de fabrication

La déshydratation est la méthode utilisée pour la fabrication de poudre de lait, elle se fait en deux étapes : la concentration et le séchage.

##### B.1 -Concentration

Elle consiste à faire passer de l'eau de l'état liquide dans le produit à l'état de vapeur hors du produit. Ce changement de phase demande beaucoup d'énergie, il faut donc utiliser la meilleure stratégie pour transférer l'énergie à l'eau du produit. L'évaporation sous vide est le moyen privilégié par l'industrie laitière pour atteindre des niveaux de solide élevé (Vignola, 2002).

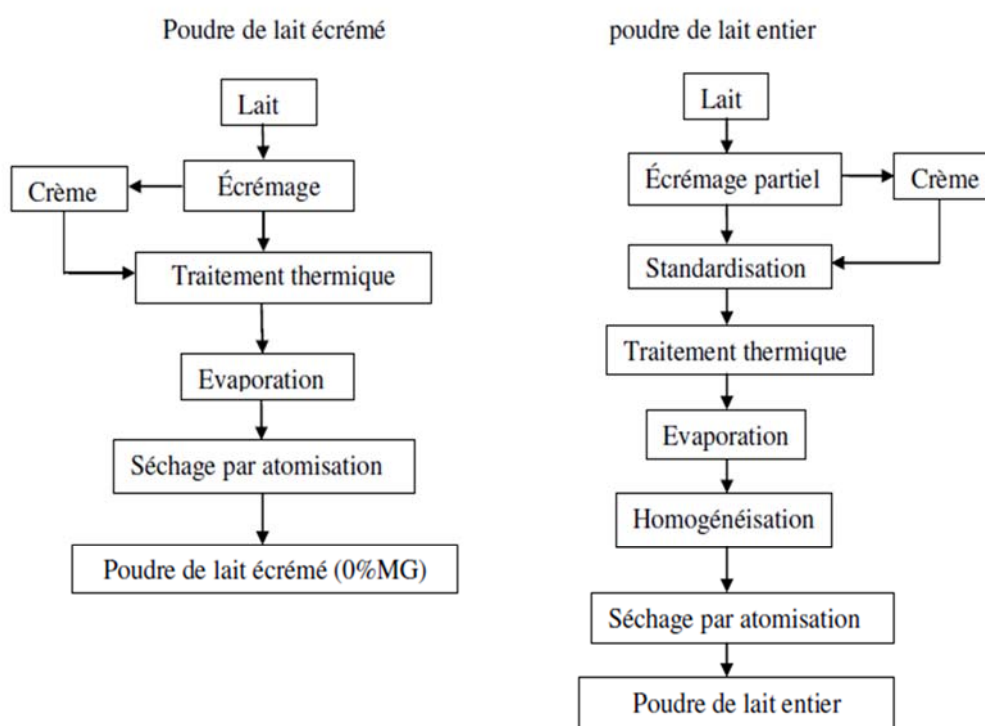
### B.2 -Séchage

La qualité de la poudre de lait peut varier selon la technique de séchage :

- **Procédé Hatmaker (sur cylindre):** Le chauffage brutale qui se produit dans ce procédé entraîne des modifications de la structure physico-chimique du produit et conduit à une faible solubilité et génèrent un goût de cuit des réactions de brunissement.
- **Atomisation (procédé spray) :** Ce procédé, montré dans la figure N°2, permet de donner une poudre de meilleure caractéristiques et aptitudes technologiques (Anonyme, 1995).

On procède à la dernière phase de la déshydratation du concentré en exposant le produit sous forme de fines gouttelette à de l'air chaud. Le système de pulvérisation idéal devrait donner des particules de taille uniforme, soit avec une distribution de taille étroite (Vignola, 2002).

La technologie de fabrication des poudres de lait est représentée sur la figure N° 2.



**Figure N°2 :** Procédé de fabrication de la poudre de lait (Luquet, 1990).

### I.5.2.2- Matières grasses :

Dans la majeure partie des cas, les usines de reconstitution utilisent des huiles de beurre ou des matières grasses laitières anhydres (MGLA). Cette dernière ne peut être obtenue qu'à partir de lait frais en passant au besoin, par le stade crème ou beurre non maturée alors que les huiles de beurre sont fabriquées à partir de beurre de stockage. La MGLA et les huiles de beurre ont une composition voisine.

**Tableau N°07 : les compositions de la MGLA et les huiles de beurre (Bylund,1995).**

<b>Humidité</b>	<b>Maximal 0.1 %</b>
<b>Teneur en matière grasse</b>	<b>Minimal 99.8%</b>
<b>Acide gras libre</b>	<b>Maximal 0.3%</b>
<b>Teneur en cuivre</b>	<b>Maximal 0.05 ppm</b>
<b>Teneur en fer</b>	<b>Maximal 0.2 ppm</b>
<b>Absence des coliformes</b>	<b>Dans 1 g</b>

### I.5.2.3- L'eau de reconstitution

L'eau est l'une des matières premières de tous les types de produits laitiers reconstitués et recombines. Elle doit être une eau potable de bonne qualité, dépourvue de micro-organismes pathogènes et d'un niveau de dureté acceptable  $\text{CaCO}_3 < 100 \text{ mg/l}$  (Bylund,1995).

Une teneur excessive en matière inorganique menace l'équilibre des sels du produit reconstitué ou recombines qui, à son tour, pose des problèmes au niveau de la pasteurisation, sans parler de la stérilisation ou du traitement UHT. Trop de cuivre ou de fer dans l'eau peut introduire des goûts atypiques à cause de l'oxydation de la matière grasse. Les niveaux maximaux recommandés sont par conséquent :

- Cu (cuivre) 0,05 mg/l
- Fe (fer) 0,1 mg/l (Bylund,1995).

**I.5.2.4- Les additifs**

Les additifs secs tels que le sucre, les émulsifiants et les stabilisants peuvent être manipulés de la même manière que la poudre de lait : on peut les vider des sacs directement dans le mélangeur ou le système de mélange (**Bylund,1995**).

### II.1- La microbiologie de lait cru et leur altération

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, des substances aromatiques, de l'acide lactique, diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (**Anonyme, 2009**). L'importance et la nature des bactéries contaminant le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (**Agabriel et al., 1995**), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (**Robinson, 2002**).

#### II.1.2- Altération du lait

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

##### II.1.2.1- Phase de latence (bactériostatique)

Du fait des substances antibactériennes du lait et des bactériocines produits par les bactéries lactiques, les autres germes tendent à stagner ou à régresser. C'est une phase d'adaptation. Le lait peut alors se conserver pendant longtemps sous réfrigération. Toutefois, cette durée est réduite considérablement à une température élevée (**Petransxiene et Lapied, 1981**).

##### II.1.2.3- 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.1.2.3- 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.1.2.4- 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**).

### II.2- Les flores microbiennes du lait

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : Flore originelle et flore de contamination et d'altération.

#### II.2.1- Flore originelle ou indigène

Le lait contient relativement peu de microorganisme quand il est sécrété partir de la mamelle d'un animal en bonne santé. Il devrait contenir moins de 5000UFC. La flore naturelle du lait cru est un facteur essentiel particulièrement à ces propriétés organoleptiques (**Fotou et al., 2011**).

Le Lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées

«lacténines» mais leur action est de très courte duré environ 1 heure

D'autre microorganisme peuvent se retrouver dans le lait cru issus d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vie sanitaire (**Guiraud, 2003**).

#### II.2.1.1- Les 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. Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le système digestif de l'homme elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation de 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.

**Tableau N°08 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).**

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

### II.2.2- Flore de contamination et Altération

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).

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

- **Fèces et téguments de l'animal** : *Coliformes*, *Clostridies*, et éventuellement des *Entéobactéries* pathogènes (*salmonella*).
- **Sol** : *Streptomyces*, bactéries sporulées, spores fungiques, listéria.
- **Laitière et aliments** : flore banale variée, en particulier, *Lactobacilles*, *Clostridium butyriques* (Ensilages).
- **Air et eau** : flore diverse dont *pseudomonas*, bactérie sporulées, etc...
- **Équipements de traite et de stockage du lait** : flore lactique, microcoque, *Lactobacilles*, *Streptocoques*, *Leuconostoc*, levure, cette flore sera souvent spécifique d'une usine à une autre.
- **Manipulateurs** : *Staphylocoques* dans le cas de traite manuelle.
- **Vecteurs divers** : insectes en particulier, flore de contamination fécale (Guiraud, 1998).

### II.2.3- Les flores pathogènes

Les germes pathogènes auxquels on accorde une importance particulière, en raison de la gravité ou de la fréquence des risques :

- Les principales bactéries infectieuses sont *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* et *Campylobacter sp*.
- Les principales bactéries toxino-gènes sont *Staphylococcus sp*, *Clostridium botulinum*

(Vignola, 2002).

#### II.2.3.1-*Clostridium spp.*

Les *Clostridium* sont des bactéries dont la manipulation est risquée (OCEAC, 1998). En effet, les clostridies sont, entre autre, responsables du botulisme (Roy, 1995). Les espèces pathogènes de clostridies produisent une ou des toxines.

*Clostridium perfringens* retrouvé dans les aliments peut ainsi causer différentes maladies :



- ✓ Intoxication alimentaire peu intense.
- ✓ Nécrose entérique (entérotoxémie hémorragique) chez les enfants.
- ✓ Diarrhées (**Dwight et Yuan, 1999**).

### ***II.2.3.1.1-Clostridium perfringens***

Largement répandue dans la terre et dans l'intestin de l'homme et des animaux, est une bactérie sporulante qui ne se multiplie qu'en absence d'oxygène. Toutefois ses spores sont résistantes aux conditions défavorables. Une grande quantité de germes ingérée provoque une infection intestinale (**Dwight et Yuan, 1999**).

### ***II.2.3.1.2-Clostridium botulinum***

Englobe un groupe hétérogène de bactéries Gram-positif à croissance anaérobie et formant des spores très résistantes à l'inactivation et transmises à l'individu par lésions cutanées ou aliments contaminés. Le germe et les spores sont présents dans le sol, la boue, le fumier et les plantes. Le botulisme est lié aux sept neurotoxines (A à G) produites par *C. botulinum* et par d'autres clostridia notamment *Clostridium butyricum*, *Clostridium baratii* et *Clostridium argentineuse*. Le botulisme de l'homme est lié principalement aux types A, B et E et rarement au type F. Le botulisme touche également les animaux de rente et sauvages en fonction du sérotype : type B (porcins, bovins et équins), C (principalement les oiseaux et parfois ovins et bovins), D (bovins et rarement les oiseaux), E (principalement les poissons). *C. botulinum* et les toxines qu'il produit peuvent contaminer les aliments pour animaux, l'eau, l'environnement et la nourriture humaine avec une conséquence négative sur la sécurité de la chaîne alimentaire et sur la santé humaine et animale.

- Le botulisme peut avoir plusieurs origines :
- le botulisme par intoxication provoquée par la toxine préformée présente dans un aliment ou produite après germination de *C. botulinum* ou autres clostridia qui infectent un aliment.
- le botulisme par toxi-infection provoquée par ingestion de *C. botulinum* ou ses spores ou inoculation directe de *C. botulinum* dans les plaies souillées. Le germe va ensuite se développer et produire la toxine. Le botulisme infantile, chez le nourrisson jusqu'à l'âge de six mois, est la conséquence du développement de *C. botulinum* ou autres clostridia dans le tractus intestinal suivi par une production in situ de la toxine (**Fikri I.S.P.2010**).

### II.2.3.2- *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* est responsable de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques et d'intoxinations se traduisant par des symptômes émétiques. Il s'agit d'un bâtonnet à coloration Gram positive, sporulant et aéro-anaérobie facultatif. Il fait partie d'un ensemble d'espèces apparentées, souvent regroupées dans la littérature sous le terme « *Bacillus cereus sensu lato* » au sein duquel on distingue traditionnellement:

- *Bacillus cereus sensu stricto* hémolytique;
- *Bacillus thuringiensis* se différenciant de *B. cereus sensu stricto* par la production d'un cristal parasporal toxique contre les insectes.
- *Bacillus anthracis*, non hémolytique, agent de la maladie du charbon.
- *Bacillus weihenstephanensis* correspondant à certaines souches de *B. cereus* psychrotrophes.
- *Bacillus mycoides* et *Bacillus pseudomycoides* caractérisés par la formation de colonies à bords filamenteux sur milieux gélosés. *B. cereus sensu lato*, *B. anthracis* et *B. thuringiensis* forment en réalité une seule espèce mais se distinguent par des caractères de virulence, pour la plupart portés par des plasmides (**Dromigny ,2008**).

### II.2.3.3- Moisissures et des levures

Les moisissures et les levures sont des champignons microscopiques (micromycètes). Ce sont des organismes eucaryotes constitués soit d'éléments unicellulaires, soit de filaments isolés ou agrégés et se reproduisent par l'intermédiaire de spores. Ces organismes sont hétérotrophes : ils vivent donc aux dépens de matières organiques préformées. Les champignons sont capables de résister à des conditions environnementales très défavorables et se développent sur des milieux simples contenant une source de glucose, une source d'azote et quelques sels minéraux. Leur température optimale de croissance varie selon les espèces : elle est de 25°C pour les champignons mésophiles et de 37°C pour les champignons thermophiles. Les espèces pathogènes présentent un optimum de croissance à des températures comprises entre 30 et 45°C (**AFSSA ,2009**).

### **II.3- Intérêt de la recherche des microorganismes**

#### **II.3.1- Intérêt hygiénique**

Le lait peut être à l'origine de toxi-infections et de maladies infectieuses (**Rarade et al., 1985**). Pour éviter ces accidents, il est nécessaire de tester non seulement la charge en germes mais aussi le pouvoir toxique de ces derniers. Le contrôle à tous les stades de la fabrication permet d'abaisser les risques d'intoxication ou de maladies (**Alais,1984**).

#### **II.3.2- Intérêt nutritionnel**

Certains germes sont protéolytiques ou lipolytiques entraînant ainsi une diminution de la valeur alimentaire du lait. Leur recherche éviterait des pertes importantes en nutriments mais également la détérioration des qualités organoleptiques (**Alias, 1984**).

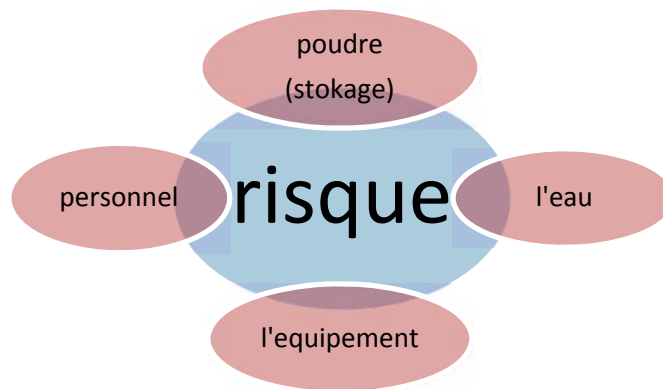
#### **II.3.3- Intérêt technologique**

L'aptitude d'une denrée à la fabrication ou à la conservation est conditionnée par la qualité bactériologique de la matière première. Le froid n'est pas bactéricide. " Ne change pas un mauvais lait en bon lait. Au contraire, après un certain temps, certains germes se développent. Ces bactéries caractérisent la flore du lait réfrigéré. Son importance est fonction de la température de réfrigération (**Alias, 1984**).

De plus le froid joue un rôle important dans la durée de conservation d'un bon lait. Ainsi la température de 160 °C ne permet pas d'obtenir moins de 10<sup>6</sup> germes/ml de lait ; par ailleurs, un lait ayant une teneur initiale en germes assez élevée (140 000 germes/ml) doit nécessairement être refroidi à 4,50 °C pour avoir une qualité bactériologique acceptable après 24 heures (**Alias, 1984**). (Par rapport à cela, la recherche des germes est un impératif indispensable pour définir le traitement adéquat du lait. L'abaissement du pH est aussi important à considérer car il permettrait l'élimination des Salmonelles et des Coliformes. Cependant il n'est pas efficace contre les staphylocoques et leur toxine. Un contrôle microbiologique au moins régulier favorise l'augmentation des ventes et des exportations et éviterait des pertes en éliminant d'emblée les matières premières trop contaminées (**Alias, 1984**).

### III1-Sources de contamination du lait

Les sources de contamination du lait sont nombreuses et variées elles comprennent l'eau, le sol, le personnel dans l'équipement laitier.



**Figure N°3** : Diagramme de risques de contamination du lait (**Frank et Hassan, 2002**).

#### III.1 -Contaminations par la poudre de lait

Fournie est protégée de la contamination en eau avant utilisation, le nombre de microorganismes présents augmente généralement au cours du stockage, bien que le nombre de spores peut rester constant. Les producteurs de la poudre, ne prennent pas en charge la croissance des micro-organismes, le contenu microbiologique varie selon l'utilisation ultérieure de la poudre. Pour cette raison, les organismes gouvernementaux et les laboratoires ont développé des limites microbiologiques ou des spécifications qui s'appliquent à certains groupes de micro-organismes qui peuvent être présents dans le lait en poudre. Ces spécifications peuvent concerner les apports des matières premières à la qualité du lait et l'hygiène lors de la fabrication et du stockage. (**Augustin&al., 2003**).

#### III.2-Contamination à partir des équipements

Elle est souvent caractérisée par la formation des biofilms laitiers qui sont dominés par différentes bactéries. La formation de ces biofilms sur les équipements peut entraîner de graves problèmes d'hygiène et de pertes économiques dues à la détérioration des aliments et à la dépréciation des équipements (**Flint et al ., 1997**). Les micro-organismes dans les biofilms

catalysent les réactions chimiques et biologiques provoquant la corrosion des métaux dans les tuyauteries et les réservoirs, et ils peuvent réduire l'efficacité de transfert de chaleur s'ils deviennent suffisamment épais (**Simoes et al. , 2009**).

Il y'a d'autres facteurs qui peuvent influencer la durée de vie du lait pasteurisé:

- La qualité de la matière première.
- La température /temps.
- Microorganismes résistants à la pasteurisation.
- Présence et l'activité des contaminants de post- pasteurisation.
- Le système d'emballage et stockage après pasteurisation à des températures qui a le plus grand impact sur la stabilité du produit (**Petrus et al, 2009**).

### **III.3-Hygiène de personnelle**

Les maladies humaines peuvent se transmettre par l'intermédiaire du lait. Le personnel occupé aux manipulations des denrées alimentaires et du lait en particulier doit se soumettre à un examen sanitaire. Sa tenue vestimentaire doit être compatible avec ce que l'on entend par « HYGIENE » à savoir : une blouse propre à manches courtes, bottes en caoutchouc, mains propres et ongles courts, absence de bijoux (montres-bracelets, gourmettes, bagues...), masque bucco-nasal pour les postes sensibles, gants, souliers et bottes de travail. Les personnes malades d'affections cutanées, intestinales ou respiratoires contagieuses peuvent contaminer les aliments en les manipulant ( **Soris ; 2006**).

### **III.4-Qualité de l'eau**

Il faut surveiller la qualité de l'eau, notamment celle utilisée pour reconstituer le lait en cas d'utilisation de lait en poudre, mais également celle que l'on emploie pour le nettoyage. Outre la qualité microbiologique, il peut être utile de surveiller certaines parasitoses : la dysenterie amibienne, la toxoplasmose (**Rouissi et al ., 201**).

I- Présentation de l'unité LFB de Boudouaou



L'unité de laiterie fromagerie de Boudouaou (L.F.B) appartient au groupement industriel pour la production du laite (G.I.P LAIT). Prend comme dénomination la SPA L.F.B (laiterie fromagerie de Boudouaou avec nouveau capital de 2000.000.00 DA.



Figure N° 04: l'unité de laiterie fromagerie de boudouaou.

Cette unité industriel a commence sa production en 1978 sous l'ancienne appellation ONALAIT elle s'étend sur une superficie de 7 hectare dont 1,8 hectare construit l'équipement industriel et utilisation moyens de distribution et de stockages sons froide. elle est située à cite Ben Ajel à l'entrée de la ville de Boudouaou dans la wilaya de Boumerdes , à environ de 40 Kilomètres d'Alger .



Figure N° 05 : carte géographique de Boumerdes

L'unité est composée de

- La laiterie.
- La fromagerie.
- Cave d'affinage et chambre froide de stockage.
- Les locaux de matières premières.
- Une station de traitement des l'eau.
- Un laboratoire d'analyse physico-chimique et microbiologique.
- Bâtiment administratif.
- Bâtiment des services généraux et sociaux.

### **I.1- Activité principal**

L'activité principale de laiterie fromagerie de Boudouaou (LFB) est de production et commercialisation de lait et produit laitiers.

### **I.2- Gamme de produit**

L'unité de la laiterie fromagerie de Boudouaou assure la production de :

- Lait pasteurisé conditionné.
- Lait acidifié fermenté (L'BEN).
- Fromage fondus pasteurisé en portion (boites de 16 portions et de 1 kg).
- Fromage à pate pressée non cuite type (EDAM) boule de 1 kg.
- Lait instantané (sachet de 19g).

### **I.3- Capacité de production**

#### **a. Lait de consommation**

- Lait pasteurisé 280.000 L / J en 2 fois 8H.
- L'ben pasteurisé 20.000 L / J en 2 fois 8H.

#### **b. Produits laitiers**

- Fromage fondu pasteurise : 6 tonnes /jour en 2 fois 8 H.
- Fromage fondu stérilisé : 5 tonnes /jour en 2 fois 8 H.
- Fromage à pate pressée type EDAM 2.8 tonnes /jour.
- Poudre de lait instantané : 1,5tonnes /jour.

**I.4- L'effectif**

L'unité comprend un effectif de 415 personnes.

Cet effectif occupant (03) trois directions principales :

1-direction de l'administration et des finances.

2-direction commerciale.

3-direction technique.



## **II. Echantillonnage**

### **II.1. Eau de procès**

Après avoir nettoyé le robinet et les mains avec de l'alcool, et après un temps d'écoulement du robinet, les prélèvements sont réalisés dans deux flacons de 250ml préalablement stérilisés. Les analyses microbiologiques sont portées sur 3 échantillons.

#### **II.1.1-Analyse physico-chimique d'eau de procès (AFNOR ,1986).**

##### **II.1.1.1. Mesure du pH**

###### **Mode opératoire**

La mesure du pH se fait en plongeant la sonde du pH-mètre dans un bécher contenant une quantité d'eau à analyser.

#### **II. 1.1.2-Titre hydrométrique (TH) (AFNOR ,1986)**

Le titre hydrométrique de l'eau est la teneur en ions de calcium et de magnésium présents dans l'eau, qui sont responsables du dépôt de tartre, appelée également la dureté totale de l'eau. Elle est exprimée par la formule suivante :  $TH = Ca^{2+} + Mg^{2+}$ .

###### **Principe**

La dureté est déterminée par un titrage de  $Ca^{2+}$  et  $Mg^{2+}$  à l'aide d'une solution d'EDTA. Le Noir Erichrome T (NET), qui donne une couleur rouge foncée ou violette en présence des ions calcium et magnésium est utilisé comme indicateur coloré. Lors du titrage, l'EDTA réagit tout d'abord avec les ions  $Ca^{2+}$  combinés avec l'indicateur, ce qui libère l'indicateur et provoque le changement de couleur de la solution du rouge brique au violet puis au bleu.

###### **Mode opératoire**

Introduire 50ml d'eau à analyser dans un Erlèn Meyer et ajouter 2ml de la solution tampon ammoniacal (pH = 10) et une petite quantité du NET. Titrer avec l'EDTA (0,02 N) jusqu'au virage

### Expression des résultats

La dureté totale de l'eau est exprimée en degré Français (°F) selon la formule :

$$TH = \frac{4n}{10}$$

Avec

**n** : le volume de solution EDTA 0,001M titré

**NB** : 1mé = 5°France

#### II.1.1. 3-Mesure du taux de chlorures ( $Cl^-$ ) (AFNOR, 1986).

##### Principe

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution de nitrate d'argent ( $AgNO_3$ ) en présence de chromate de potassium comme indicateur coloré.

##### Mode opératoire

Introduire 50ml d'eau à analyser dans un Erlèn Meyer et ajouter quelques gouttes de chromate de potassium, titrer avec une solution  $AgNO_3$  (0,02 N) jusqu'à l'apparition d'une couleur rouge brique.

### Expression des résultats

La concentration des ions de chlore est donnée par l'expression suivante :

$$[Cl^-] = Y \times 35,5$$

$$Y = (\text{chute de burette} \times 2) - 1$$

Avec :  $M[Cl^-] = 35,5 \text{ g/mol}$

#### II.1.1.4-Titre alcalimétrique (TA) (AFNOR, 1986)

Le titre alcalimétrique d'une eau permet de connaître sa concentration en carbonates  $CO_3^{2-}$  et en bases fortes, autrement dit son alcalinité. Ce titre se mesure en meq/l et en °F. L'alcalinité d'une eau est fortement liée à sa dureté et donc à son caractère corrosif et à sa capacité d'entartrage des canalisations.

### **Principe**

Un volume de l'eau est neutralisé par l'acide sulfurique en présence d'un indicateur coloré qui est la phénolphtaléine.

### **Mode opératoire**

Introduire 50ml d'eau à analyser dans un Erlèn Meyer et ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine, titrer avec une solution  $H_2SO_4$  (0,01 N) jusqu'à la disparition de la coloration rose et la solution finale devient transparente.

### **Expression des résultats**

Le TA est donné par l'expression suivante

$$TA \text{ (me)} = (V) \times (5)$$

V = le volume de la solution  $H_2SO_4$  titré

me : milliéquivalent.

Remarque :

- Si la solution est transparente avant titrage, le TA est donc nul.
- Si le pH de l'eau est inférieur à 8,3, le TA est aussi nul.

### **II.1.1.5-Titre alcalimétrique complet (TAC)**

Le titre TAC exprime l'alcalinité totale de l'eau, il est utilisée pour mesurer le taux d'hydroxydes, de carbonates et de bicarbonates il a une importance fondamentale dans la connaissance de la capacité d'entartrage, son unité est le degré français (°F) ou meq.l-1.

### **Principe**

Cette détermination est basée sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par une solution d'acide sulfurique en présence de méthyle orange.

### **Mode opératoire**

Introduire 50ml d'eau à analyser dans un Erlèn Meyer et ajouter quelques gouttes du méthyle orange, titrer avec une solution  $H_2SO_4$  (0,01 N) jusqu'au virage de la couleur du jaune à l'orange.

### Expression des résultats

Le virage a lieu dès que tous les bicarbonates auront été transformés et le pH est de 4,3, ce qui implique la présence de traces d'acide dans la solution.

$$\text{TAC (mé)} = (V_1 - 0,1) \times 5$$

AVEC :  $V_1 = \text{volume de solution de } H_2SO_4$

### II.1.2- Analyse microbiologique

L'objectif de ces analyses est d'assurer une bonne qualité hygiénique aux produits fabriqués au niveau de la laiterie.

Paramètres recherchés dans l'eau de procès :

- recherche et dénombrement des coliformes, coliformes thermo-tolérants et *Echerichia coli*.
- recherche et dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs à 37°C et 46°C.

#### II.1.2.1-Recherche et dénombrement des coliformes (totaux et fécaux) :

Le milieu utilisé est du B.C.P.L (flacon de 50ml, tube S /C et tube D/C) ,utilisé comme suit :

- un flacon dans lequel on mettra 50ml d'eau à analyser.
- 5tubes à D/C dans lequel on mettra 10ml d'eau à analyser
- 5tubes à S/C dans lequel on mettra 1ml d'eau à analyser

La lecture se fera par le NPP selon la table de Mac Grady

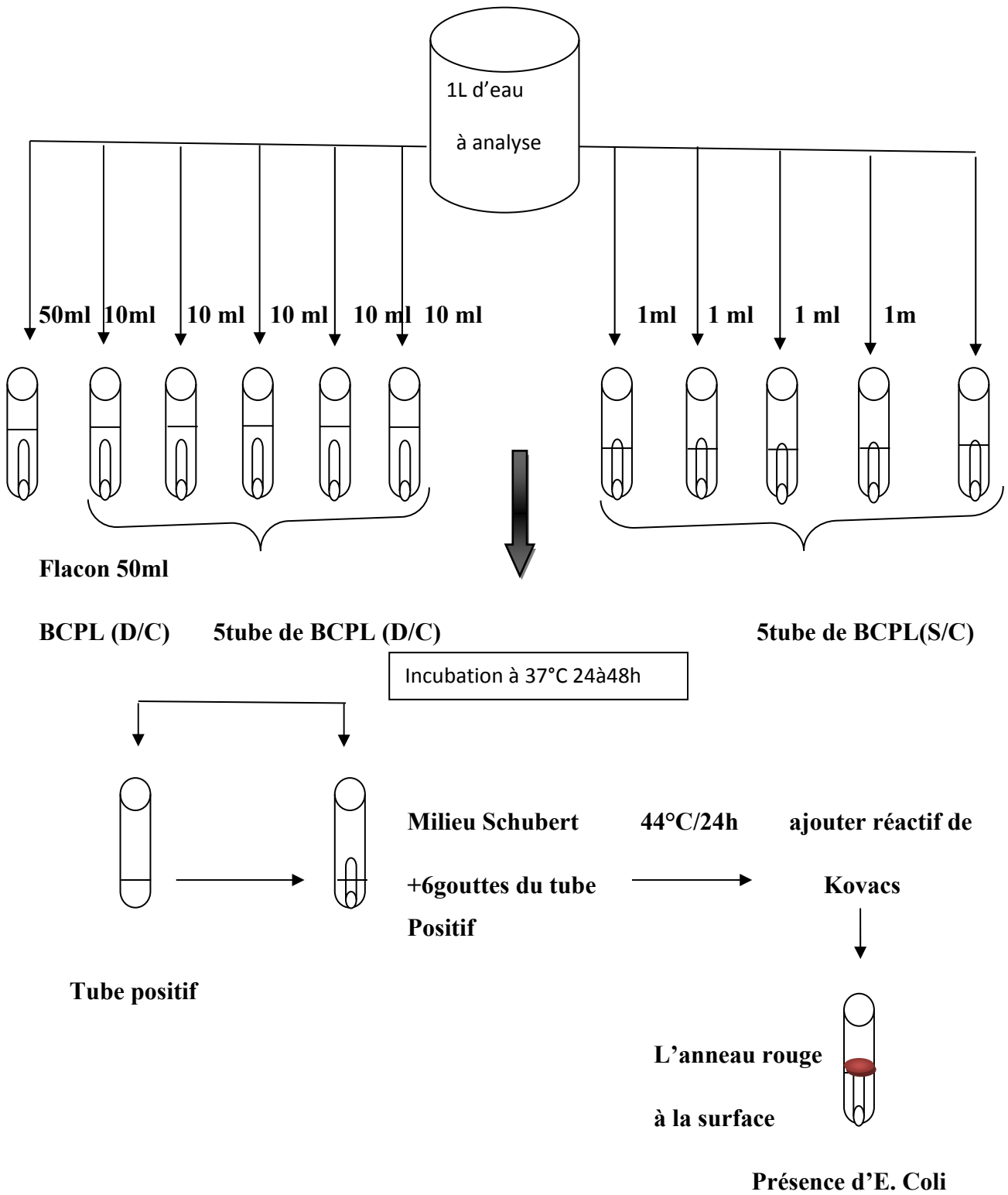


Figure N° 06 : Dénombrement des coliformes avec caractérisation d'*E. coli*.

II.1.2.2-Méthode de recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux*

L'analyse se fait avec milieux Roth , il faut utiliser :

- 1flacon de Rothe dans lequel on mettra 50ml d'eau à analyser.
- 5tubes de Rothe à D/C dans lequel on mettra 10ml d'eau à analyser.
- 5tubes de Rothe à S/C dans lequel on mettra 1ml d'eau à analyser.

La lecture se fera par le NPP selon la table de Mac Grady spéciale pour les eaux

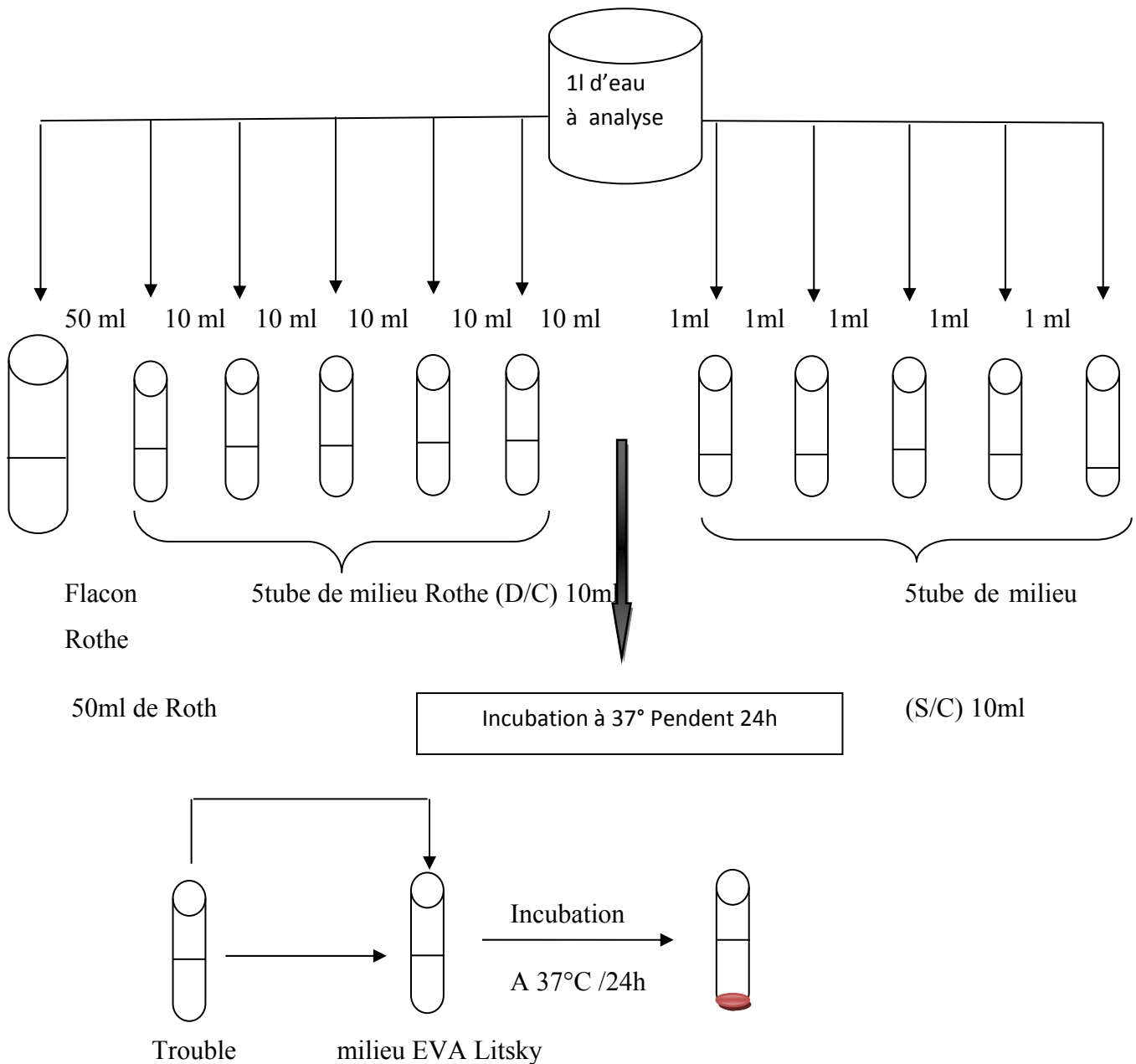


Figure N°07 : Rechercher et dénombrement des *streptocoques fécaux*.

### **II.1.2.3- Méthode de recherche et dénombrement des Anaérobies sulfite réducteurs :**

Les *Clostridium* sulfite-réducteurs sont considérés comme germes témoins d'une contamination environnementale qui forment en anaérobiose des colonies noires.

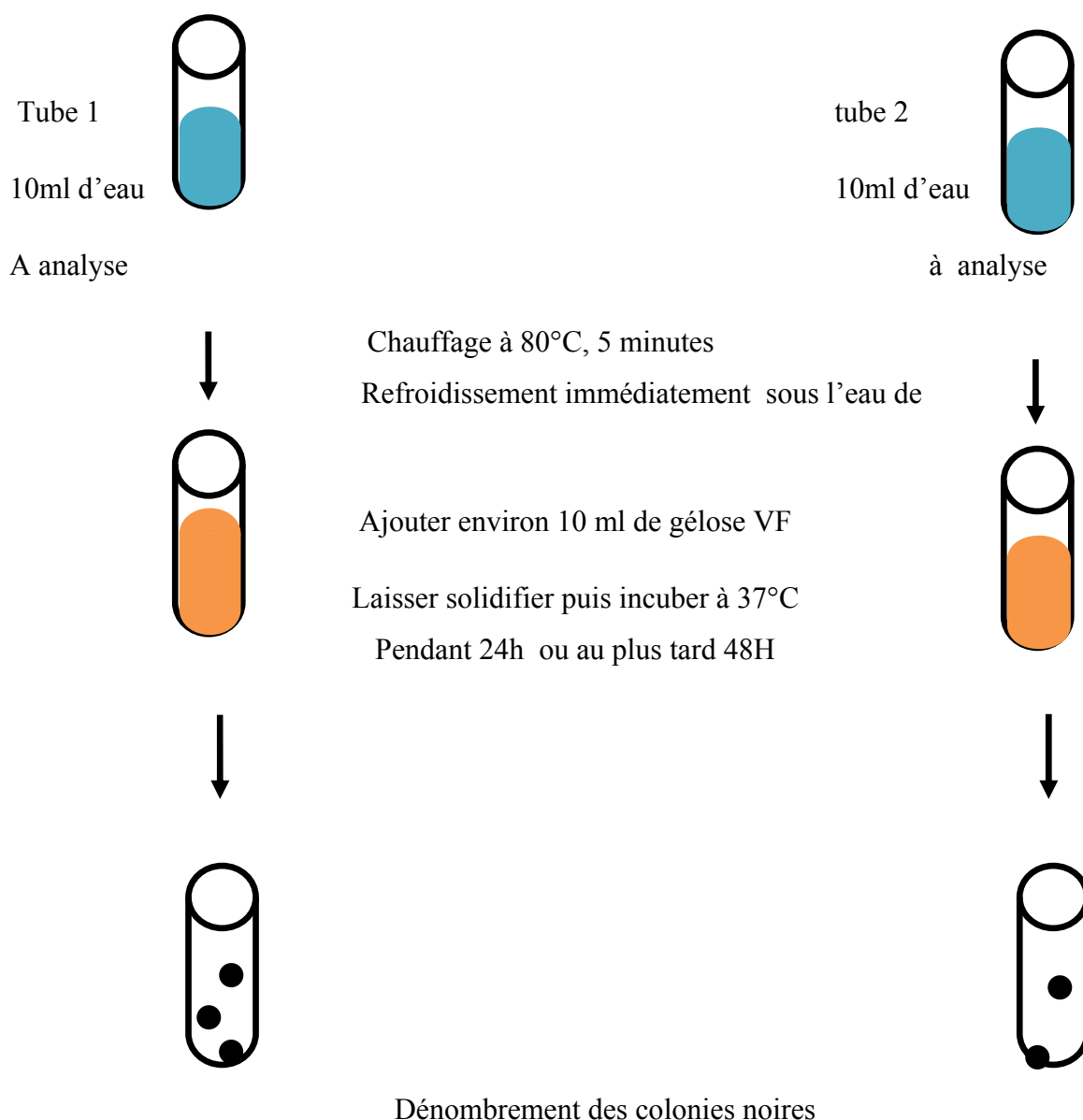
L'analyse se fait avec (VF) viande de foie il faut utiliser :2 tubes contenant 10ml d'eau à analyser.

#### **Mode opératoire**

1. Introduire 10 ml dans deux tubes stériles (10 ml dans chaque tube) d'eau à analyse.
2. Chauffer le tube à 80C° pendant 5 minutes puis le refroidir immédiatement à l'eau du robinet.
3. Après refroidissement ajouter 10ml gélose viande foie (VF) pour chaque tube.
4. Homogénéiser le tout (l'eau à analyses +VF) et laisser gélifier.
5. Incube les tubes à 37°C pendant 24h à 48h.
6. La lecture se fera après 24h puis 48h.

**Lecteur des résultats :** La lecture est effectuée par comptage de colonies noires en forme de lentille caractéristiques.

La méthode utilisée est résumée comme suite :



**Figure N°08 :** Recherche et dénombrement des *clostridium* sulfito-réducteurs.

## II.2. Poudre du lait

L'échantillonnage s'effectue à chaque nouvel arrivage. Le prélèvement de la poudre (0% et 26%) se réalise à l'aide d'une spatule stérilisée dans des sachets en Plastique stérile, environ 500g à partir de 5 sac . Les analyses sont portées sur 3 échantillons.



### II.2.1-Analyse microbiologique

Paramètres recherchés dans la poudre de lait : selon le ( JORA,2017)

-recherche et dénombrement de *Enterobacteriaceae* (coliformes totaux).

- recherche et dénombrement de *Staphylocoques* à coagulase +

-*Clostridium* sulfite-réducteur **selon le JORA 2000.**

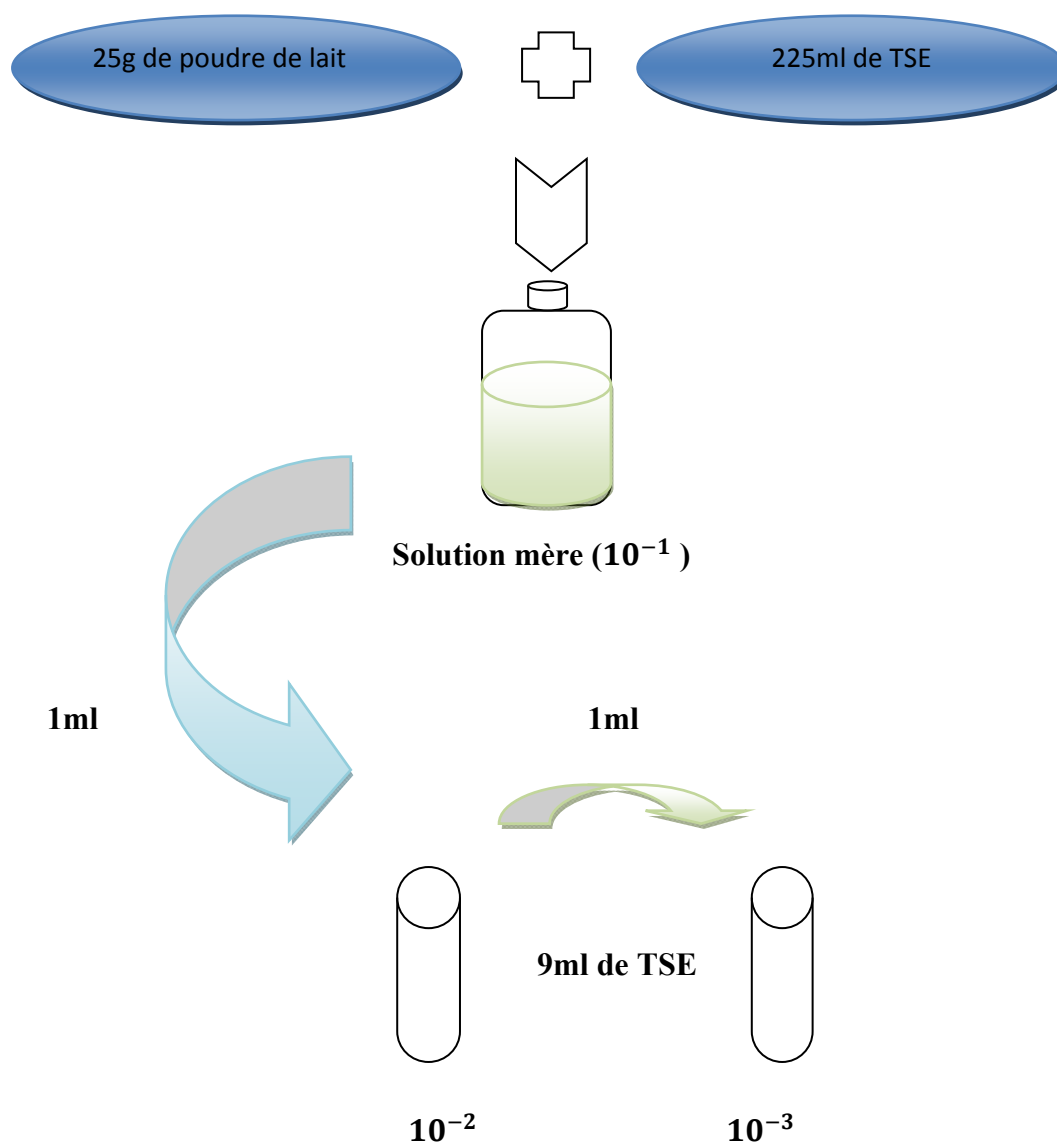
#### - Préparation des dilutions

La dilution a pour objectif de réduire le nombre de germes par unité de volume pour faciliter l'examen microbiologique.

Après homogénéisation convenable du poudre à examiner, on pèse 25g de la poudre avec une balance analytique qu'on introduit aseptiquement dans un flacon de 225 ml de (TSE) : on obtient ainsi après homogénéisation (poudre \* TSE ) la solution mère  $10^{-1}$  .

A partir de cette dernière, et avec une pipette stérile on prélève 1ml qu'on introduit dans un tube stérile contenant 9ml de (TSE) ; on obtient ainsi après homogénéisation la dilution au 1/100ème ou  $10^{-2}$ . De la même méthode la dilution  $10^{-3}$  est obtenue.

La durée de l'opération ne doit pas dépasser les 15mn entre la dilution primaire et le mélange des dilutions et des milieux.



**Figure N°09** : la méthode utilisée pour la préparation de la solution mère et des dilutions.

### **II.2.1.1- Méthode de recherche et dénombrement de la flore mésophile totale (FAMT)**

Les germes totaux sont l'ensemble des germes qui se multiplient spontanément dans un lait non refroidi ; on compte plus de 200 espèces ; on distingue deux catégories principales :

Les flores d'intérêt technologique ex : flore lactique, et les flores indésirables indicatrices de contamination (Colin,A :[www.neolait.com/.../Actualité\\_nettoyage.htm](http://www.neolait.com/.../Actualité_nettoyage.htm).consulté : le 14.04.2017)

Le dénombrement de germes aérobies totaux, par comptage des colonies obtenues à 30°C , s'effectue selon la norme Algérienne NA 2676 Le dénombrement de la F.M.A.T dans le lait , reflète sa qualité microbiologique .

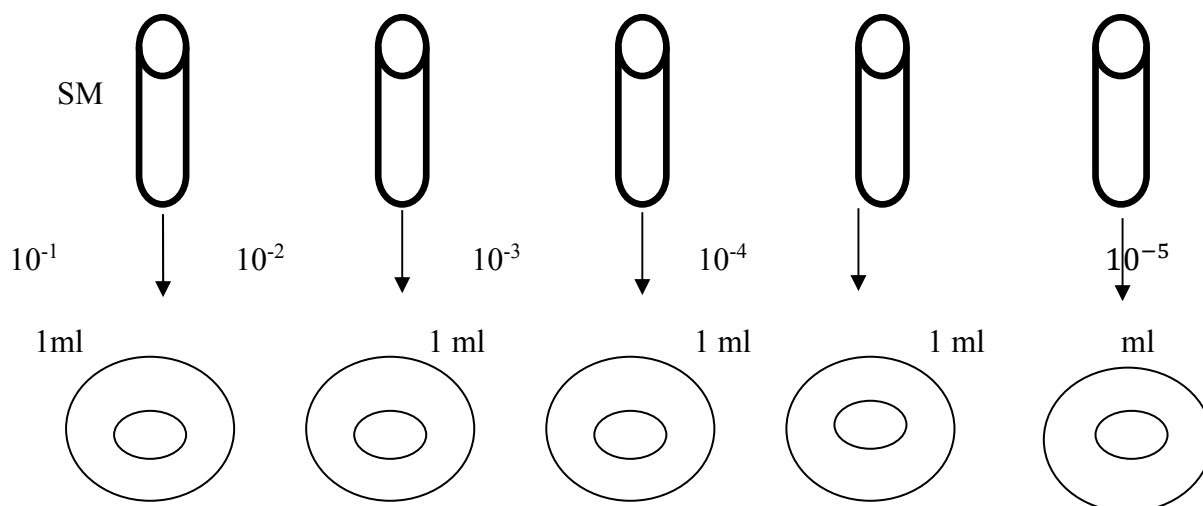
**Mode opératoire**

Milieu utilisé : Plate Count Agar. (P.C.A).

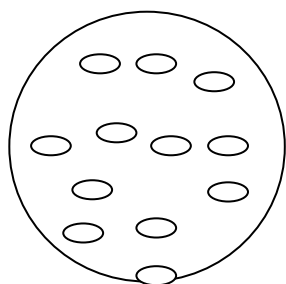
- 1- A partir des dilutions décimales successives en nombre, pour obtenir moins de 300 micro-organismes dénombrables /ml de la dilution la plus élevée, porter aseptiquement 1ml du produit dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage, comme l'indique la figure n°12.
- 2- Homogénéiser.
- 3- Couler ensuite avec environ 15ml de gélose P.C.A fondue au préalable et refroidie dans un bain d'eau à 47°C.

Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas dépasser 15 minutes.

- 4- Faire par la suite des mouvements circulaires et de va -et -vient en forme de (8) pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, sur une surface fraîche et horizontale, tout en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures.
- 5- Laisser solidifier sur pailleasse, puis rajouter environ 5ml de la même gélose .Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.
- 6- A partir des dilutions décimales.



- ajouter environ 15ml de PCA
- Laisser solidifier sur paillasse
- Ajouter une double couche (5ml)
- Incuber a 30°C 24-48 et 72H
- Dénombrer les colonies lenticulaires en masse



**Figure N° 10** : recherche et dénombrement des germes Aérobie Mésophile Totaux à 30°C

(Journal officiel, 2017)

### Incubation

Les boîtes seront incubées couvercles en bas à 30°C pendant 48 H avec :

- Première lecture : 24H
- Deuxième lecture : 48H

### Lecture et interprétation

Retenir les boîtes contenant moins de 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives, il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies.

Calculer le nombre  $N$ , de micro-organismes dénombrés à 30°C par ml ou par gr de produit en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \Sigma C / (1.1 \times d)$$

$N$  : nombre d'UFC par ml de produit initial.

$\Sigma C$  : la somme de colonies comptées sur les deux boîtes retenues.

$d$  : le taux des dilutions correspondant a la première dilution.

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs.

Le résultat final de micro-organismes dénombrés à 30°C par ml ou par gr de produit est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par  $10^x$  où  $x$  est la puissance appropriée à 10.

Les colonies apparaissent en masse et bien distinctes

### II.2.1.2-- Méthode de recherche et dénombrement des coliformes fécaux

Le dénombrement des coliformes thermo-tolérants fécaux par comptage des colonies à 44°C s'est fait conformément à l'AIM du journal officiel 27.05.1998 Le dénombrement des coliformes met en évidence une contamination fécale probable.

#### Mode opératoire :

Milieu de culture utilisé Gélrose au Bouillon lactose au vert brillant (V.R.B.L).

- Les coliformes sont dénombrés soit : en milieu solide par la technique en boîte sur gélose VRBL.
- En milieu liquide par la technique du N.P.P (le nombre le plus probable) à l'aide du bouillon V.R.B.L, réparti à raison de 10ml par tube muni au préalable d'une cloche de Durham.

Au sein de notre laboratoire, le dénombrement se fait en milieu solide .Par cette méthode, les coliformes fécaux sont dénombrés sur le milieu VRBL.

A partir de solution mère à dilutions décimales  $10^{-4}$ , porter aseptiquement 1ml dans une boîtes de pétri vides préparées à cet usage et numérotée comme l'indique la figure n°13

Compléter ensuite chaque boîte avec environ 15ml de gélose VRBL, fondue refroidie et maintenue à 45°C.

Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boîte et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder les 15 minutes.

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée. Laisser solidifier les boîtes sur paille

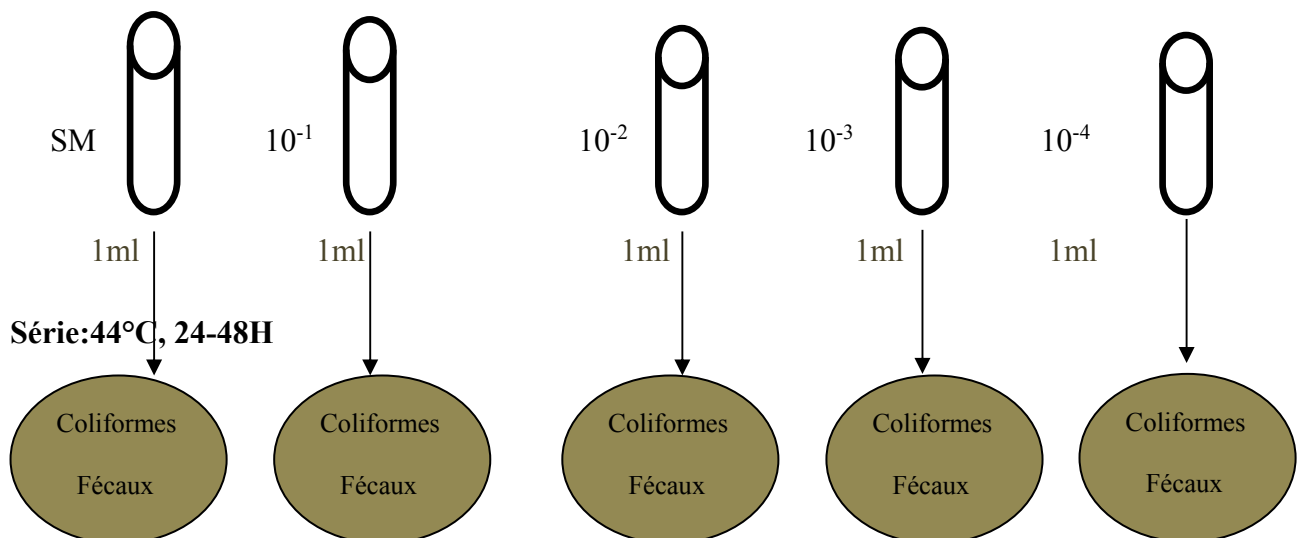


Figure N° 11 : Recherche et dénombrement des *coliformes fécaux* en milieu solide.

### **Incubation**

La série sera incubée à 44°C pendant 24 à 48H et servira à la recherche des coliformes fécaux. La première lecture se fera au bout de 24H et consiste à repérer et à dénombrer les colonies rouges ayant poussé en masse de 0.5 mm mais fluorescentes. Le nombre trouvé est multiplié par l'inverse de la dilution. Les colonies non fluorescentes ne sont ni dénombrées, ni comptées.

### **Lecture et interprétation**

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies rouges fluorescentes ayant poussées en masse pour les boîtes incubées à 44°C. Tenir compte de deux boîtes de dilutions successives contenant entre 15 et 150 colonies. En ce qui concerne le dénombrement des coliformes fécaux, le calcul du nombre N des micro-organismes désormais à 44°C par ml en tant que moyenne pondérée se fait par la même formule utilisée pour la recherche des FMAT.

#### **II.2.1.3- Méthode de recherche et dénombrement des *staphylococcus aureus***

**Mode opératoire** : Milieu utilisé : Bouillon Giolitti Cantoni et gélose Chapman.

**Préparation des milieux d'enrichissement** : au moment d'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu Giolliti Cantoni pour y ajouter une ampoule de solution de tellurite de Potassium , mélanger soigneusement .le milieu est prêt à l'emploi.

**Ensemencement** : Préparer dans un portoir une série de 5 tubes contenant 15 ml de milieu Giolliti Cantoni à raison d' un tube par dilution.

A partir de solution mère et des dilutions décimales, porter aseptiquement 1ml par dilution dans un tube Bien mélanger le milieu et l'inoculum Voir figure n° 14 .

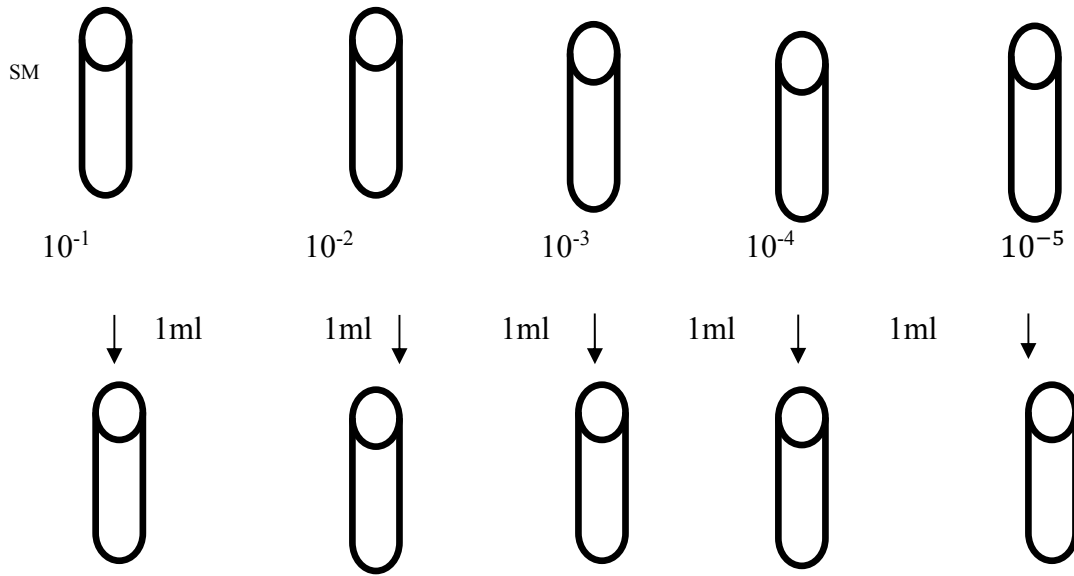
### **Incubation**

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48H

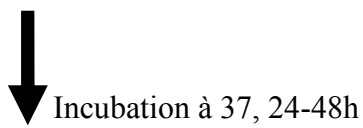
### **Lecture**

Seront considérés comme positifs, les tubes ayant virés au trouble. Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *staphylococcus auréus* , ces tubes feront l'objet d'un isolement sur gélose Chapman préalablement fondue , coulée en boîte de pétri et bien séchés. Les boîtes de Chapman ainsi ensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 H.

Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune.



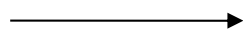
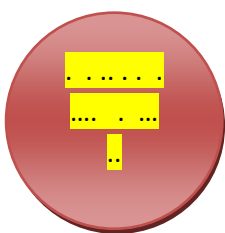
Ajouter 15ml de Giolitti Cantoni, bien mélanger le milieu et l'inoculum



Réaction positive

Isolement sur gélose Chapman

37°C 24 à 48H



Epreuve à la coagulase

Epreuve à la catalase

Figure N° 12: Recherche et dénombrement des *staphylococcus aureus*

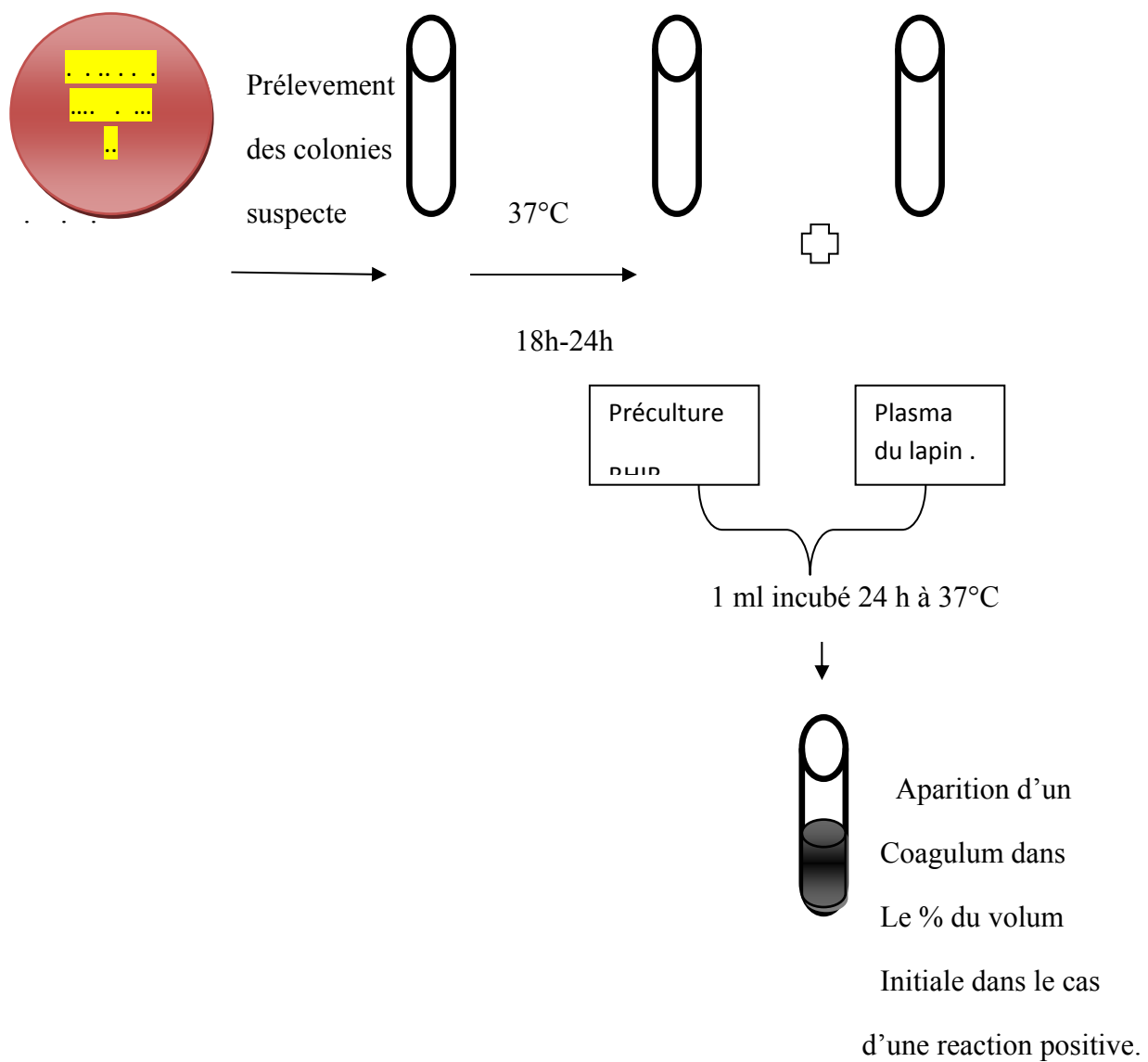
**Epreuve à la coagulas**

➤ **Mode opératoire**

1. prélever les colonies suspectes puis les ensemercer dans un bouillon infusion cœur cerveau (BHIB) et incubé à 37°C de 18 à 24h
2. A partir de cette pré –culture, on prélève 1ml, à laquelle on ajoute 3ml du plasma de lapin, le volume total de 4ml est incubé à 37°C pendant 24h

➤ **Lecture**

L'épreuve est reconnue positive lorsque le coagulum occupe plus des 3 /4 du volume initial. La méthode utilisée est résumée dans la figure n°14.



**Figure N° 13 :** Diagramme de la méthode de l'épreuve de coagulase.



#### II.2.1.4- recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et des *Clostridium* sulfito-réducteurs dans le lait en poudre

Les *Clostridium*s sulfito-réducteurs (ou leurs spores) bactéries commensales de l'intestin ou saprophytes du sol ; comme test de contamination fécale éventuellement ancienne vu la résistance des spores à l'extérieur. (Christiane Joffin, Jean-Noël Joffin 1993)

#### On peut utiliser deux milieux de culture

**1 -Le principe du milieu Viande-Foie Sulfite Fer** repose sur l'aptitude des bactéries anaérobies sulfito-réductrices à réduire les sulfites d'ammonium en sulfures de fer, responsable de la coloration noire des colonies, en anaérobiose à 37 °C.L'incubation à 46°C permet de cultiver préférentiellement *Clostridium perfringens*. Les *Clostridium*s sulfito-réducteurs et *Clostridium perfringens* réduisent les sulfites en sulfures.

#### Formule théorique du milieu viande foie sulfite de fer

Base viande foie 30 g

Glucose 2 g Amidon 2 g

Agar 11 g Sulfite de sodium 2,5 g

Sels de fer 0,5 g

Eau distillée 1000 ml

Le pH (25°C) avant autoclavage =  $7,7 \pm 0,1$

#### Matériel Nécessaire pour la préparation du milieu pour la recherche des germes anaérobies sulfito-réducteurs

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur

- Tubes à essais (16 x 160 mm) avec bouchons autoclavables
- Flacons avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles ( $\varnothing = 90$  mm)
- Jarre d'anaérobiose
- Catalyseur d'anaérobiose
- Pipettes stériles (1 ml, 10 ml,...)
- Pipettes Pasteur stériles (code 355-0751)
- Bain-marie avec une précision de  $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Etuves ou enceintes thermostatées avec une précision de  $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

**Préparation du milieu déshydraté :** Toujours agiter avant chaque utilisation. Dissoudre 46,5 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée.

Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à complète dissolution.

Répartir le milieu à raison de 100 ml par flacon ou 20 ml ou 7,5 ml par tube et stériliser à l'autoclave à  $121 \pm 3^{\circ}\text{C}$  pendant 15 minutes.

Taux de reconstitution : 45 g/l 500 g de poudre permettent de reconstituer approximativement 11,1 litres de milieu

### **Protocole**

- Préparation des échantillons / Destruction des formes végétatives A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

Pour la destruction des formes végétatives, l'échantillon doit être passé au bain-marie à  $80 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 10 minutes et refroidi rapidement entre  $44 - 49^{\circ}\text{C}$ .

- régénération du tube : Régénérer les tubes à 100°C pendant 20 minutes, puis les maintenir en surfusion entre 44 - 49°C avant ensemencement.

- Ensemencement En tube de 20 ml : Ensemencer 5 ml de prise d'essai dans un tube de 20 ml de milieu complet, en homogénéisant par mouvements de vrille de bas en haut.

En tube de 7,5 ml Ensemencer les tubes à l'aide d'une öse en homogénéisant par mouvements de vrille de bas en haut.

En boîte de Pétri Déposer 1 ml de prise d'essai dans la boîte.

Ajouter 18 ml de milieu complet en surfusion.

Mélanger. Laisser solidifier, puis ajouter une deuxième couche de quelques millilitres de gélose.

- Incubation Après solidification, les tubes et les boîtes sont incubés à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  et/ou  $46 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 24 h et 48 h (en anaérobiose pour les boîtes de Pétri).

**Il est indispensable de procéder à une lecture après 24 heures d'incubation.**

En présence de nombreuses colonies, une diffusion des halos peut conduire à une coloration noire uniforme du tube et tout dénombrement devient impossible après 48 heures d'incubation.

- Par contre, s'il y a une faible quantité de colonies à la première lecture et si les colonies sont petites, il peut y avoir un développement de nouvelles colonies dans les 24 heures suivantes.

- L'identification des *Clostridium* sulfito-réducteurs, peut être effectuée par repiquage de ces colonies entourées d'un halo noir

### **Précautions D'emploi**

Ne pas agiter violemment les milieux régénérés pour éviter toute ré-oxygénation de ceux-ci. Les milieux régénérés peuvent présenter un très léger trouble qui n'altère pas les performances culturelles des milieux.

## 2-Le principe du milieu TSC (base)

La gélose Tryptone-Sulfite-Cyclosérine (TSC) a été décrite par Harmon pour l'isolement sélectif et le dénombrement de *Clostridium perfringens* dans les eaux et les produits alimentaires.

Ce milieu est également recommandé pour le dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs dans les denrées d'origine animale.

### Principes

- Les microorganismes sulfito-réducteurs réduisent le sulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique un précipité noir de sulfure de fer autour des colonies.
- Pour effectuer le dénombrement des *Clostridium perfringens*, il est recommandé d'incuber le milieu à 37°C et de procéder ensuite à la confirmation des colonies caractéristiques.
- La flore contaminante est presque totalement inhibée par la D-cyclosérine qui diminue également la taille des halos noirs se développant autour des colonies.

### Préparation

- Mettre en suspension 42,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes, à raison de 20 mL par tube, ou en flacons à raison de 100 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Avec le milieu de base prêt-à-liquéfier, faire fondre la gélose pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliqufaction totale. Refroidir et maintenir le milieu à 44-47°C.

- Dans chaque tube, ajouter stérilement 0,2 mL de supplément sélectif D-cyclosérine 200 mg reconstitué. Homogénéiser.
- Chauffer le produit à analyser afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores.
- Transférer 1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales dans les tubes en évitant au maximum d'incorporer de l'air au milieu.

- Homogénéiser parfaitement.
- Refroidir dans un bain d'eau glacée.
- Incuber à 46°C ou bien à 37°C pendant 20-24 heures, suivant le protocole analytique utilisé. Le chauffage des tubes après ensemencement doit être évité.

**Utilisation En Boîtes ø 90 mm** (Milieu de base + D-cyclosérine).

- Pour 100 mL de milieu de base, ajouter stérilement 1,0 mL de supplément sélectif D-cyclosérine 200 mg reconstitué. Homogénéiser.
- Transférer 1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales dans les boîtes.
- Couler 15 à 20 mL de milieu complet.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface plane.
- Les boîtes inoculées doivent être incubées en jarre d'anaérobiose pendant 24 heures à 37°C en présence d'un mélange gazeux d'hydrogène et de dioxyde de carbone.
- La lecture sera effectuée aussitôt après l'ouverture de la jarre, sinon les colonies risquent de pâlir par suite de l'oxydation du sulfure de fer.
- Faire les tests de confirmation nécessaires à l'identification de *Clostridium perfringens* : coloration de Gram, catalase, test de réduction des nitrates, mobilité, hydrolyse de la gélatine, subcultures sur bouillon Lactose-Sulfite (LS) (BK140), etc...

**Le milieu RCM Clostridial Reincorfed (BIOCORP, Pologne)**

Le milieu RCM Clostridial Reincorfed a été utilisé comme milieu de prolifération pour les bactéries du genre *Clostridium*. Le milieu de production (*Rich Medium*) a été préparé selon (Himmi *et al.*, 1999) et additionné de glycérol brut (Wratistlawia, Pologne) à une concentration de 70 g / L. La matière première du glycérol avait la composition suivante (en poids): 86% de glycérol; 8-10% d'eau; 5-6% de NaCl; acides gras libres et <0,01% de méthanol.

**Autre méthode de bioréacteur Sartorius Stedim (Ltd., Allemagne) ou New Brunswick Scientific, (États-Unis)**

La première étape de la culture a consisté en une prolifération de bactéries dans le tube à essai Hungate dans une chambre de culture anaérobie (Whitley MG500 de Scientific). Après la période d'incubation adoptée (24 h), le pré inoculum a été transféré au moyen d'une seringue stérile dans un flacon (Duran®) intégré à un bioréacteur de 30 L (Sartorius Stedim Ltd., Allemagne). La bouteille a été placée dans un bain-marie (32 ° C) et incubée pendant 24 h pour proliférer la biomasse bactérienne. Après l'incubation, le contenu de la bouteille a été pompé dans un bioréacteur d'une capacité de travail de 10 L (capacité totale de 30 L) à l'aide d'une pompe péristaltique. L'incubation a été répétée à 32 ° C pendant 24 h. Ensuite, une biomasse bactérienne proliférée de 10 L a été utilisée pour inoculer un milieu de production de 90 L. Avant l'inoculation, le milieu a été stérilisé pendant 30 min. à une température de 121 ° C (stérilisation interne) dans un bioréacteur (New Brunswick Scientific, États-Unis). La fermentation a été effectuée pendant 34 h à 36 ° C et à une vitesse d'agitation constante de 60 tr / min. Le pH de 7,0 a été maintenu par addition de NaOH à 20%.

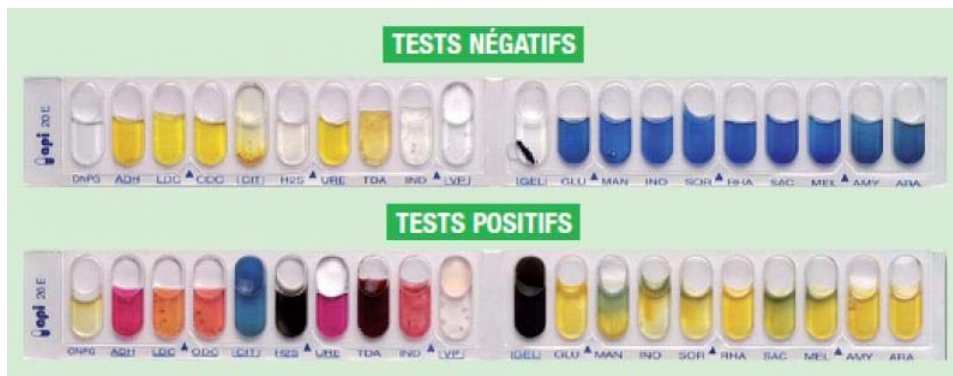
**Methode Sur Gelose Viande Foie VF et La Galerie Api Systeme « A »Spécifique Aux Germes Anaerobies**



**Figure N°14** : Galerie Api Système .

Une **galerie API** (analytical profile index) est un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés.

**Lecture de galerie api système A spécifique aux germes anaérobies**



**Figure N° 15 :** Lecture de galerie api système « A » spécifique aux germes anaérobies.

La galerie API®20A (bioMérieux) nécessite une croissance bactérienne, donc une incubation en anaérobiose de 24 à 48 heures.

Elle met notamment en évidence la fermentation des glucides. La plus ancienne des galeries prêtes à l'emploi (API®20A) comporte 20 micro-cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent d'étudier, en 24 à 48 heures, 21 caractères phénotypiques révélés par des changements de couleur (Figure 20).

En pratique, cette galerie est ensemencée avec un inoculum à 3 McF («unités Mac Farland») puis incubée 24 à 48 heures à 37°C en atmosphère anaérobie. Elle permet d'identifier des germes ayant une croissance suffisamment rapide et un métabolisme des sucres suffisant.

**INOCULATION DE LA GALERIE API 20 A**

- Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, remplir tubes et cupules des tests CTI, VP, GEL
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LCD, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 35 - 37° C pendant 18 à 24 heures.

**Test d'Identification Des Germes Anaérobies Sulfito Reducteurs : Le système API 20 A**

Le système API 20 A permet de réaliser rapidement et facilement 21 tests pour l'identification biochimique des anaérobies. D'autres tests tels que la morphologie coloniale et microscopique, la coloration de Gram, etc. doivent être effectués et les résultats utilisés pour confirmer ou compléter l'identification. La liste complète des organismes qu'il est possible d'identifier avec ce système est donnée dans le tableau d'identification en annexe.

**Principe** La bande API 20 A est composée de 20 micro tubes contenant des substrats déshydratés. Ces tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue le milieu. Pendant l'incubation, le métabolisme produit des changements de couleur spontanés ou révélés par l'ajout de réactifs. Les réactions sont lues selon le tableau de lecture et l'identification est obtenue en se référant à l'index du profil analytique ou en utilisant le logiciel d'identification.

**Matériel pour l'identification des sulfito reducteurs anaérobies.**

- Tampons
- Pipettes ou PSI petites
- Générateur d'atmosphère anaérobie
- Porte-ampoules
- Protecteur d'ampoules
- Matériel de laboratoire de microbiologie générale incluant lampe ultraviolette (365 nm).
- Pour usage diagnostic in vitro et contrôle microbiologique.
- Réservé à un usage professionnel.
- Ce kit contient des produits d'origine animale. La connaissance certifiée de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne garantit pas totalement l'absence d'agents pathogènes transmissibles. Il est donc recommandé de traiter ces produits comme potentiellement infectieux et de les manipuler en respectant les précautions d'usage (ne pas ingérer ou inhaler).



Tous les échantillons, cultures microbiennes et produits inoculés doivent être considérés comme infectieux et manipulés de manière appropriée. La technique aseptique et les précautions habituelles de manipulation du groupe bactérien étudié doivent être observées tout au long de cette procédure. Voir "NCCLS M29-A, Protection du personnel de laboratoire contre les risques biologiques et les maladies infectieuses transmis par le sang, les liquides organiques et les tissus ; se référer aux réglementations actuellement en vigueur dans chaque pays et en Algérie.

### **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule de milieu API 20 A
- À l'aide d'un écouvillon, prélever toute la croissance obtenue sur la gélose Viande Foie en milieu anaérobie. Il est recommandé d'utiliser des cultures jeunes (18-24 heures). Vérifier que la souche est pure. (Si nécessaire, effectuer une sous-culture en utilisant une colonie bien isolée).
- Tenir l'ampoule droite et émulsionner les organismes en faisant tourner l'écouvillon et en le frottant contre le côté de l'ampoule sans le retirer du milieu en suspension.

La turbidité finale doit être supérieure ou égale à 3 McFarland. Cette suspension doit être utilisée immédiatement après la préparation. Les organismes à croissance lente peuvent avoir besoin de plus d'un tube de viande foie pour atteindre cette densité d'inoculum.

Pour maintenir des conditions anaérobies, éviter d'introduire de l'air dans le milieu lors de l'homogénéisation.

### **Préparation de la bande**

- Préparer une boîte d'incubation (plateau et couvercle) et distribuer environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée[ou d'eau sans additifs ou produits chimiques pouvant libérer des gaz (par ex. Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, etc.)] dans les puits alvéolés du plateau pour créer une atmosphère humide.
- Retirer une bande API 20 A de son emballage et la placer dans le plateau d'incubation. - A l'aide d'une pipette stérile, inoculer la bande avec la suspension dans l'ampoule de milieu API 20 A, en évitant la formation de bulles et en inclinant légèrement la bande en avant.
- Pour le test GEL, remplir le tube et la cupule.

- Pour le test IND, ne remplir que le tube avec du milieu API 20 A et remplir le cupule avec de l'huile minérale pour éviter l'évaporation de l'indole.

- Placer le couvercle sur le plateau et incubé pendant 24 heures ( $\pm 2$  heures) à  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dans une étuve anaérobie, (jarre).

### Lecture Et Interprétation des résultats

La lecture de la bande : De nombreuses bactéries anaérobies produisent des réactions qui sont claires et faciles à lire en 24 heures, mais certaines souches se développent lentement et ne peuvent être identifiées qu'après 48 heures d'incubation.

- Après incubation, lire la bandelette en se référant au tableau de lecture.

- Consigner toutes les réactions spontanées (celles qui ne nécessitent pas l'ajout de réactifs) sur la feuille de résultats.

- Révéler les tests qui nécessitent l'ajout de réactifs.

- Le BCP présent dans le milieu réactionnel peut être décoloré par réduction. Dans ce cas, révéler la réaction d'acidification en ajoutant 1 goutte de réactif BCP à tous les microtubes contenant des glucides.

Une couleur jaune ou jaune-vert indique une réaction positive à enregistrer sur la feuille de résultats.

- Test IND : ajouter 1 goutte de réactif XYL à la couche d'huile minérale. Mélanger à l'aide d'un bâtonnet applicateur et laisser agir de 2 à 3 minutes. Ajouter 1 goutte de réactif de DSE. Le réactif doit flotter sur le xylène/huile minérale (afin de ne pas diluer la couleur dans le microtube). Lire dans les 5 minutes. **Une couleur rouge** indique une réaction positive à enregistrer sur la feuille de résultats.

- Test CAT : La production de catalase est déterminée après 30 minutes d'exposition des bandes à l'air. Ajouter 2 gouttes de  $\text{H}_2\text{O}_2$  3 % à un microtube à réaction positive. L'apparition de bulles indique une réaction positive à enregistrer sur la feuille de résultats.

L'identification est obtenue avec le profil numérique.

- Détermination du profil numérique : La feuille de résultats reproduit le contour de la bandelette API 20 A avec ses 20 tests, plus la réaction catalase et 3 caractéristiques

morphologiques : SPOR pour spore (+, -), GRAM (+, -) et COCC pour coccus (+, -). Sur la feuille de résultats, les tests sont séparés en groupes de 3 et une valeur de 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant les valeurs correspondant aux réactions positives au sein de chaque groupe, on obtient un numéro de profil à 8 chiffres.

- Identification : Elle s'effectue à l'aide de la base de données (V3.0) \* avec l'index des profils analytiques :

- Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

GLU MAN LAC SAC MAL SAL XYL ARA GELESC GLY CEL MNE MLZ RAF SOR  
RHA TRE CAT

1. --+-++++---+\*--+\*--+--+\*--+--
2. +-+++++++-+-----+-----
3. +++\*----+-----+-----

**Figure N°16** : Exemples de résultats Api 20A.

1. *Clostridium perfringens* ATCC 13124:

2. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483

3. *Clostridium sordellii* ATCC 9714 ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

Consultez le tableau d'identification voir annexe pour connaître la gamme des résultats attendus pour les différentes réactions biochimiques.

La couleur brun-noir ne se développe parfois qu'après que la bande ait été exposée à l'air : cela doit être pris en considération lors de la lecture. Une couleur noire peut être due à la formation de sulfure ferrique (FeS) due à la réaction du H<sub>2</sub>S avec le citrate ferrique.

Cela n'indique pas une hydrolyse de l'esculine. Les deux se distinguent par le fait que le sulfure ferrique forme un précipité noir à la base du tube alors que l'hydrolyse de l'esculine donne une zone brun-noir au sommet du tube. Si le tube est complètement noir, et en cas de doute, l'essai doit être lu en examinant la fluorescence à la lumière UV.

ESC + H<sub>2</sub>S – Le haut du tube noir

ESC - / + H<sub>2</sub>S - /+ tout le tube noir

ESC - H<sub>2</sub>S + le fond du tube noir

- Les quantités indiquées peuvent être adaptées en fonction du titre des matières premières utilisées.

- Certaines cupules contiennent des produits d'origine animale, notamment des peptones.

**I.1-résultat de l'eau de procès**

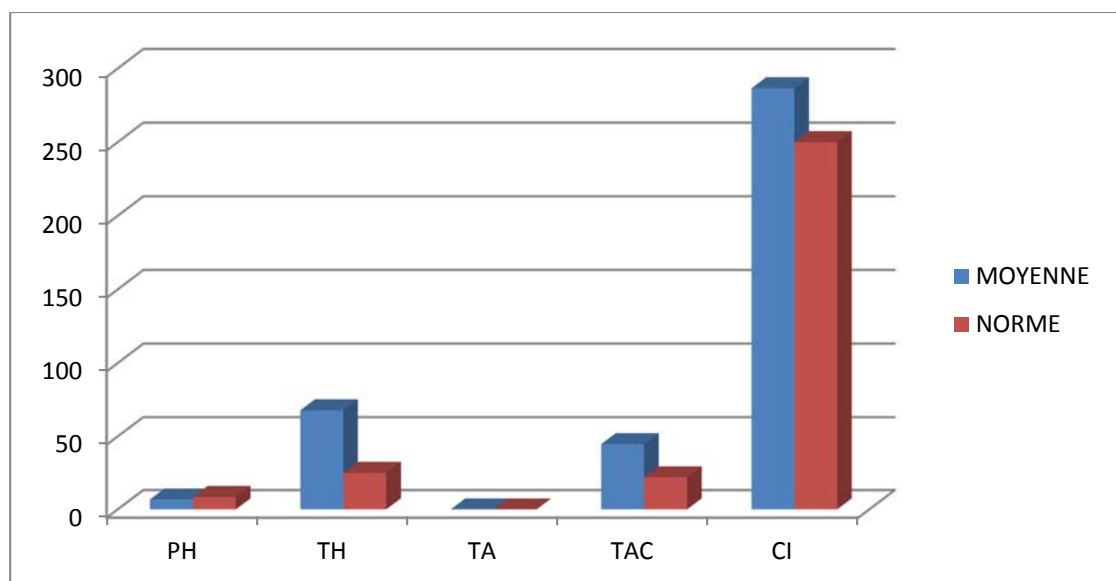
**I.1.1 - résultats d'analyse physico-chimique**

**Tableau N°09** : résultat d'analyse physicochimique de l'eau de procès.

	Ph	TH °F	TA °F	TAC °F	Cl mg/l
<b>E1</b>	<b>6.92</b>	<b>68</b>	<b>0</b>	<b>45</b>	<b>362.1</b>
<b>E2</b>	<b>7.09</b>	<b>67</b>	<b>0</b>	<b>40</b>	<b>248.5</b>
<b>E3</b>	<b>7.00</b>	<b>68</b>	<b>0</b>	<b>45</b>	<b>230.20</b>
<b>E4</b>	<b>6.85</b>	<b>67</b>	<b>0</b>	<b>45</b>	<b>320.19</b>
<b>E5</b>	<b>7.17</b>	<b>69</b>	<b>0</b>	<b>40</b>	<b>283.0</b>
<b>E6</b>	<b>7.08</b>	<b>67</b>	<b>0</b>	<b>40</b>	<b>384.40</b>
<b>E7</b>	<b>6.75</b>	<b>68</b>	<b>0</b>	<b>45</b>	<b>256.30</b>
<b>E8</b>	<b>6.85</b>	<b>69</b>	<b>0</b>	<b>40</b>	<b>276.90</b>
<b>E9</b>	<b>7.04</b>	<b>68</b>	<b>0</b>	<b>45</b>	<b>234.30</b>
<b>E10</b>	<b>6.88</b>	<b>68</b>	<b>0</b>	<b>40</b>	<b>269.8</b>
<b>Norme (ISO)</b>	<b>6,5 – 8,5</b>	<b>18 – 25</b>	<b>00</b>	<b>22</b>	<b>≤250mg/l</b>

Le résultat obtenu qui est égal à 67°F n'est pas conforme à la norme qui est entre 18 et 25°F. Ce résultat est dû au mauvais traitement d'adoucissement appliqué.

L'eau doit avoir un niveau de dureté acceptable en effet l'injection de l'eau dure ne permet pas d'avoir une bonne dissolution de la poudre.



**Figure N° 17** : présentation graphique des résultats d'analyse physico-chimique de l'eau

Selon la présentation graphique le taux de chlore Cl est très important ce qui risque de changer le gout du lait et de créer des problèmes de santé chez le consommateur.

Ainsi que la dureté de l'eau qui peut avoir des repercussions sanitaires (tartrage du matériel et des lithiases chez l'être humain).

### I.1.2- Résultat d'analyse microbiologique

**Tableau N°10** : résultat d'analyse microbiologique de l'eau de procès .

	24h	48h	Résultats
<i>Coliformes.Totiaux</i> <i>Coliformes .Fécaux</i> <i>E.coli</i>	00	00	NPP = 00/ml
<b>Streptocoque</b> <b>féceau</b>	00	00	NPP = 00/ml
<i>Anaérobies sulfito</i> <i>réducteurs</i>	Abs	Abs	Abs

La recherche des microorganismes a montré leur absence dans tous les échantillons analysés (résultat conforme aux normes de(JORA2017)).

### I.1.3- Discussion des résultats

Le TH de l'eau de procès appelé aussi la dureté, est responsable des dépôts de tartre dans les canalisations, causés par les ions de calcium et de magnésium en cas d'une teneur très élevée (Rodier et al., 2009) . l'eau doit avoir un niveau de dureté acceptable en effet l'injection de l'eau dure ne permet pas d'avoir une bonne dissolution de la poudre.

Le résultat obtenu qui est égal à 67°F n'est pas conforme à la norme qui est entre 18 et 25°F. Ce résultat est dû au mauvais traitement d'adoucissement appliqué.

La teneur élevée des eaux de procès en chlorures a un inconvénient majeur qui est la saveur désagréable à partir de 250mg/L et le problème de corrosion pour les canalisations et les réservoirs (Rodier et al., 2009).

Le taux de chlorures obtenu qui est de 286 mg/L n'est pas concorde avec le résultat cité par (Rodier et al.2009) qui ne doit pas dépassée 250mg/l, ce qui reflète l'absence du traitement de dé chloration des eaux.

Le TA et le TAC sont liés à la dureté de l'eau et donc à sa capacité d'entartrage. La valeur du TA est égale à zéro comme la norme l'indique. Le TA est aussi lié au pH, si ce dernier est inférieur à 8,3 le TA est égal à zéro, et le pH de l'eau analysée est de 6,80, qui est aussi conforme à la norme.

Les résultats obtenus témoignent de l'inefficacité des traitements appliqués pour avoir une bonne qualité physico-chimique de l'eau, qui servant à une mauvaise reconstitution et au rinçage des installations.

L'eau est l'un des éléments essentiels dans la reconstitution du lait elle doit être de bonne qualité microbiologique afin de contribuer à élaborer un produit dépourvu de microorganisme nuisibles (Gosta, 1995).

Les résultats obtenues de l'analyse d'eau de procès sont conformes aux normes du J.O.R.A, 1998, on remarque l'absence totale des germes de contaminations et des pathogènes, ceci montre que l'eau est de bonne qualité microbiologique et reflète une efficacité d'épuration des eaux et des filtres, ainsi que la bonne désinfection par le chlore.

### I.2- Poudre du lait

Tableau N°11 : résultat d'analyse microbiologique de lait en poudre.

Germes	Resultats	Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	References
<i>Flore mésophile totale</i>	Abs	$10^2$	(JORA,2017)
<i>Staphylocoques à coagulase +</i>	Abs	$10^2$	(JORA,2000 )
<i>Anaérobie sulfuto reducteur</i>	Couleur noire	Absence	

**I.2.1- Discussion des résultats**

**I.2.1.1-Coliformes totaux et fécaux**

On parle de coliformes pour définir les microorganismes servant d'indicateurs à la présence possible de contaminations fécales. Leur recherche et leur dénombrement permettent d'apprécier l'importance de contamination du lait et des produits laitiers (Vignola, 2002).

La recherche des coliformes a montré leur absence dans tous les échantillons analysés. aucun Coliforme n'a été dénombré, cela indique que le lait a été préparé dans des conditions hygiéniques satisfaisantes.

D'après Guiraud (2003) et Leary (2004), l'absence totale de coliformes indique l'action primordiale exercée par les traitements thermiques subits par les produits analysés d'une part et l'efficacité des opérations de nettoyage appliquées par le NEP (Nettoyage En Place) d'autre part.

**I.2.1.2- Staphylococcus aureus**

La recherche des staphylocoques s'effectue pour l'évaluation de la qualité sanitaire des produits alimentaires, plus particulièrement les produits laitiers, la présence de cette espèce peut provoquer des intoxications alimentaires (Vignola, 2002).

La recherches des *Staphylococcus* a montré leur absence dans tous les échantillons analysés (résultat conforme aux normes de JORA2017).

**Tableau N°12 : Normes selon le journal officiel Algérien (JORA,1998)**

<b>i. Lait déshydraté conditionné (1) :</b>			
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 <sup>4</sup>
— coliformes	5	2	5
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	2	50
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
— antibiotiques	1	0	absence

**I.2.1.3- Anaérobies sulfito reducteurs**

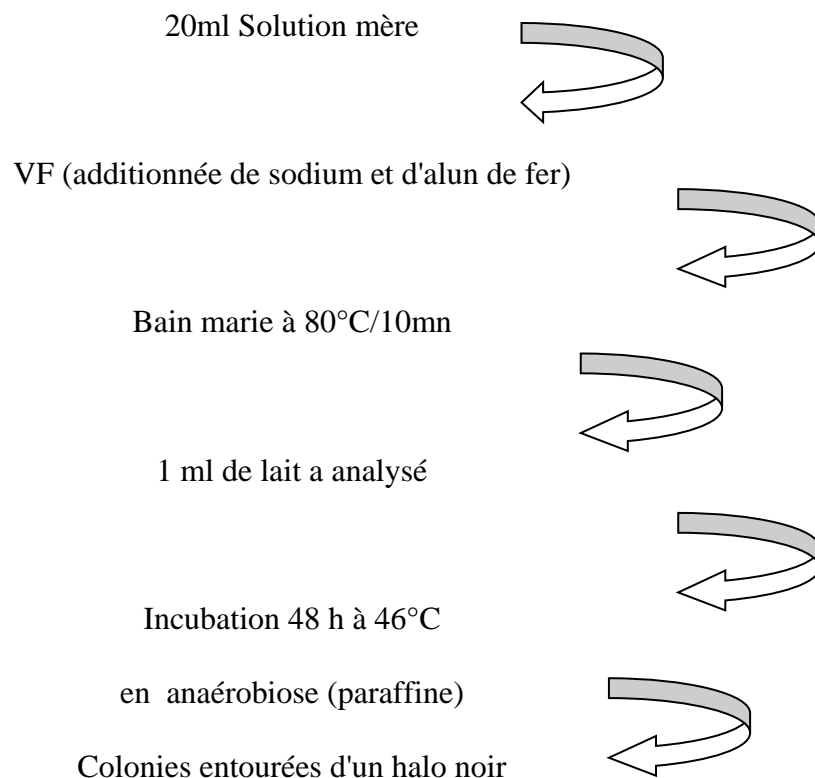
**Interprétation des résultats des germes sulfito reducteurs anaérobies**

Ces résultats pourraient être essentiellement dus à l'efficacité du traitement thermique appliqué (Lubun, 1998 ; Bimben et Feutry, 2007).



Après avoir introduit un flacon stérile de 20 ml de la dilution mère  $10^{-1}$  dans un bain marie à  $80^{\circ}\text{C}$  pendant 10mn environ, nous l'avons refroidi rapidement sous courant d'eau froide pour éliminer la forme **végétative**.

Ensuite on aensemencé avec 1 ml du lait chauffé des tubes (10) contenant de la gélose viande foie (VF) plus additifs (alun de fer et sulfite de sodium; on a ajouté quelques gouttes d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose, et on a incubé à  $46^{\circ}\text{C}$  pendant 48h.



**Figure N° 18** : méthode de Recherche des *Clostridium* sulfite-réducteurs dans la poudre de lait

### Interprétation et discussion des résultats

les *clostridium* sulfite-réducteurs apparaissent sous forme des colonies, entourés d'un halo noir .Le dénombrement des *anaérobies sulfite-réducteurs* se fait selon les normes (AFNOR 08-061).. la teneur en eau dans le lait en poudre qui est de l'ordre de 3 à 4 justifie le nombre peu important de cette flore.

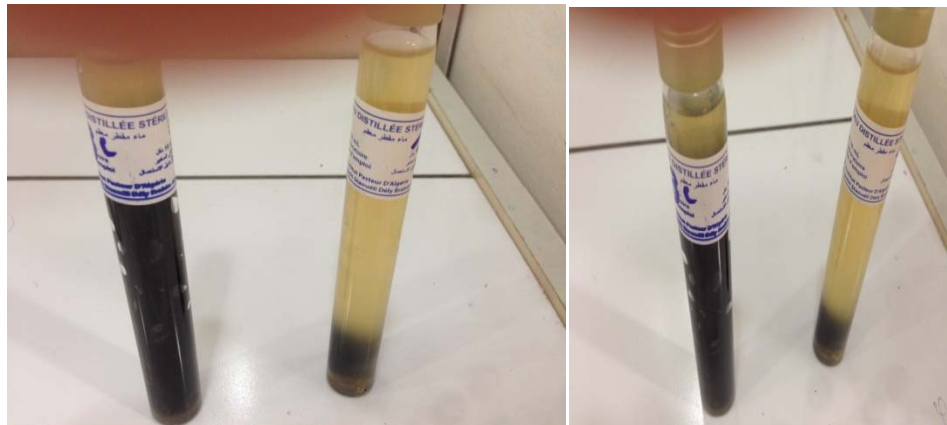


Figure N° 19 : les *clostridium*s sulfito-réducteurs sous forme de colonies, entourés d'un halo noir

### Préparation De L'inoculum pour identification du germe anaérobie sulfite réducteur

- On a ouvert une ampoule de « Suspension Medium » et on a introduit quelques ml d'eau distillée stérile (avec une pipette Pasteur) dans un tube à vis stérile.
- Ensuite avec la pipette Pasteur, on a prélevé une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé VF.
- On a réalisé une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.
- Ensuite on a mis quelques gouttes de la suspension bactérienne dans les cupules de l'API 20 A

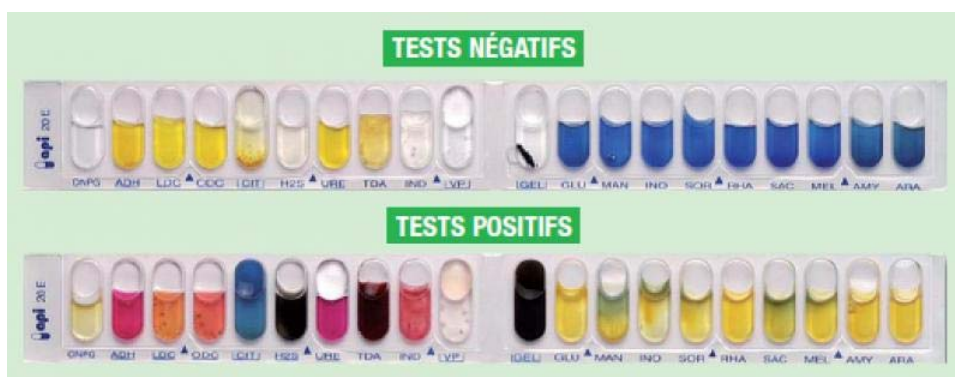


Figure N° 20 : galerie API 20

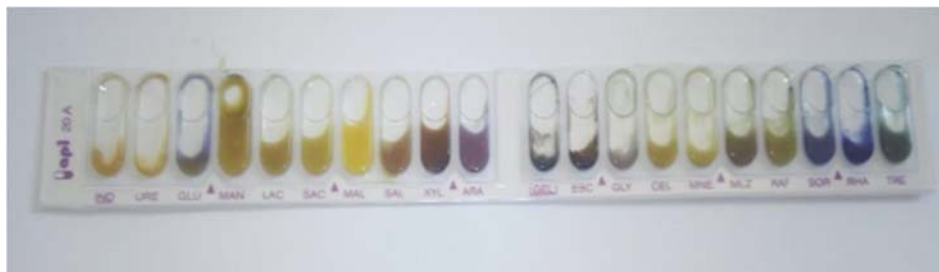
### Inoculation De La Galerie API 20 A

- Avec la suspension bactérienne et la pipette ayant servi au prélèvement, on a rempli tubes et cupules des tests.
- Remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.

- Créer une anaérobiose dans les tests ADH, LCD, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- On a Placé le couvercle sur le plateau et incubé pendant 24 heures ( $\pm$  2 heures) à  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dans une étuve anaérobie, (jarre)

### Lecture et détermination du type de germes sulfite réducteurs anaérobies

- Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.
- La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et à partir d'un code d'identification composé de 8 chiffres.
- Détermination du profil numérique : La feuille de résultats reproduit le contour de la bandelette API 20 A avec ses 20 tests, plus la réaction catalase et 3 caractéristiques morphologiques : SPOR pour spore (+, -), GRAM (+, -) et COCC pour coccus (+, -). Sur la feuille de résultats, les tests sont séparés en groupes de 3 et une valeur de 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant les valeurs correspondant aux réactions positives au sein de chaque groupe, on obtient un numéro de profil à 8 chiffres.



**Figure N°21** : résultats des germes sulfite réducteurs anaérobies

Selon les résultats nous n'avons pas pu identifier le type de germes comme *C. acetobutylicum* ou *C. butyricum*, qui sont sans danger pour l'homme, et qui sont utilisées pour des fermentations dans l'industrie.

Beaucoup d'espèces sont présentes dans le sol qui est leur habitat naturel (*Clostridium sporogenes*, *Clostridium butyricum*...).

Les Clostridia, bactéries anaérobies sporulées comprennent plus de 150 espèces (**Bergey's manual, 2004**). Elles peuvent être des espèces saprophytes non pathogènes pour l'homme, des espèces saprophytes pouvant être pathogènes

occasionnelles ou des espèces toxigènes très pathogènes pour l'homme ou pour des animaux (voir annexe 1). Les espèces principales sont présentées en considérant leur habitat naturel, leurs caractères particuliers, leur pouvoir pathogène ou leur intérêt.

Les Clostridia peuvent être classées en quatre groupes physiologiques qui interviennent dans de nombreuses fermentations industrielles. (**Larpen, 2000**)

Parmi ces espèces, certaines sont pathogènes pour l'homme ou pour les animaux, d'autres forment le groupe des Clostridia sulfitoréducteurs. Toutes ces espèces sont classées dans la famille des Clostridiaceae de la classification phylogénétique (**Bergey's manual, 2004**).

Ils regroupent des espèces de Clostridia telles que *Cl. perfringens*, *Cl. bifementans*, *Cl. sporogenes*, *Cl. novyi*, *Cl. fallax*, *Cl. septicum*... Ils sont ainsi dénommés car ils sont capables de réduire les sulfites (sulfite de sodium, par exemple) présents dans le milieu de culture en sulfures ; ceux-ci se combinent avec un sel de fer pour donner du sulfure de fer noir. Les colonies noires entourées d'un halo noir sont caractéristiques de bactéries sulfitoréductrices (ou anaérobies sulfitoréducteurs), de Clostridium après confirmation selon les conditions de recherche.

En réponse à la demande de l'industrie pour des micro-organismes présentant un potentiel biotechnologique favorable, un intérêt mondial s'est développé pour l'isolement des bactéries et des champignons. Les microorganismes aux propriétés métaboliques intéressantes comprennent les bactéries non pathogènes du genre *Clostridium*, en particulier *C. acetobutylicum*, *C. butyricum* et *C. pasteurianum*. (**Daria, 2014**).

### **Discussion**

La microbiologie et la biotechnologie industrielle exploitent énormément le potentiel immense des micro-organismes. Un rôle important est attribué aux bactéries du genre *Clostridium*, car ce sont des microorganismes ayant de nombreuses applications dans plusieurs secteurs industriels (**Zhang et al., 2009 ; Wang et al., 2011 ; Wilknes et al., 2011 ; Kaur et al., 2012 ; Metsoviti et al., 2012**).

Le genre *Clostridium* est l'un des plus importants du royaume de Procaryota. Ce sont des bactéries hétérogènes anaérobies, typiquement Gram positives. Leur particularité est une forme cylindrique. Les cellules des bactéries du genre *Clostridium* sont ciliées, mobiles et capables de former des endospores (**Bahl et**

**Dürre, 2001** ). Pour la plupart des espèces, la température de croissance optimale se situe dans la plage de 30 à 40 ° C, tandis que le pH optimal se situe dans la plage de 6,5 à 7,5. La teneur en guanine et en cytosine de l'ADN est comprise entre 24 et 54% en mole. Les principaux habitats de la bactérie *Clostridium* sont généralement présents dans la nature: sol, boues de rivières, boues actives, excréments d'animaux, etc. ( **Schlegel, 1993 ; Bahl et Dürre, 2001** ).

Ces bactéries sont caractérisées par un métabolisme de fermentation intense. Ils peuvent utiliser de nombreux composés organiques comme sources de carbone et d'azote. Les produits de leur métabolisme comprennent le CO<sub>2</sub>, le H<sub>2</sub>, ainsi que des composés organiques (acides butyrique, lactique, acétique et succinique) et des solvants (butanol, acétone, isopropanol) ( **Ezji et al. , 2007 ; Ren et al. , 2007 ; Skonieczny et Yargeau, 2009 ; Song et al. , 2011 ; Wang et al. , 2011** ).

Les bactéries du genre *Clostridium* , par exemple *C. butyricum* , *C. pasteurianum* , *C. diols* , *C. butylicum* et *C. perfringens* participent également aux processus de biotransformation ( **Colin et al. , 2000 ; Hao et al. , 2008** ). Les souches bactériennes susmentionnées sont capables de convertir efficacement le glycérol en 1,3-propanediol ( **Kubiak et al. , 2012** ). Une autre espèce très intéressante pour l'industrie est la souche *C. thermocellum* , un thermophile anaérobie capable de convertir la cellulose usée en éthanol ( **Colin et al. , 2000 ; Demain et al. , 2005 ; Ezeji et al. , 2007 ; Ren et al. , 2007 ; Leja et al. , 2011 ; Song et al. , 2011 ; Kubiak et al. , 2012** ).

En fermentant les pectines, les espèces pectinolytiques du genre *Clostridium* ( par exemple, *C. pectinovorum* ) relâchent la structure tissulaire des plantes et facilitent la séparation rapide des fibres de cellulose, ce qui apparaît particulièrement intéressant pour la conversion de la biomasse ( Perry, 2008 ).

En fermentant les sucres (glucose, saccharose, lactose), *C. acetobutylicum* et *C. butyricum* sont capables de produire de l'hydrogène ( **Oh et al. , 2009 ; Beckers et al. , 2010** ). Un nombre croissant de rapports sur le potentiel probiotique de *C. butyricum* ont été publiés ( **Takahashi et al. , 2000 , 2004 ; Zhang et al. , 2002 ; Seki et al. , 2003 ; Araki et al. , 2004 ; Shimbo et al . , 2003) . . , 2005** ). Un exemple intéressant est la souche *C. butyricum* MIYAIRI 588, qui présente des propriétés

probiotiques et qui est recommandée comme additif aux aliments pour animaux (Shimbo *et al.* , 2005 ). Les bactéries des espèces *C. butyricum* et *C. pectinovorum* ont également trouvé des applications en écologie, car elles jouent un rôle considérable dans les processus de minéralisation des sols et de conversion de la matière organique. Outre une représentation non négligeable du genre *Clostridium* caractérisé par un potentiel positif important d'application industrielle, il existe également plusieurs espèces présentant des effets néfastes sur les denrées alimentaires, ainsi que sur la santé humaine et animale. Les espèces protéolytiques mésophiles telles que *C. putrefaciens* causent souvent des dégâts alimentaires. Les espèces de *C. botulinum* et de *C. tetani* font partie des bactéries les plus dangereuses et leur caractère pathogène se manifeste par leur capacité à produire des exotoxines très fortes. Par ailleurs, la toxine botulique produite par *C. botulinum* est utilisée en médecine (pour atténuer les symptômes neurologiques) et en cosmétologie, en tant qu'agent réduisant efficacement les rides mimiques ( Schlegel, 1993 ; Ting et Freiman, 2004 ). La principale application de la bactérie *C. butyricum* est la production d'acide butyrique d ou altération fromagère donc perte économique.

Les bactéries du genre *Clostridium* sont fréquemment associées à des agents pathogènes dangereux qui menacent la santé ou même la vie des humains et des animaux. Les nouvelles souches de micro-organismes présentant des propriétés antibactériennes constituent une perspective intéressante, en particulier pour l'industrie de l'alimentation animale.

### **Conclusion**

En industrie laitière, la poudre de lait comme matière première et le lait reconstitué pasteurisé comme produit fini ,doivent répondre aux normes et aux exigences sanitaire hautement satisfaisantes justifiant leur bonne qualité des points de vue nutritionnelle , organoleptique, et hygiénique, comme ils ne doivent en aucun cas être contaminés ni de germes pathogènes, ni de germes d'altérations, ni de polluants chimiques ,ni de résidus de substance nocive à la santé humaine ) et contribue de façon opérationnelle à la politique nationale de développement économique et le Contrôle de la chaine de fabrication de la matière première jusqu'à produit fini.

Le but fondamental de ce travail est l analyse de contrôle de qualité bactériologiques ainsi que physico chimique du lait pasteurisé préparé au sein de la laiterie de Boudouaou , et l'isolement des souches de bacilles thermophiles à partir d'échantillon de la poudre du lait importée et conditionnée en Algérie les résultats montrent qu' il ya risque de contamination par des thermophiles de la matière première et des équipements d'installation .

## **RECOMMANDATIONS**

Pour cela des mesures de contrôle doivent être prises pour lutter contre les spores de la flore thermophile contaminante, telles que: Les exigences sanitaires d'importation de la poudre de lait conformément à la réglementation en vigueur.

- ✓ Effectuer le contrôle sanitaire de la poudre de lait d'importation de point de vue microbiologique, physicochimique, isotopique, recherche de résidus d'antibiotique et organoleptique. La salubrité microbiologique, physicochimique et organoleptique du «lait reconstitué» durant ses opérations de transformation, destiné à la consommation directe, est très importante
- ✓ Effectuer des analyses de la qualité microbiologique de l'eau de reconstitution et finalement, faire des prospections sur des paramètres entrants en contact direct ou indirect avec la manipulation du produit fini (lait pasteurisé reconstitué) tels que l'hygiène de l'ambiance, des surfaces de manipulation et du personnel (suivi médical).
- ✓ Amélioration du système de nettoyage et de désinfection style NEP c'est à dire nettoyage automatique en place appliqué par la laiterie en tenant compte des caractéristiques du contaminant du groupe de germes anaérobies thermo-résistants.
- ✓ Expliquer le recours du pays à l'importation de la poudre de lait de transformation pour satisfaire les besoins des consommateurs en lait dans le pays où le taux démographique atteint est important et que la production nationale trop faible pour trouver une solution adéquate et rapide.
- ✓ Effectuer des formations et des stages de perfectionnement dans le domaine de l'élevage et l'agro-alimentaire au personnel pour sortir de cette crise et diminuer voire complètement arrêter les importations de lait par une meilleure gestion laitière en élevage et production laitière locale.

En Algérie, il y a émergence de nombreuses micro-petites et moyennes entreprises de transformation de lait. Ce secteur joue donc un rôle important en termes d'emplois, de revenus (direct et indirects pour tous les acteurs agro-alimentaire

- ✓ Exposer une série d'objectifs pour améliorer l'économie du pays visant à montrer l'origine de la perturbation de l'environnement politico-économique, écologique, zootechnique, alimentaire et sanitaire. donc d'une manière



générale tous les problèmes et les contraintes qui handicapent la production laitière nationale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

**AFNOR, (1986)** . Contrôle de la qualité des produits laitiers, Ed, Paris.

**AFSSA , (2006)** . Agence française de sécurité sanitaire des aliments

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

**Aggad H., Mahouzi F., Ammar VA., Kihal M., (2009)**. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien Revue Méd. Vét., 160, 12, 590-595.

**Alias C.(1975)**. Science du lait principe des techniques laitières.3ème édition. Paris, pp : 1-60

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

**Alais Ch. (1984)** .Science du lait: Principes des techniques laitières IVe édition. Paris: Ed. SEPAIC.814 . Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait *In VIGNOLA C.L*, Science et technologie Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).

**Amiot J., Fouraners., Lebeufy., Paquin P ., Simpson R et Turgeon H. (2002)** : composition , propriétés physicochimique , 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) .

**Anonyme. (2009)** : Traite des vaches laitières : Matériel, installation, entretien. 1ère édition. France Agricole, institut de l'élevage : 554p.

**ANSES.,(2011)** : agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, envernement .

**APRIA., (1980)**. Les laits reconstitués-Leurs utilisations, Association pour la Promotion Industrie Agriculture, Paris: 48-49-50 (345 pages).

**Araki Y, Andoh A, Takizawa J, Takizawa W, Fujiyama Y .,(2004)** *Clostridium butyricum*, a probiotic derivative, suppresses dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in rats. Int J Mol Med 13: 577-580

**Augustin M A., Clarke P T., Craven H. (2003)**. **Characteristics** of Milk Powders Elsevier Science Ltd.4703.

**Avezard C.L., et Lablee J., (1990).** Lait et produits laitiers recombines, In *LUQUEE F.M.*, Lait et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 536-538-539 (637 pages).

-B-

**Bahl H, Dürre P., (2001)** Clostridia Biotechnology and Medical Applications. WV Press, Weinheim.

**Beckers L, Hiligsmann S, Hamilton Ch, Masset J, Thonart P.,(2010)** Fermentative hydrogen production by *Clostridium butyricum* CWBI1009 and *Citrobacter freundii* CWBI952 in pure and mixed cultures. *Biotechnol Agron Soc Environ* 14:541-548.

**Benhedane N., Bachtarzi N. (2012).** qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'une type de camembert dans une unité de l'Est Algérien ,

**Boukir M., (2008).** Relation entre les modalités de production bovines et les caractéristiques du lait, cas des exploitations laitières de la wilaya de tizi-ouzou .

**Boudier J.F et Luquet FM, (1981):** Dictionnaire laitière. Ed, TEC et DOC, France, 220p.

**Bylund G. (1995).** Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems. Lund, Sweden, 436 p.

-C-

**Carole L., Vignola, (2002).** Science et technologie du lait, transformation du lait, Canada, 600P.

**Chilliar Y. (1996).** Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre : comparaison avec les laits de vache et humain. Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Actes du colloque : le lait de chèvre, un atout pour la santé, INRA. Niort, France, pp.51-65.

**Claude G . (2004 ).** Symposium sur les bovins laitiers, Lait de qualité .

**Colin T, Bories A, Moulin G., (2000).** Inhibition of *Clostridium butyricum* by 1,3-propanediol and diols during glycerol fermentation. *Appl Microbiol Biotechnol* 54:201-205.

-D-

**Daria ., Dorota O et Katarzyna L. (2014).** Potentiel biotechnologique de la bactérie *Clostridium butyricum* .

**Daria A., Larionova., Svetlana V., Malysheva., Carlos Van Peteghem., Sarah De Saege, José Diana Di Mavungu., (2014).** Guide de Bonnes Pratiques d'hygiène de la Nutrition Animale (GBPNA) – OQUALIM – Version Finalisée soumise le 18/10/2016.

**Demain AL., Newcomb M., Wu JHD (2005)** Cellulase, Clostridia and ethanol. *Microbiol Mol Biol* 69:124-154.

**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.

**Don J., Brenner., Noel R., Krieg., James T., Staley., (2004)** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Volume 2: The Proteobacteria Editors: **Garrity**, George (Ed.) 332 pgs.

**Dwight C.H., Yuan C.Z. (1999).** *Veterinary microbiology*. Malden, USA : Blackwell Science, 479 p.

-E-

**El-hadi D ., Azzouz A . (2015).** Etude de la qualité physico-chimique deux types De lait reconstitués (pasteurisé et stérilisé)..page48.

**Ezeji TCL., Qureshi N., Blaschek HP., (2007)** Bioproduction of butanol from biomass: from genes to bioreactors. *Curr Opin Biotechnol* 18:220-227.

-F-

**Fikri I.S.P. (2010)** , Direction Maladies Transmissibles et Infectieuses.page 1 . analyse du microbiote du lait par les méthodes moléculaires.Département des sciences des aliments et de nutrition faculté des science de l'agriculture et de la l'alimentation université lavai Quebec.

**Fotou k ., Tzoraz A., Voidarou Ch.,Ailexopoulos A ., Plessas S ., Avgeris I ., Bezirtglou E ., Akrida-demertzi K ., Demertzi P.G. (2011 )** . Isolation of Microbiol

pathogens subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epuris (Greece) and their role in its hygiene. *Anaerobe* 17, 315, 319.

**Frank, J.F, Hassan, AN., (2002).** Microorganisms associated with milk. in thèse.

**Fredot E. (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier. Pp. 10-14.

**Flint B, Brooks JD., (1997):**Biofilms in dairy manufacturing plant-description, current concerns and methods of control *54:81-97*.

**Ftlqu T. (2002).** Science et Technologie du lait. Fondation de Technologie Laitière du Québec

-G-

**Grappin R, Pochet S.(1999)** , Le lait, P 3 – 22.

**Guiraud J.P. (1998)** : Microbiologie alimentaire .paris : Ed DUNOD : 652 p.

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

-H-

**Hao J, Lin R, Zheng Z, Liu H, Liu D .,(2008)** Isolation and characterization of microorganisms able to produce 1,3-propanediol under aerobic conditions. *Microbiol Biotechnol* 9:1731-1740.

-I-

**Idrissi K ,Soukaina.( 2011)** suivi de la stabilité et u mouillage du lait cru au niveau de la collecte , *TECHNIQUES D'ANALYSE CHIMIQUE ET CONTROLE DE QUALITE* , p 36 .

-J-

**Jeantet R. Croyennec T. Mahant M. Schuck P. Brulé G. (2008).** Les produits laitiers, 2eme Edition: Tec et Doc, Lavoisier. Paris. PP: 1-9.

**Jeantet R.Croguennec T.Schuck P.Brulé G. (2008).** Sciences des aliments.vol.2. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p449.

**JORA : Journale Officielle de la Republique Algérienne., (1993).** Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, N° JORA : 069 du 27- 10-1993.

-K-

**Kaan Tekinsen K, Elmali M, Ulukanli z., (2007).** Microbiological Quality of UHT Milk Consumed in Turkey. Journal of Food Safety, Vol.7, p. 45-48.

**Kabir A,( 2015) .**contraintes de la production laitière en Algerie et evaluation de la qualite du lait dans l industrie laitiere.

-L-

**Larpent J.P.(1997).**microbiologie alimentaire .technique de laboratoire. paris.Ed .Technique et documentation .273p.

**Leary M.J. ( 2004) .**Manuel de transformation du lait .chapitre 13 .249p.18.

**Leyou B ; Bouguetaib H . (2014) .** *Evaluation de la qualité de lait de vache à partir de la qualité physico- chimique de l' d 'abreuvement .* page 5.

**Lubun D. (1998) .**Lait de consommation et les produits laitiers dans la nutrition humaine . In.Collection FAO. Lupprien J.P.113.

**Luquet F-M. (1985).** « Lait et produits laitiers: vache, brebis, chèvre». 3 volumes, Paris, Technique et documentation, Lavoisier, 150 p.

**Luquet F.M,(1990):** Lait et produits laitiers, vache brebis, chèvre : Transformation et technologie, Ed TEC et DOC. Lavoisier, Paris. Tome 2 ,637p.

-M-

**Mathieu AM. et al. (1986).** Lait et produits laitiers, notes de cours, Université Lubumbashi, Fac. Médecine vétérinaire.

**Mathieu J. (1998).** « Initiation à la physico-chimie du lait».Edition Lavoisier,Technique et documentation, Paris, 220 p.

**Moller S. (2000).** La reconstitution du lait. Edition: INA. Paris. P: 36.

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

**Majd A .(2008) .** rapport de stage d'été dans la société Lait et Dérivés SLD Bledi.(en ligne ) institut national agronomique de Tunisie -3ème année cycle ingénieur disponible sur

[https://www.memoireonline.com/12/08/1691/m\\_RAPPORT-DE-STAGE-DETE-DANS-LA-SOCIETE-LAIT-ET-DERIVES-SLD-BELDIO.html](https://www.memoireonline.com/12/08/1691/m_RAPPORT-DE-STAGE-DETE-DANS-LA-SOCIETE-LAIT-ET-DERIVES-SLD-BELDIO.html) 15/02/2019 à 20:00

-O-

**OCEAC. (1998).** Présentation du centre collaborateur de l’OMS sur la recherche, l’isolement et l’identification d’agents de lutte entomopathogènes en Afrique Centrale. *Bull. Liais. Doc. - OCEAC*, 98.

-P-

**Petrus R., Loiola C., Silva C., Oliveira C., (2007).** Microbiological and Sensory Stability of Pasteurized Milk in Brazil. *Chemical engineering transactions* Volume 17, 2009.

**Pougheon S. et Goursaud J., (2001).** Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimique , In : DEBRY, G. Lait, nutrition et santé, Tec & Doc, Paris, 342 p.

-R-

**Ribadeau-dumas B et Grappin , (1989).** Milk protein analysis Lait , 416p.

**Juillard, V, Richard, J, Le lait, (1996),** P 24 – 26.

**Rodier J. Legube B. Merlet N. et coll .(2009).** L’analyse de l’eau. 9ème édition. Ed. DUNOD. 1526p.

**Roy D. (1995).** Lait cru : etre ou ne pas etre ? [On-line]. [2002/02/11]. < URL : [http://personal.nbnet.nb.ca/carolect/public\\_html/rawmilkf.html](http://personal.nbnet.nb.ca/carolect/public_html/rawmilkf.html) >.

-S-

**Seki H, Shiohara M, Matsumura T, Miyagawa N, Tanaka M, Komiyama A, Kurata S .,(2003)** Prevention of antibiotic-associated diarrhea in children by *Clostridium butyricum* MIYAIRI. *Pediatr Int* 45:86-90.

**Simoès M, Simoès LC, Vieira MI, (2019).** A review of current and emergent biofilm control. strategies. *Food Sci. Technol.*, 43: 573-583.

**Shimbo I, Yamaguchi T, Odaka T, Nakajima K, Koide A, Koyama H, Saisho H., (2005)** Effect of *Clostridium butyricum* on fecal flora in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *World J Gastroenterol* 11:7520-7524.

**Skonieczny MT, Yargeau V.,(2009)** Biohydrogen production by *Clostridium beijerinckii*: effect of pH and substrate concentration. *Int J Hyd Energy* 34:3288-3294].

**Song JH, Ventura JRS, Lee ChH, Jahng D .,(2011)** Butyric acid production from brown algae using *Clostridium butyricum* ATCC 25755. *Biotechnol Bioprocess Eng* 16:42-49.

-T-

**Takahashi M, Taguchi H, Yamaguchi H, Osaki T, Kamiya S .,(2000)** Studies of the effect of *Clostridium butyricum* on *Helicobacter pylori* in several test models including gnotobiotic mice. *J Med Microbiol* 49:635-642

**Takahashi M, Taguchi H, Yamaguchi H, Osaki T, Komatsu A, Kamiya S (2004)** The effect of probiotic treatment with *Clostridium butyricum* on enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection in mice. *Immunol Med Microbiol* 41:219-229.

**Thieulin G. Vuillaume R. (1967).** Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris. pp. 71-73.

-V-

**Veisseyre R., (1975).** Technologie du lait. 3ème édition, Paris, La maison rustique, 714 p.

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

**Vierling E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit. 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine. p.11.

-Y-

**Yakhlef H. (1989).** La production extensive du lait en Algérie. In : Tisserand J.-L. (ed.). *Le lait dans la région méditerranéenne*. Paris : CIHEAM,. p. 135-139. (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 6). Le Lait dans la Région Méditerranéenne, 1988/10/25-27, Rabat (Morocco).  
<http://om.ciheam.org/om/pdf/a06/CI000475.pdf> .

**Yakhlef H. (2012) .** La production extensive du lait en Algérie article.

-W-

**Wang HK, Li AD, Liu FF, Qi W. (2011).** Determination of an economical medium for growth of *Clostridium butyricum* TK2 using orthogonal test. *Afr J Microbiol Res.*;5:1773–1777.



## *Référence bibliographique*

---

**Wilkens E, Ringel AK, Hortig D, Willke T, Vorlop KD. (2011)**High-level production of 1,3-propanediol from crude glycerol by *Clostridium butyricum* AKR102a. Appl Microbiol Biotechnol.;5:232–230.-(Bahl et Dürre, 2001 ).

-Z-

**Zhang SB, Cui YL, Wu SE, Li D, Wan FC (2002)** Inhibitory effect of *Clostridium butyricum* (CB) on bacteria. Zhongguo Xingyao Zazhi 11:322-324.

## ANNEXES 1

**VIANDE FOIE SULFITE FER/GELOSE 356-9654 355-4777 355-4770 / 355-4794 .**

DOMAINE D'APPLICATION Milieu gélosé pour la recherche et le dénombrement des **spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices dans les produits alimentaires** et les eaux.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S) EAUX

- ISO/DIS 6461-2 (Juin 2005) : Qualité de l'eau -Recherche et dénombrement des Clostridium perfringens

- Part 2 : Méthode par filtration sur membrane (Révision ISO 6461-2:1986)

- NF EN 26461-2 (Juillet 1993) : Qualité de 'eau - Recherche et Dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito - réducteurs (Clostridia)

- Partie 2 : Méthode par filtration sur membrane • NF T90-415 (Octobre 1985):

Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et des Clostridium sulfito-réducteurs

- Méthode générale par incorporation en gélose et en tubes profonds • NF T90-461/A2(Mai 2007) : Qualité de l'eau

- Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture

PRINCIPE Le principe du milieu Viande-Foie Sulfite Fer repose sur l'aptitude des bactéries anaérobies sulfito-réductrices à réduire les sulfites d'ammonium en sulfures de fer, responsable de la coloration noire des colonies, en anaérobiose à 37 °C.L'incubation à 46°C permet de cultiver préférentiellement Clostridium perfringens.

PRESENTATION • Prêt à l'emploi - milieu complet 100 ml x 6 flacons code 355-4770 20 ml x 25 tubes code 355-4777 7,5 ml x 25 tubes code 355-4794

- Déshydraté 500 g (complet) code 356-9654

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : + 2 - 8°C • Déshydraté : +15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec

- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement

FORMULE THEORIQUE

Base viande foie 30 g

Glucose 2 g Amidon 2 g

Agar 11 g Sulfite de sodium 2,5 g

Sels de fer 0,5 g

Eau distillée 1000 ml

pH (25°C) avant autoclavage =  $7,7 \pm 0,1$

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE Toujours agiter avant chaque utilisation. Dissoudre 46,5 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée.

Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à complète dissolution.

Répartir le milieu à raison de 100 ml par flacon ou 20 ml ou 7,5 ml par tube et stériliser à l'autoclave à  $121 \pm 3^\circ\text{C}$  pendant 15 minutes.

Taux de reconstitution : 45 g/l 500 g de poudre permettent de reconstituer approximativement 11,1 litres de milieu

## ANNEXE2

FORMULE-TYPE du milieu complet **TSC (base)** (avec D-cyclosérine)(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu : - Tryptone.....	15,0 g –
Peptone papainique de soja .....	5,0 g
- Extrait autolytique de levure .....	5,0 g
- Métabisulfite de sodium .....	1,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
- D-cyclosérine .....	0,4 g
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,6 \pm 0,2$ .

Milieu de base + D-cyclosérine + jaune d'oeuf Pour mettre en évidence la lécithinase produite par *Clostridium perfringens*, le milieu peut être additionné d'une émulsion stérile de jaune d'oeuf (BS066) à raison de 8 mL pour 100 mL de milieu de base fondu, ramené à 44-47°C.

UTILISATION EN BOITES ø 55 mm (Milieu de base sans D-cyclosérine)

**Pour le contrôle des eaux par la méthode de filtration sur membrane** - Couler une première couche d'environ 2 mm de milieu dans les boîtes. - Laisser solidifier sur une surface froide. - Chauffer l'inoculum afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores. - Filtrer la quantité d'eau appropriée. - Déposer la membrane dans la boîte, face supérieure tournée vers le bas, en s'assurant qu'il ne reste pas de bulles d'air emprisonnées sous le filtre. - Couler une deuxième couche de gélose dans les plus brefs délais, de façon à porter l'épaisseur totale de gélose à 5 mm environ. - Laisser solidifier sur une surface froide. - Incuber en conditions anaérobies pendant 20 et 44 heures à 37°C.

Dénombrer les colonies entourées d'un halo noir. Lorsqu'elles sont cultivées en présence de jaune d'oeuf, les colonies de *Clostridium perfringens* sont entourées d'une auréole opaque due à la production de lécithinase.

# ANNEXE 3

## Tableau d'identification

TABLEAU D'IDENTIFICATION / IDENTIFICATION TABLE / PROZENTABELLE / TABLA DE IDENTIFICACION /  
 TABELLA DI IDENTIFICAZIONE / QUADRO DE IDENTIFICACAO / ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΡΟΜΙΣΗΣ /  
 IDENTIFIKATIONSTABEL / TABELA IDENTYFIKACYJNA  
 IDENTIFIERINGSTABELL / IDENTIFIKATIONSTABELL / TABELA IDENTYFIKACYJNA

% de reações positivas após 24-48 h a 36°C ± 2°C / % of reactions positive after 24-48 hrs at 36°C ± 2°C /  
 % de reacciones positivas después de 24-48 h a 36°C ± 2°C / % de reações positivas após 24-48 horas a 36°C ± 2°C /  
 % di reazioni positive dopo 24-48 ore a 36°C ± 2°C / % de reações positivas após 24-48 horas a 36°C ± 2°C /  
 % de reazioni positive dopo 24-48 ore a 36°C ± 2°C / % positive reaktioner efter 24-48 timmar vid 36°C ± 2°C /  
 % de reações positivas após 24-48 horas a 36°C ± 2°C / % positive reaktioner efter 24-48 timmar vid 36°C ± 2°C /  
 % positive reaktioner efter 24-48 timer ved 36°C ± 2°C / % pozytywnych reakcji po 24-48 godzinach w 36°C ± 2°C

API 20 A	V3.0	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	CFI	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT	SPOR	GRAM	COC
<i>Actinomyces israeli</i>		0	0	99	99	80	99	99	99	99	97	0	30	25	80	80	25	82	40	45	90	1	0	100	0
<i>Actino. neyrovadantinolicus</i>		0	0	99	1	72	98	93	31	62	37	5	5	59	0	0	0	10	0	15	0	2	0	100	0
<i>Actinomyces naeslundii</i>		0	5	99	26	72	96	94	55	0	0	16	21	47	50	20	5	60	16	0	46	11	0	100	0
<i>Actinomyces viscosus 1</i>		0	0	99	0	65	99	99	22	0	0	7	1	60	17	95	0	99	0	0	5	90	0	100	0
<i>Actinomyces viscosus 2</i>		0	0	60	0	0	60	0	5	0	0	0	0	0	60	0	0	0	0	0	0	80	0	100	0
<i>Bacteroides caccae</i>		0	0	100	0	100	100	75	0	100	100	0	90	10	0	100	25	100	0	60	70	0	0	0	0
<i>Bacteroides distasonis</i>		0	0	99	0	99	99	93	73	86	27	1	80	4	60	95	65	98	1	80	70	77	0	0	0
<i>Bacteroides fragilis</i>		0	0	99	0	99	99	99	0	99	0	1	99	1	41	99	0	99	0	2	0	96	0	0	1
<i>Bac. ovatus/thetaoalomicron</i>		80	0	99	7	99	99	99	28	99	99	3	95	1	65	99	23	99	2	99	83	65	0	0	0
<i>Bacteroides stercoris/eggerthii</i>		99	0	99	1	92	25	90	10	75	70	10	65	0	30	99	0	30	0	65	0	50	0	0	0
<i>Bacteroides uniformis</i>		91	0	99	0	99	99	95	97	99	95	3	99	0	99	99	1	98	0	42	1	9	0	0	0
<i>Bacteroides ureolyticus</i>		0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bacteroides vulgatus</i>		0	0	99	0	99	98	98	0	99	92	5	23	0	8	99	0	94	0	77	3	2	0	0	1
<i>Bifidobacterium spp 1</i>		0	0	99	30	99	99	99	70	60	75	2	40	0	40	70	20	91	25	0	35	0	0	99	0
<i>Bifidobacterium spp 2</i>		0	0	99	99	99	99	99	99	90	80	1	75	45	99	99	85	100	75	50	99	0	0	99	0
<i>Clostridium barati</i>		0	0	99	8	75	99	80	99	0	0	0	75	54	99	99	0	0	8	8	8	0	99	99	0
<i>Clostridium beijerinckii/butylicum</i>		1	0	99	47	95	99	98	97	97	80	10	76	54	95	95	20	80	31	25	90	0	0	98	99
<i>Clostridium bifermians</i>		90	0	75	0	0	0	0	70	10	0	0	90	6	3	0	50	0	0	4	0	0	0	98	99
<i>Ci. botulinum/isoprogenes</i>		20	0	55	0	0	1	72	0	0	0	99	20	1	0	1	0	0	0	0	40	0	99	99	0
<i>Clostridium cadavers</i>		98	0	87	0	0	6	6	0	0	0	84	0	0	0	40	0	0	1	0	5	0	99	99	0
<i>Clostridium clostridioforme</i>		0	0	90	0	77	99	99	88	91	94	5	75	0	77	99	75	94	1	86	88	25	75	75	0
<i>Clostridium difficile</i>		0	0	99	80	0	0	0	20	5	0	44	30	0	5	66	83	0	5	0	5	0	98	99	0
<i>Clostridium histolyticum</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	90	0
<i>Clostridium innocuum</i>		0	0	99	99	0	46	0	99	5	15	1	45	1	99	99	4	1	0	0	25	0	99	99	0
<i>Clostridium paraputrificum</i>		0	0	99	0	99	92	99	99	0	0	0	99	0	99	99	0	7	7	0	21	0	99	99	1
<i>Clostridium perfringens</i>		0	0	99	2	95	95	99	1	0	0	99	4	54	4	99	0	16	10	0	76	0	84	99	0
<i>Clostridium ramosum</i>		0	0	99	80	99	99	99	99	0	0	0	40	0	99	99	0	60	0	57	94	0	92	75	0
<i>Clostridium septicum</i>		0	0	99	1	99	0	94	94	0	1	75	35	0	76	99	0	0	0	1	84	0	99	99	0
<i>Clostridium sordellii</i>		99	99	95	0	0	0	90	0	0	0	95	0	0	0	4	0	0	4	0	0	0	99	99	0
<i>Clostridium spp</i>		10	1	1	0	0	0	1	0	0	0	90	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	99	0
<i>Clostridium tertium</i>		0	0	99	99	99	99	99	99	70	0	0	35	0	99	99	62	0	0	0	85	0	99	100	0
<i>Eubacterium aerofaciens</i>		0	0	100	0	99	90	90	75	0	0	0	40	0	75	99	0	0	0	0	70	0	0	100	0
<i>Eubacterium lentum</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60	0	100	0
<i>Eubacterium limosum</i>		0	0	100	70	0	0	0	4	1	1	4	4	10	0	4	0	0	0	0	5	0	100	0	0
<i>Fusobacterium mortiferum</i>		0	0	99	0	0	0	70	15	75	5	0	5	25	25	25	75	0	75	0	0	23	3	0	0
<i>Fusobacterium nucleatum</i>		94	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusobacterium varium</i>		70	0	80	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Gemella morbillorum</i>		0	0	100	8	5	90	100	8	0	0	0	5	0	5	100	0	5	5	0	20	0	0	100	99
<i>Lacto. acidophilus/jensenii</i>		0	0	99	3	80	99	96	99	1	0	3	75	8	99	99	5	15	5	3	90	0	0	100	0
<i>Lactobacillus fermentum</i>		0	0	99	0	75	87	75	0	25	25	0	0	10	0	25	0	62	0	0	0	0	0	100	0
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>		80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
<i>Porphyromonas gingivalis</i>		1	0	99	0	99	99	90	1	99	88	1	90	2	5	99	1	99	0	79	80	10	0	0	0
<i>Prevotella bivia</i>		0	0	99	1	99	0	99	0	0	1	50	0	80	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Prevotella intermedia/disiensis</i>		32	0	99	0	0	35	98	0	0	0	70	1	4	1	85	0	19	0	1	1	0	0	0	2
<i>Prevotella melanogenica/oralis</i>		0	0	97	1	97	83	97	31	2	1	20	51	18	53	97	1	89	0	12	4	0	0	0	1
<i>Prevotella oris/buccae</i>		0	0	99	0	99	98	99	99	99	99	8	73	0	99	99	4	99	2	72	0	0	0	0	0
<i>Propionibacterium acnes</i>		67	0	97	20	0	5	0	0	0	0	69	0	97	0	97	0	0	10	0	1	89	0	100	1
<i>Propionibacterium granulosum</i>		0	0	99	41	0	82	31	0	0	0	18	0	99	0	98	25	35	0	4	67	79	0	100	0
<i>Propion. propionicum/lavidum</i>		0	0	92	50	50	73	80	0	0	5	40	0	45	0	50	2	75	0	1	30	30	0	82	0
<i>Peptostrepto asaccharolyticus</i>		93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	98	99
<i>Peptostreptococcus spp</i>		0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	94	100
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>		0	25	87	0	5	0	0	0	0	5	0	5	75	0	75	0	0	0	5	5	99	0	100	100
<i>Streptococcus equisetae</i>		0	0	100	0	22	100	100	100	0	0	0	22	0	33	100	0	0	0	0	66	0	0	100	100
<i>Streptococcus intermedius</i>		0	0	99	20	99	99	99	95	0	0	0	75	0	90	99	6	26	0	0	99	0	0	100	100
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	100

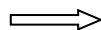
**ANNEXES 4**  
**Analysée physico-chimique de l'eau de procès**



**Figure:** mesure de ph de l'eau



**Figure :** dosage de chlorure.



**Figure:** titrage alcalimétrique.



**Figure :** dosage de TAC.

## Annex 05 Méthode d'analyse microbiologique



**Figure :** méthode de recherche des coliformes (totaux et fécaux) et des *streptocoques* fécaux dans l'eau de procédé.



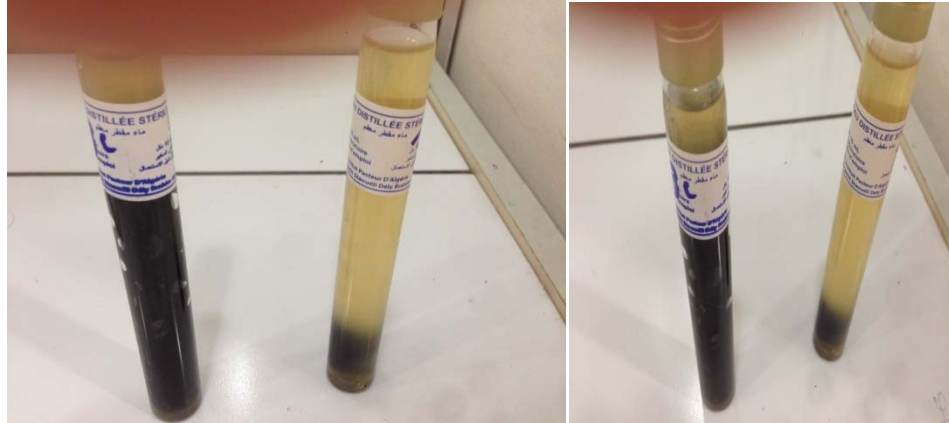
**Figure :** rechercher de *clostridium* sulfito-réducteur dans milieu VF.



**Figure :** Galerie Api Système.



**Figure :** résultats des germes sulfite reducteurs anaérobies



**Figure :** les *clostridium*s sulfito-réducteurs sous forme de colonies, entourés d'un halo noir





### Résumé

Les exigences sanitaires d'importation de la poudre de lait doivent être conformes à la réglementation Algérienne en vigueur . De ce fait une série d'analyses a été effectuée sur la poudre de lait comme matière première, sur le lait reconstitué pasteurisé conditionné en sachet comme produit fini et sur l'eau de procès incorporée dans la reconstitution du lait, afin de déterminer leur qualité physico chimique et bactériologique au niveau de la laiterie de Boudouaou .

Les résultats d'analyse ont montré que sur les prélèvements de poudre de laits et de l'eau de reconstitution effectués, aucune présence de germes d'altération ou de contamination n'a été décelée. En ce qui concerne les résultats physico-chimiques, les prélèvements ont présenté un taux d'humidité, indice de solubilité de la poudre de lait ainsi que la matière grasse (1,5 et 1,7%). dans tous les prélèvements sont conformes à la réglementation Aucune modification organoleptique n'a affecté la poudre de lait et le lait reconstitué, du point de vue goût, odeur et couleur. Par contre une recherche de germes anaérobies thermorésistants sulfite réducteurs a été effectuée, des colonies de contamination possible ont été détectées sans pouvoir identifier le germe causal sur galerie Api système A d'où risque d'altération de fromage en cas d'utilisations de ce lait pour la fabrication fromagère.

**Mots clés :** lait en poudre, qualité physico chimique et bactériologique, germes anaérobies thermorésistants sulfite réducteurs , contamination.

### Abstract

The sanitary requirements for the importation of milk powder must comply with Algerian regulations in force. As a result, a series of analyzes has been carried out on milk powder as a raw material, on pasteurized reconstituted milk packaged in sachets. finished product and on the water incorporated in the reconstitution of the milk, in order to determine their physicochemical and bacteriological quality at the level of the Boudouaou dairy.

The results of analysis showed that on the samples of milk powder and reconstitution water carried out, no presence of germs of alteration or contamination was detected. Regarding the physicochemical results, the samples showed a moisture content, solubility index of the milk powder and the fat (1.5 and 1.7%). in all samples comply with regulations No organoleptic changes affected milk powder and reconstituted milk from the point of view of taste, smell and color. On the other hand, a search for sulphite-reducing thermo-resistant anaerobic germs has been carried out, colonies of possible contamination have been detected without being

able to identify the causal germ on Api gallery A system, hence the risk of deterioration of cheese in the case of uses of this milk for cheese making.

### Keywords

Powder milk ,physicochemical and microbiological quality, anaerobic germs heat resistant sulphito reducer contamination .

### ملخص

يجب أن تمتثل المتطلبات الصحية لاستيراد مسحوق الحليب للوائح الجزائرية المعمول بها ، ونتيجة لذلك ، أجريت سلسلة من التحليلات على مسحوق الحليب كمادة خام ، على الحليب المبستر المعاد تعبئته في أكياس. كمنتج نهائي وعلى الماء المدمج في إعادة تكوين الحليب ، من أجل تحديد جودتها الفيزيائية والكيميائية في الألبان في بوداوا. أظهرت نتائج التحليل أنه على عينات من مسحوق الحليب ومياه إعادة البناء التي أجريت ، لم يتم الكشف عن وجود جراثيم التغيير أو التلوث. فيما يتعلق بالنتائج الفيزيائية والكيميائية ، أظهرت العينات وجود محتوى رطوبة ، مؤشر للذوبان في مسحوق الحليب والدهون (1.5 و 1.7 %). في جميع العينات تتوافق مع اللوائح لا توجد تغييرات الحسية تتأثر مسحوق الحليب والحليب المعاد تشكيلها من وجهة نظر الذوق والرائحة واللون. من ناحية أخرى ، تم إجراء بحث عن الجراثيم اللاهوائية المقاومة للتقليل من الكبريتات ، وتم اكتشاف مستعمرات التلوث المحتمل دون أن تكون قادرة على تحديد الجراثيم السببية في نظام Api gallery A ، وبالتالي خطر تدهور الجبن في حالة استخدامات هذا الحليب صنع الجبن.

### الكلمات الرئيسية

الحليب المجفف ، الجودة الفيزيائية والكيميائية ، الجراثيم اللاهوائية مخفضات الكبريتات المقاومة للحرارة ، التلوث .