

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

UNIVERSITE DE JIJEL
FACULTE DES SCIENCES

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme des études supérieures en
biologie (D.E.S)

DEPARTEMENT : BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE

Option : Microbiologie

THEME
ETUDE MICROBIOLOGIQUE
ET PHYSICO CHIMIQUE
DU LAIT DE VACHE :CRU ET
PASTEURISE
(LAITERIE « IGILAIT »)

Membre de jury :

Président :

Mr :M.Alyane

Examineur :

Mr : T.Idoui

Encadreur :

M^{elle} : L . BEN FRIDJA

Présenté par:

Bouanika chafia

Bouldjenouh fattouma

Labiod farida



Promotion 2004

Remerciement

*Nous tenons à remercier particulièrement
Melle L. Benfridja, pour nous avoir inspirée ce travail, et lui
exprime notre reconnaissance et notre profond respect.*

Nous tenons à remercier également :

*Mr M. Alyane, qui nous a fait l'honneur de présider le jury.
Qu'il trouve ici, notre profonde reconnaissanc.*

Mr T. Idoui , pour avoir accepter de juger notre travail.

*Nous tenons aussi à remercier l'équipe du laboratoire de
biologie, et tous les enseignants de la faculté des science pour
le savoir qu'ils nous ont prodigués.*

*Enfin nous voudrions remercier Mr S. Benfridja chef de
service de la prévention et Mr R. Chihoub directeur de la
laiterie « IGILAIT ».*

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I- Notion de lait	3
I-1- Définition du lait.....	3
I-2- Différents types de lait.....	3
I-2-1-Lait cru	3
I-2-2-Lait pasteurisé.....	3
I-2-3-Lait stérilisé	4
I-2-4-Lait entier	5
I-2-5-lait aromatisé.....	5
I-2-6-lait concentré.....	5
I-2-7-Lait en poudre	5
I-3-Composition et caractères physico-chimiques du lait.....	6
I-3-1-Composition moyenne et valeur énergétique	6
I-3-1-1-Matières azotées.....	6
I-3-1-2-Matières grasses.....	7
I-3-1-3-Glucides.....	8
I-3-1-4-Minéraux.....	9
I-3-1-5-Oligo-éléments.....	9
I-3-1-6-Vitamines	11
I-3-1-7-Enzymes	12
I-3-1-8-Hormones	12
I-3-1-9-Acides organiques	12
I-3-1-10-Substances indésirables	13
I-3-1-11-Eau	13
I-3-2-Caractères physico-chimiques	13
I-3-2-1-Aspect.....	14
I-3-2-2-Densité.....	14
I-3-2-3-Acidité.....	15
I-3-2-4-pH.....	15
I-4-Facteurs influençant la composition du lait.....	15
I-4-1-Fluctuations physiologiques intra-individuelles	15

I-4-2-Variabilité interindividuelle.....	16
I-4-3-Variabilité spatio-temporelle.....	16
I-5-Qualités du lait	16
I-5-1-Qualités organoleptiques.....	17
I-5-2-Qualités nutritionnelles.....	17
I-5-3-Qualités bactériologiques.....	17
I-5-4-Qualités chimiques.....	17
I-6-Microflore du lait	18
I-6-1-Bactéries.....	18
I-6-2-Levures.....	19
I-6-3-Moisissures.....	19
I-6-4-Virus.....	19
I-7-Action de la flore du lait	19
I-7-1-Aspect sanitaire.....	19
I-7-2-Aspect qualitatif.....	20
I-7-2-1-Surissement et acidification par coagulation.....	20
I-7-2-2-Protéolyse.....	21
I-7-2-3-Filage.....	21
I-7-2-4- Autres dégradation.....	21
I-8-Technologie des produit laitiers	22

Chapitre II :Matériel et méthodes

II- Matériel et méthodes	25
II-1-Matériel	25
II-1-1-Lait.....	25
II-1-2-Milieus de culture.....	25
II-1-3-Produits chimiques.....	25
II-1-4-Autre matériel.....	25
II-2-Méthodes	26
II-2-1-prélèvement et échantillonnage.....	26
II-2-2-Caractères physiques.....	26
II-2-3-caractères physico-chimiques.....	28
II-2-3-1-pH.....	28
II-2-3-2-Acidité lactique.....	28

II-2-3-3-Stabilité à l'ébullition.....	28
II-2-3-4-Mesure de l'activité réductase.....	29
II-2-3-5-Détermination de la matière sèche.....	29
II-2-3-6-Détermination de la matière minérale.....	30
II-2-3-7- Détermination de la matière organique	30
II-2-4-Examen microscopique.....	30
II-2-4-1-Formule leucocytaire.....	31
II-2-4-2-Flore bactérienne au Gram	31
II-2-5-Analyse microbiologique	32
II-2-5-1-Préparation des échantillons.....	32
II-2-5-2-Préparation des dilutions.....	32
II-2-5-3-Recherche et dénombrement des flores.....	33
a- Dénombrement de la flore aérobie mésophile	33
b- Dénombrement des coliformes totaux	33
c- Dénombrement des coliformes fécaux	34
d- Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	34
e- Recherche de <i>Salmonella</i>	34
f- Recherche et dénombrement de streptocoques fécaux.....	35
g- Dénombrement des levures et moisissures	35

Chapitre III- Résultats et discussion

III-1-Characterès physique	37
III-2-Characterès physico-chimiques	38
III-2-1-Evolution du pH.....	38
III-2-2-Evolution de l'acidité	39
III-2-3-Test de stabilité à l'ébullition et activité réductase	41
III-2-4-Evolution de la matière sèche, minérale et organique	42
III-3-Examen microscopique	43
III-3-1-Formule leucocytaire.....	43
III-3-2-Coloration de Gram.....	44
III-4-Analyse microbiologique	45
III-4-1-Flore totale aérobie mésophile	46
III-4-2-Coliformes totaux	47
III-4-3-Coliformes fécaux	47

III-4-4- <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Salmonella</i>	48
III-4-5-Streptocoques fécaux.....	48
III-4-6-Levures et moisissures.....	49
Conclusion	50

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

Abs	: Absence
°C	: Degré Celsius
CT	: Coliformes totaux
CTT	: Coliformes thermotolerants
°D	: Degré dornic
FAO	: Food Agriculture Organisation
FTAM	: Flore totale aérobie mésophile
G/ml	: Germes par millilitre
g/ml	: Gramme par millilitre
G.T/ml	: Germes totaux par millilitre
h	: Heure
Kcal/litre	: kilocalorie par litre
MM	: Matière minérale
MO	: Matière organique
MS	: matière sèche
mg/l	: Milligramme par litre
ng/l	: Nanogramme par litre
pH	: Potentiel hydrogène
S	: Semaine
SFB	: Bouillon Sellinite à l'azide de sodium
UHT	: Ultra haute température
µg/l	: Microgramme par litre

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition moyenne et distribution des protéines de lait de vache..	7
Tableau 2 : Constituants lipidiques du lait de vache et localisation dans la fraction physico-chimique.....	8
Tableau 3 : Les principaux glucides du lait de vache	8
Tableau 4 : Composition minérale du lait.....	10
Tableau 5 : Composition en vitamines du lait de vache	11
Tableau 6 : Composition en hormones du lait de vache.....	12
Tableau 7 : Composition en acides organiques du lait de vache.....	13
Tableau 8 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache	14
Tableau 9 : Technologie des principaux produits laitiers	23
Tableau 10 : Caractères physiques du lait.....	27
Tableau 11 : Mesure de l'activité réductase.....	29
Tableau 12 : Formule leucocytaire.....	31
Tableau 13 : Interprétation des résultats de la coloration de Gram	32
Tableau 14 : Caractères physiques du lait cru et pasteurisé.....	37
Tableau 15 : Evolution du pH du lait cru et pasteurisé	38
Tableau 16 : Evolution de l'acidité du lait cru et pasteurisé.....	40
Tableau 17 : Test de stabilité à l'ébullition et activité réductase	41
Tableau 18 : Evolution de la matière sèche, minérale et organique des laits analysés en %	42
Tableau 19 : Résultats de l'examen microscopique (coloration simple)	43
Tableau 20 : Résultats de l'examen microscopique (coloration de Gram).....	44
Tableau 21 : Résultats de l'analyse microbiologique.....	45

Liste des figures

Figure 1 : Evolution du pH des deux laits en fonction du temps.....	38
Figure 2 : Evolution de l'acidité des deux laits en fonction du temps.....	40
Figure 3 : Evolution de la matière sèche, minérale et organique.....	43
Figure 4 : Evolution du nombre de la flore totale des deux laits.....	46
Figure 5 : Evolution du nombre des coliformes totaux	47
Figure 6 : Evolution du nombre des coliformes fécaux.....	48
Figure 7 : Evolution du nombre des levures et moisissures.....	49

Introduction

INTRODUCTION

La place du lait en nutrition humaine n'est pas le fruit du hasard. En effet, cet aliment très riche en éléments nutritifs constitue un produit de base.

La vache assure de loin la plus grande part de la production mondiale (90%), même en pays tropicaux (70%) (FAO, 1990).

Ce lait et de tous le plus connu, et les données qui le caractérisent sont sans doute les plus exactes. Il est logiquement aussi le produit laitier le plus consommé et étudié en nutrition humaine.

Malgré de nombreux travaux consacrés au lait de vache, les caractéristiques liées à sa nature biologique à savoir variabilité, complexité, hétérogénéité et altérabilité, passionnent toujours les spécialistes.

De ce fait, la salubrité de ce dernier doit être contrôlée à la source. Des critères microbiologiques devraient être établis conformément à certains principes et s'appuyer sur une analyse et des avis scientifiques, et si l'on dispose de données suffisantes sur une analyse des risques à la denrée alimentaire en cause et à l'utilisation qui en est faite.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressé à la qualité microbiologique du lait de vache cru et pasteurisé (laiterie IGLAIT). Néanmoins, une analyse physico-chimique s'est avérée indispensable à la compréhension et à l'interprétation des résultats.

En résumé notre étude comporte trois chapitres :

Une synthèse bibliographique qui permet de saisir les différentes informations concernant le lait de vache : sa composition, sa microflore, ...etc.

Un chapitre matériel et méthodes pour présenter le matériel utilisé et les méthodes microbiologiques et physico-chimiques appliquées.

Enfin les résultats obtenus sont expliqués et interprétés dans le chapitre résultats et discussion.

Synthese

Bibliographique

I- NOTION DE LAIT

Le lait, aliment noble par excellence, est le type d'aliment complet. C'est la base des groupes physiologiques prioritaires : enfants, femmes enceintes et allaitants, vieillards.

I-1- Définition du lait

Depuis 1909, la définition de ce qui est le lait est fixée par le congrès international de la répression des fraudes : C'est le produit intégrale de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de « colostrum ».

En 1924, un décret précise que la dénomination « lait » sans indication de l'espèce, est réservée au lait de vache, dans les autres cas, la dénomination du lait : brebis, chèvre, chamelle..., doit être mentionnée (Anonyme) 381

I-2- Différents types du lait

Le lait destiné à la consommation, se présente sous différentes formes :

I-2-1- Lait cru

Le lait cru est un produit intéressant sur le plan nutritionnel. C'est un produit vivant est fragile, il est uniquement réfrigéré à la ferme et maintenu à une température inférieure à 10°C, il n'a subi aucun traitement thermique et conservé toute la flore microbienne d'origine. Il doit donc être impérativement vendu et consommé dans les quelques jours qui suivent la traite (Tikoudane, 2003).

Ce lait ne doit provenir que d'un cheptel reconnu indemne de tuberculose (étables contrôlés, animaux ne réagissant pas à la tuberculine) et d'exploitation pourvues d'eau naturel potable (Gounelle, 1969).

I-2-2 Lait pasteurisé

Le lait pasteurisé est le lait soumis à un traitement thermique aboutissant à la destruction de la presque totalité de la microflore banale et de la totalité de la microflore pathogène, en s'assurant de ne pas affecter la structure physique du

lait, sa constitution, son équilibre chimique, ses enzymes et ses vitamines (Journal officiel , 1993).

Selon Joffin et Joffin., 1999, pour que le lait soit pasteurisé, il doit être soumis soit :

- à une température de 63°C pendant une durée de 30 minutes.
- à une température de 72°C pendant une durée de 15 à 20 secondes.
- encore instantanément à une température de 95°C pendant quelques secondes.

Pendant toute la durée de l'opération de pasteurisation, la température ne doit s'abaisser au dessous de minimum requis par le procédé utilisé (Journal officiel, 1993).

Le lait pasteurisé contient toujours une flore résiduelle (bactéries lactiques, germes saprophytes variés) dont l'importance est notamment liée à la charge microbienne initiale. Son développement doit être empêché en réfrigérant le lait immédiatement et rapidement après chauffage à une température de + 2°C à +4°C, même à ces températures le lait n'est pas totalement stabilisé en raison de la présence éventuelle de germes psychrotrophes thermorésistants (Anonyme) 1981

Pour conserver au lait pasteurisé son caractère hygiénique, il est indispensable de le soustraire aux récontaminations qui ne manquent pas de se produire au cours de sa distribution en vrac et qui rendent alors nécessaire son ébullition avant consommation. C'est pourquoi, dès sa réfrigération, le lait pasteurisé doit être conditionné en emballage de détail (bouteilles en verre ou en plastique, carton, sachet plastique) (Anonyme).

I-2-3- Lait stérilisé et lait stérilisé UHT

Se sont des laits soumis à la destruction ou l'inhibition totale des enzymes, des micro-organismes et leurs toxines, dont la présence ou la prolifération pourrait altérer le lait ou le rendre impropre à la consommation (Journal officiel, 1993).

Le lait stérilisé est le lait soumis à une température 110°C à 120°C pendant 15 à 20 minutes, ce lait est stérilisé après conditionnement dans un récipient hermétique, étanche aux liquides et aux micro-organismes. Ces processus garantissent une totale destruction des germes. Ce lait peut être conservé 120 jours à la température ambiante (Tikoudane, 2003).

Le lait stérilisé UHT est le lait soumis à une ultra haute température de 140°C pendant 2 secondes. Ce traitement est suffisant pour détruire totalement tous les germes du lait, que se soit pathogène ou non, tout en respectant au mieux le goût et les qualités nutritionnelles de celui-ci. Il se conserve à température ambiante pendant au moins 90 jours (Tikoudane , 2003).

I-2-4- Lait entier

Sa teneur en matière grasse est réglementaire : 36g/l. A la sortie du pis de la vache, le lait est plus ou moins riche en crème : de 30 à plus de 40g/l. Pour obtenir la teneur réglementaire, on utilise une écrémeuse centrifugeuse : la force centrifuge sépare le lait et la crème ; ensuite on mélange à nouveau les deux éléments pour obtenir le dosage voulu (Anonyme).

I-2-5- Lait aromatisé

Le lait aromatisé est un lait pasteurisé, stérilisé ou stérilisé UHT, constitué exclusivement du lait écrémé ou non, sucré ou non additionné de substances aromatiques (Journal officiel, 1993).

I-2-6- Lait concentré

Le procédé de la concentration consiste à éliminer une partie de l'eau du lait par évaporation. Après avoir été standardisé en matières grasses et pasteurisé, le lait est mis sous vide et bouilli. Sa date limite d'utilisation optimale est fixé entre 12 à 18 mois (Anonyme), 1981

I-2-7- Lait en poudre

La fabrication du lait en poudre commence par pasteurisation et concentration, ensuite le lait est pulvérisé dans une enceinte parcourue par un grand courant d'air très chaud, l'évaporation de l'eau est instantanée(Anonyme).

I-3-Composition et caractères physico-chimiques du lait

I-3-1-Composition moyenne et valeur énergétique

Le lait est une émulsion de matières gras dans un sérum aqueux qui contient en suspension des protéines et en solution des glucides, des minéraux et des vitamines, ...etc. Certains de ces composants présentes en quantités sensibles donc plus ou moins facilement dosables, d'autres, au contraire, ne figurent qu'à l'état de trace et sont plus difficilement appréciables. Parmi les premiers citons : la matière grasse, les matières azotées, les matières salines et parmi les seconds : les enzymes, les pigments et les vitamines. Notons que l'eau est l'élément quantitativement le plus important, elle représente environ les 9/10 du lait (BenMohamed, 2001).

Selon le rapport de la FAO, 1998, la teneur énergétique du lait de vache oscille habituellement entre 650 et 720 Kcal/litre, et dépend surtout de la teneur en matière grasse.

I-3-1-1 Matières azotées

Les matières azotées; protides ou protéines du lait constituent un ensemble complexe dont la teneur totale avoisine 35 g/litre, elles sont en général abondantes et variées (FAO, 1998). Les protéines représentent 95%, elles sont en suspension colloïdale ou micellaire dans l'eau (Anonyme, 1981).

Selon Mechekef et al., 2002, les matières azotées non protéiques représentent 5% de l'azote total du lait et se présentent sous forme d'urée, créatine, ammoniac et vitamines.

La composition moyenne et la distribution des protéines sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Composition moyenne et distribution des protéines du lait de vache (Renner, 1983 ⁱⁿ par FAO, 1998)

Protéines	Moyennes absolues (g/litre)	Moyennes relatives (%)
Protides totaux ou matières azotées totales	34	100
Protéines	32	94
Protéines non solubles ou caséine entière	26	82
caséine α	12,0	46
caséine β	9,0	35
caséine k	3,5	13
caséine	15	6
Protéines solubles	6	18
Lactoglobuline	2,7	45
Lactalbumine	1,5	25
Sérum-albumine	0,3	5
Globulines immunes	0,7	12
Protéoses peptones	0,8	13
Substances azotées non protéiques	2	6

I-3-1-2-Matières grasses

Les matières grasses sont des éléments majeurs du lait (tableau.2). Elles sont présentées sous forme d'une émulsion de globule gras de 1 à 8 μm de diamètre (Anonyme, 1981) et elles ont une double origine : d'une part elles proviennent de la synthèse au niveau de la mamelle d'acide gras saturé à courte chaîne (jusqu'à 16 atomes de carbone), d'autre part du simple passage d'acide gras à longue chaîne (18 atomes de carbone et plus) (Ikhlef, 2001).

Tableau 2 : Constituants lipidiques du lait de vache et localisation dans les fractions physico-chimiques (g/100 g de matière grasse)
(Renner, 1983 et FAO, 1998)

Constituants lipidiques	Proportions	Localisation,
Triglycérides	96-98	Globule gras
Diglycérides	0,3-1,6	Globule gras
Monoglycérides	0,0-0,1	Globule gras
Phospholipides	0,2-1,0	Membrane du globule gras et lactosérum
Cérébrosides	0,0-0,08	Membrane du globule gras
Stérois	0,2-0,4	Globule gras
Acides gras libres	0,1 -0,4	Membrane du globule gras et lactosérum
Esters du cholestérol	Traces	Membrane du globule gras
Vitamines	0,1-0,2	Globule gras

I-3-1-3-Glucides

Le sucre principale du lait de vache est le lactose, les autres sucres sont présents seulement à l'état de trace (tableau 3). Il est aussi le composant majeur de la matière sèche totale du lait, ça valeur moyenne varie entre 40 et 50 g/litre de lait (Tikoudane, 2003). Le lactose joue un rôle nutritionnel particulier et intervient également comme élément de fermentiscibilité. De part sa fonction aldéhyde, il peut réagir avec diverses substances azotées (FAO, 1998).

Tableau 3 : Les principaux glucides du lait de vache (Tikoudane, 2003)

Principaux glucides	Constituants
- Glucides neutres	- Lactose (composé majeur), glucose 70 mg/l et galactose 20mg/l.
- Glucides azotés	- N-acetyl –glucosamine (traces)
- Glucides azotés acides	- Acide N-acetyl neuraminique (traces)

I-3-1-4- Minéraux

Les minéraux sont présents dans le lait (7.3 g/l environ) soit en solution dans la fraction soluble soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles, les autres (calcium, phosphore, magnésium, soufre) existent dans les deux fractions (FAO, 1998).

I-3-1-5- Oligo-éléments

La présence des oligo-éléments dans le lait a été mise en évidence grâce à l'amélioration sensible des techniques analytiques. Leur teneur varie fortement, mais, au delà de certaines limites, elles sont l'indice d'une contamination du lait ; les oligo-éléments à dose trop élevée (pollution par exemple) présentent un caractère toxique et/ou nuisible pour la santé. D'une manière générale, le lait constitue pour l'homme une mauvaise source d'oligo-éléments (FAO, 1998). La composition minérale du lait est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Composition minérale du lait (Anonyme, 1981)

Macroéléments	Concentration (g/l)
Potassium	1.5
Sodium	0.52
Calcium	1.25
Magnésium	0.12
phosphore	0.95
Chlore	1.1
Soufre	0.35
Acide citrique	1.75
Gaz carbonique	0.2
Micro-éléments (mg/l)	
Zinc	2-5
Silicium	1.5-7
Aluminium	0.5-1
Fer	0.2-0.5
Fluor	0.1-0.2
Brome	0.1-0.2
Cuivre	0.02-0.15
Molybdène	0.05-0.08
Plomb	0.04-0.08
Manganèse	0.03-0.05
Arsenic	0.03-0.05
Iode	0.015-0.05
Sélénium	0.01-0.05
Chrome	0.01-0.02
Cobalt	0.0005-0.0001

I-3-1-6- Vitamines

Le lait contient, en concentration relativement élevée une grande variété de vitamines ou de provitamines, aussi bien liposolubles (A, D, E) qu'hydrosolubles (groupe B, C) (tableau.5).

Le lait est une source alimentaire importante de vitamine, ce qui justifie son emploi pour l'alimentation humaine, notamment chez les jeunes et les vieillards. Les traitements industriels et les conditions de stockage peuvent réduire sa valeur vitaminique (Anonyme, 1981).

Tableau 5 : Composition en vitamine du lait de vache (mg/l)
Renner, 1983 et 1985 in FAO, 1998

Vitamines	Moyennes
Vitamines hydrosolubles	
B. (thiamine)	0,42
B2 (riboflavine)	1,72
B6 (pyridoxine)	0,48
B12 (cobalamine)	0,0045
Acide nicotinique	0,92
Acide folique	0,053
Acide pantothénique	3,6
Inositol	1 60
Biotine	0,036
Choline	1 70
C (acide ascorbique)	8
Vitamines liposolubles	
A	0,37
β -carotène	0,21
D (cholécalférol)	0,0008
E (tocophérol)	1, 1
K	0,03

I-3-1-7- Enzymes

Le lait est un véritable tissu vivant qui contient en faible concentration, de nombreuses enzymes et de nombreux activateurs ou inhibiteurs d'enzymes qui sont sécrétés par les cellules sanguines, les bactéries ou les cellules sécrétrices mammaires (Anonyme, 1981). Certaines sont des facteurs de dégradation comme les protéases qui facilitent l'hydrolyse de la caséine et les lipases ; facteur de rancissement, d'autres possèdent une activité bactéricide ou bactériostatique (FAO, 1998).

I-3-1-8- Hormones

Les hormones sont des substances chimiques spécifiques produites par une glande endocrine. Le lait de vache contient des hormones dont l'activité biologique est connue, mais dont le rôle est beaucoup moins certains. L'activité biologique des hormones naturelles du lait sur l'homme est considérée comme nulle (FAO, 1998).

Tableau 6 : Composition en hormones du lait de vache (FAO, 1998)

Hormones	Teneur
Œstrogènes	60-200 ng/l
Progestérones	≈ 13 µg/l
Corticostéroïdes	8-18 µg/l

I-3-1-9- Acides organiques

De nombreux acides organiques ont été détectés dans le lait, les principaux sont résumés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Composition en acides organiques du lait de vache (FAO, 1998)

Acides organiques	Taux moyen
Acide citrique	1.7g/l
Acide neuraminique	150mg/l
Acide nucléique	
Acide ribonucléique	50mg/l
Acide désoxyribonucléique	12mg/l
Nucléotides (dont 80% d'acide orotique)	100mg/l

I-3-1-10- Substances indésirables

La mamelle est un émonctoire et le lait peut contenir des substances ingérées ou inhalées par l'animale sous la forme soit de constituant originale, soit de composés dérivés métabolisés. Les substances étrangères peuvent provenir des aliments (engrais et produit phytosanitaire) de l'environnement (pesticides) ou de traitement prescrit à l'animal (produits pharmaceutiques, antibiotiques, hormones). Ces contaminations posent des problèmes particulières, parce qu'il est souvent difficile d'apprécier les conséquences à long terme sur la santé (FAO, 1998).

I-3-1-11- Eau

La teneur en eau varie de 87 à 90% dans le lait de vache. Cette quantité varie suivant la nourriture donnée aux vaches (Mechekef, 2002).

I-3-2- Caractères physico-chimiques

Le lait contient 87% d'eau, qui est soit sous forme libre (solvant du lactose et des sels minéraux), soit sous forme liée retenue par les substances en émulsion (globules gras) et en suspension (protéines). Ce complexe aqueux possède des caractéristiques physico-chimiques plus ou moins stables, dépendant soit de l'ensemble des constituants comme la densité, soit des substances en solution comme le point de congélation, ou encore des concentrations en ions comme le pH (Anonyme, 1981).

Ces caractères sont résumés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache
Alais, 1984 in FAO, 1998

Constantes	Moyennes	Valeurs extrêmes
Energie (kcal/litre)	701	587-876
(MJ/litre)	2 930	2 454-3 662
Densité du lait entier à 20 °C	1,031	1,028-1,033
Densité du lait écrémé	-	1,036
Densité de la matière grasse	-	0,94-0,96
pH à 20°C	6,6	6,6-6,8
Acidité titrable (°Dornic)	16	15-17
Point de congélation (°C)	-	-0,520-0,550
Point d'ébullition (°C)	-	100,17- 100,15
Potentiel d'oxydoréduction	0,25 V	+0,20-+30
Point de fusion des graisses (°C)	36	26-42

I-3-2-1-Aspect

Le lait est un liquide blanc et opaque. Il est deux fois plus visqueux que l'eau, sa saveur est légèrement sucrée et son odeur peu accentuée. Sa couleur est plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en B-carotène. Il a un goût variable, agréable et douceâtre selon les espèces animales (Tikoudane, 2003).

I-3-2-2-Densité

La densité du lait est une résultante de la densité intrinsèque des constituants. Elle dépend aussi de leur degré d'hydratation notamment en ce qui concerne les protéines. La densité est mesurée à l'aide d'un thermolactodensitomètre (Tikoudane, 2003).

I-3-2-3- Acidité

L'acidité est une notion très importante pour l'industrie laitière, car elle permet d'une part de juger l'état de conservation du lait et d'autre part de connaître l'acidité du lait afin de pouvoir doser sans erreur la quantité de présure à mettre pour obtenir la coagulation dans le temps voulu (Karrada et al., 2002).

I-3-2-4- pH

La mesure du pH renseigne sur l'état de fraîcheur du lait. Si le pH est inférieur à 6,5 le lait est acide, par ailleurs un lait mammitaux, contenant des composés à caractéristiques basiques aura un pH supérieur à 7 (Mechekef et al., 2002).

I-4- Facteurs influençant la composition du lait

La quantité de lait produit par un animal et sa composition subissent des fluctuations d'origine physiologique (nombre de vêlages, époque de lactation, état de santé, activité de l'animal) et des variations d'origine génétique (espèce, race), zootechnique (mode, moment de la traite), alimentaire (foin, fourrage) et enfin, climatique (FAO, 1998).

Les modifications de composition non directement ou indirectement imputables à l'animal, comme les conditions de conservation ou les contaminations postérieures à la traite, sont la conséquence d'altérations du lait (FAO, 1998).

Sa nature biologique, la complexité de sa structure physique et la grande diversité de ses constituants chimiques en font un produit fragile, très facilement altérable. Les dégradations peuvent être dues à des facteurs intrinsèques du lait (leucocytes, enzymes, micro-organismes) ou à des agents extrinsèques (oxygène de l'air, lumière, poussières, contaminants chimiques et, surtout, micro-organismes) (FAO, 1998).

I-4-1-Fluctuations physiologiques intra-individuelles

Chaque vêlage sera suivi d'une période de lactation d'une dizaine de mois, pendant cette période, elle sera capable de produire quotidiennement 10 à 50

litres du lait pour assurer la nutrition du jeune veau. Sa capacité de lactation évolue toute fois dans le temps, par un maximale durant les trois mois, elle décroît ensuite progressivement pour s'épuiser naturellement au bout de dix mois (Tikoudane, 2003)

I-4-2-Variabilité interindividuelle

L'influence propre de chacun des paramètres de variabilité est difficile à identifier. Ce sont les facteurs raciaux, liés aux effets de la sélection, et les facteurs alimentaires qui ont les conséquences les plus importantes sur le lait au plan nutritionnel, technologique et économique. Ainsi, les laits des vaches frisonnes sont moins riches en matières grasses et en protéines que ceux des vaches anglo-normandes. Les Jerseyaises fournissent un lait riche qui rappelle celui des vaches zébus de l'Inde (FAO, 1998).

De même, la vache au pâturage produit plus d'acides longs (stéarique et oléique) et moins de chaînes moyennes (laurique, myristique et palmitique), tandis que la vache en étable produit plus d'acides gras polyinsaturés, surtout parce que son alimentation en contient (FAO, 1998).

I-4-3-Variabilité spatio-temporelle

En raison de l'importance de certaines variations saisonnières notamment, tous les laits n'ont pas la même aptitude à être transformés en fromage ou en beurre (FAO, 1998).

Dans les pays tempérés, la collecte quantitative du lait peut présenter entre l'hiver et l'été des écarts de 1 à 1,5 alors que dans d'autres pays, ces écarts peuvent varier de 1 à 8 ou 10. Dans les pays tropicaux, il est courant de voir une production abondante en saison humide totalement arrêtée en saison sèche (FAO, 1998).

I-5- Qualité du lait

La notion de qualité quant on parle du lait recouvre d'une part ses qualités organoleptiques et nutritionnelles, d'autre part ses qualités hygiéniques (bactériologiques et chimiques).

I-6- Microflore du lait

Le lait cru est habituellement contaminé par une grande variété de micro-organismes d'origine endogène ou externe. Certains peuvent présenter un danger pour la santé des consommateurs de lait cru ou des produits laitiers fabriqués à partir de ce dernier, d'autres sont des agents d'altération, en ce sens ils dégradent les composants du lait en donnant des produits de métabolisme indésirable par acidification, protéolyse, lipolyse, ...etc. Enfin, certains micro-organismes ne paraissent pas avoir l'un ou l'autre de ces deux rôles mais peuvent être considérés comme des indicateurs d'une mauvaise hygiène à la ferme (Anonyme, 1981)

I-6-1- Bactéries

Les bactéries sont les espèces les plus importantes sur le plan technologique et hygiénique, un lait contenant 10^7 G.T/ml et acidifié est difficile à travailler, il est souhaitable qu'il n'abrite pas plus de 5×10^5 G.T/ml à l'arrivée à l'usine (Anonyme, 1981).

La majorité des germes est constituée de souches banales, dont la présence en quantité limitée n'est gênante et est même utile (flore banale), d'autres souches sont nuisibles soit pour la conservation ou la santé (bactérie pathogène) ou la fabrication.

La flore banale est très variée (nombreux microcoques, quelques Staphylocoques, *Corynébactérium*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*), mais contient surtout des bactéries lactiques (*Streptocoques*, *Lactobacilles*) qui sont responsables de la fermentation du lactose en acide lactique (FAO, 1998).

Les bactéries pathogènes qui sont indésirables en tant qu'agent infectieux et imposent la stérilisation, les plus courantes sont des Enterobactéries d'origine fécale (*Salmonella*, *Shigella*), des Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*), mais le lait peut être contaminé par le bacille tuberculeux par des *Brucella*, ...etc (Anonyme, 1981).

D'autres bactéries sont gênantes sur le plan technologique. Les psychrotrophes résistent au froid et risquent de proliférer dans les laits conservés à basse température, provoquant des défauts de viscosité, de couleur ou de goût. Les thermorésistants, qui survivent à 100°C sous forme de spores, résistent à la pasteurisation et provoquent des défauts dans les produits laitiers chauffés. *Clostridium butyricum* (issu principalement à l'ensilage distribué aux vaches) est particulièrement redouté des fabricants de fromage à pâte cuite, car il provoque le gonflement de ceux-ci (Anonyme, 1981).

I-6-2-Levures

Des levures vivent dans le lait, certaines responsables de la fermentation du lactose en alcool, sont utiles dans les laits fermentés (*Saccharomyces fragilis*), d'autres peuvent être à l'origine de défauts : les mousseux (dus à *Torula lactosa*, ou à *T. cremoria*), mauvais goût de la crème (dus à *Torulopsis sphaerica*) ou des laits condensés sucrés (dus à *Torulopsis lactis condensis*) (Anonyme, 1981).

I-6-3- Moisissures

En générale sans importance dans le lait liquide, elles peuvent être utiles ou nuisibles dans les produits fabriqués : certaines sont indispensables à l'affinage des fromages, en surface (*Penicillium caseicolum* du camembert) ou en profondeur (*P. glaucum* du roquefort), d'autres provoquent des mauvais goûts (anonyme, 1981).

I-6-4- Virus

Les virus ont en général une signification hygiénique, mais certains bactériophages, parasites spécifiques des bactéries lactiques sont nuisibles à la culture des levains utilisés en industrie laitière (Anonyme, 1981).

I-7-Action de la flore du lait

I-7-1-Aspect sanitaire

Des germes pathogènes peuvent être présents dans le lait : certains sont capables de se multiplier, d'autres sont simplement transmis, dans ce dernier cas on ne les retrouvera qu'en faible quantité.

La plupart des maladies graves citées ici ne sont toutefois transmises qu'exceptionnellement par le lait (Guiraud et Galzy, 1980) :

La tuberculose due aux *Mycobactérium* du lait est rare, les brucelloses sont plus fréquentes (*Brucella melitensis*). Des fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes peuvent être causées par les *Salmonella*, des toxi-infections ou intoxications par les Staphylocoques. Les cas de dysenterie par *Shigella*, d'intoxication par les *Escherichia coli* enteropathogènes et d'angines ou scarlatine par des *streptococcus pyogènes* sont rares. La transmission du charbon, de la fièvre Q, de maladie virale et exceptionnelle.

Des mycotoxines peuvent aussi être présentes dans les produits laitiers, soit qu'elles proviennent d'animaux ayant consommé des aliments contaminés (aflatoxine M excrétée par *Aspergillus flavus*), soit qu'elles proviennent du développement directe de moisissures (*Penicillium cyclopium*, *P. véridicatum* ou *P. stoloniferum*)dans les poudres de lait.

I-7-2-Aspect qualitatif

De nombreux micro-organismes peuvent se développer abondamment dans le lait en entraînant par leurs actions des modifications de texture et du goût. Ces altérations vont dépendre des conditions de stockage de lait (aération, température) et des traitement qu'il subi (Guiraud et Galzy, 1980) :

I-7-2-1-Surissement et acidification par coagulation

La plupart des micro-organismes du lait sont capables de fermenter le lactose en produisant une acidification qui entraîne la coagulation de la caséine, cette coagulation se produit à partir du pH 4.6, elle est facilitée par le chauffage du lait acidifié.

De 10°C à 37°C, le germe le plus fréquemment impliqué est *Streptococcus lactis* avec plus rarement association avec coliformes, entérocoques, microcoques et lactobacilles.

Au dessus de 37°C, les germes en causes sont *Streptococcus thermophilus*, *streptococcus faecalis* ou *lactobacillus bulgaricus*. L'acidification du lait pasteurisé

est produite par des germes thermophiles ayant résisté ou des sporulés (*Clostridium*, *Bacillus*).

I-7-2-2- Protéolyse

Elle est favorisée par un long stockage à basse température. La protéolyse peut se manifester directement par l'odeur et par une légère alcalinisation du lait. Les germes incriminés sont *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*. Elle peut également se développer sur le caillé issue d'une acidification : elle provoque alors la digestion de se caillé.

I-7-2-3- Filage

Il peut être dû à des agents non bactériens (excès de crème, coagulation de lactalbumine par chauffage), à une action microbienne indirecte (passage de leucocytes et de fibrine dans le lait consécutivement à une mammite) ou à une action microbienne directe. Il est causé alors par les capsule mucilagineuses de bactéries telles que *Alcaligenes viscosus*, *Micrococcus*, *Aérobacter*, *Leuconostoc* qui se développe à faible température.

I-7-2-4- Autres dégradations

Les Pseudomonaceae et les sporulés (*Bacillus cereus*) peuvent dénaturer la matière grasse par oxydation des acides gras insaturés, hydrolyse, ou les deux. D'autres germes, *Pseudomonas fluorescens*, *Alcaligenes faecalis* peuvent provoqué une alcalinisation importante par formation d'urée d'ammoniaque et de carbonate.

Streptococcus lactis var *maltigènes* peut donner au lait un goût de caramel. Enfin des micro-organismes pigmentés peuvent entraîner des colorations parasites : bleu (*Pseudomonas syncyanea*), jaune (*Flavobactérium*), rouge (*Brevibactérium erythrogrenes*).

I-8- Technologie des produits laitiers

Le lait ou certains de ses composants constituent la matière première d'un grand nombre de produits obtenus à l'aide de procédés variés, essentiellement de nature physique et/ou biochimique.

La microbiologie intervient dans la plupart des opérations de transformation et de conservation du lait et des produits laitiers. Elle a un rôle dominant dans la transformation du lait, tout particulièrement en fromagerie. La conservation du lait et des produits qui en sont issus constitue une préoccupation majeure de la production à la consommation. La principale cause d'altération est le développement des micro-organismes; en outre, ceux-ci peuvent entraîner un risque sanitaire important.

Pour assurer la conservation et l'assainissement des produits, la technologie fait appel à divers procédés, essentiellement d'ordre physique, appliqués seuls ou en combinaison. Parmi ces procédés, on peut citer (FAO, 1998):

- La destruction partielle ou totale des micro-organismes, généralement au moyen de la chaleur (pasteurisation, stérilisation). A signaler aussi l'emploi de rayons ionisants ou des antiseptiques, encore qu'il fasse généralement l'objet d'une réglementation stricte, voire d'interdictions.
- L'inhibition de la croissance de la microflore par le froid (réfrigération, congélation).
- La création d'un milieu ou de conditions défavorables au développement microbien: élimination de l'eau libre (concentration, déshydratation), abaissement de la disponibilité de l'eau (salage, sucrage), abaissement du pH (fermentation lactique), conservation en atmosphère modifiée (CO₂).
- La séparation des micro-organismes (centrifugation, microfiltration).

Le tableau 9 résume la technologie des principaux produits laitiers (FAO, 1998).

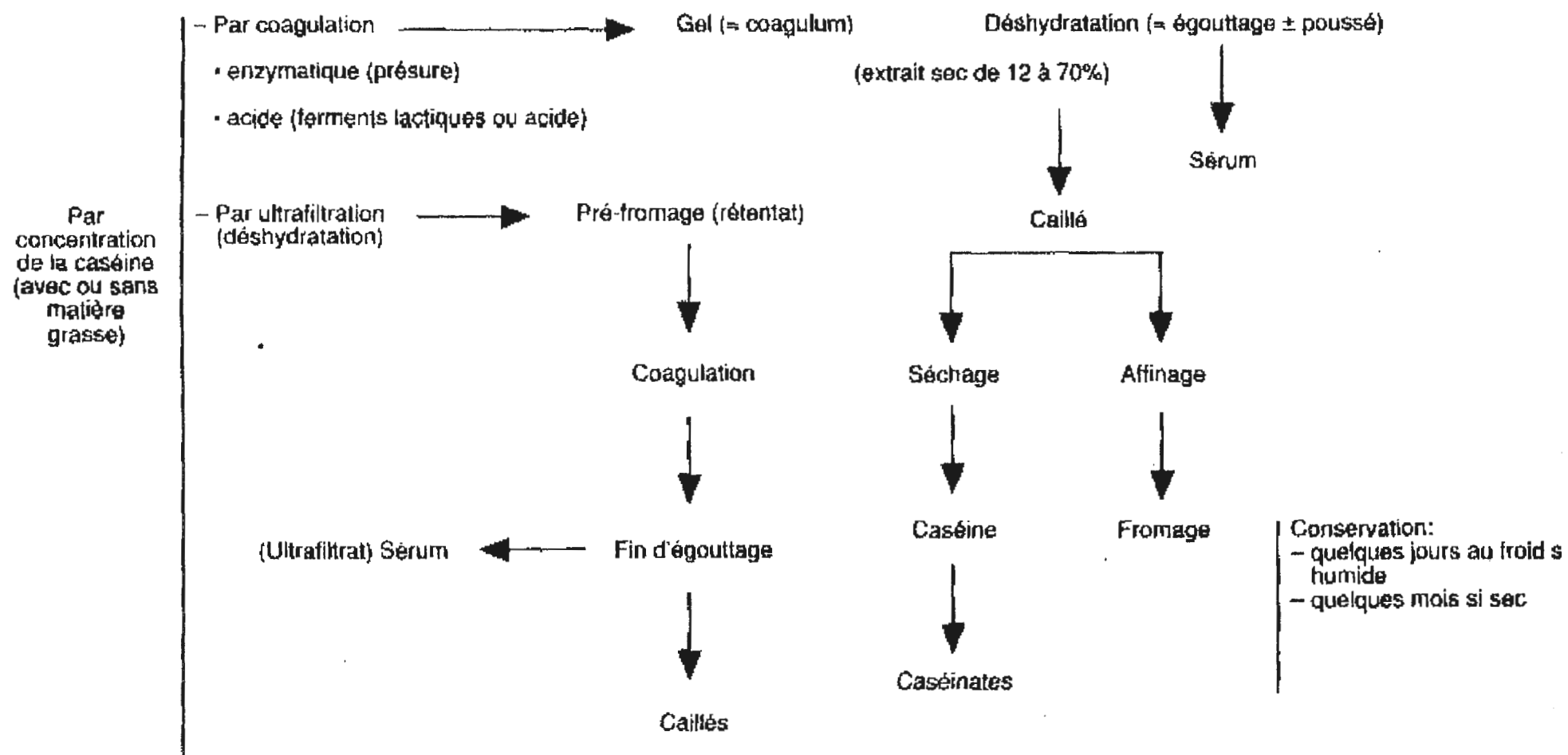
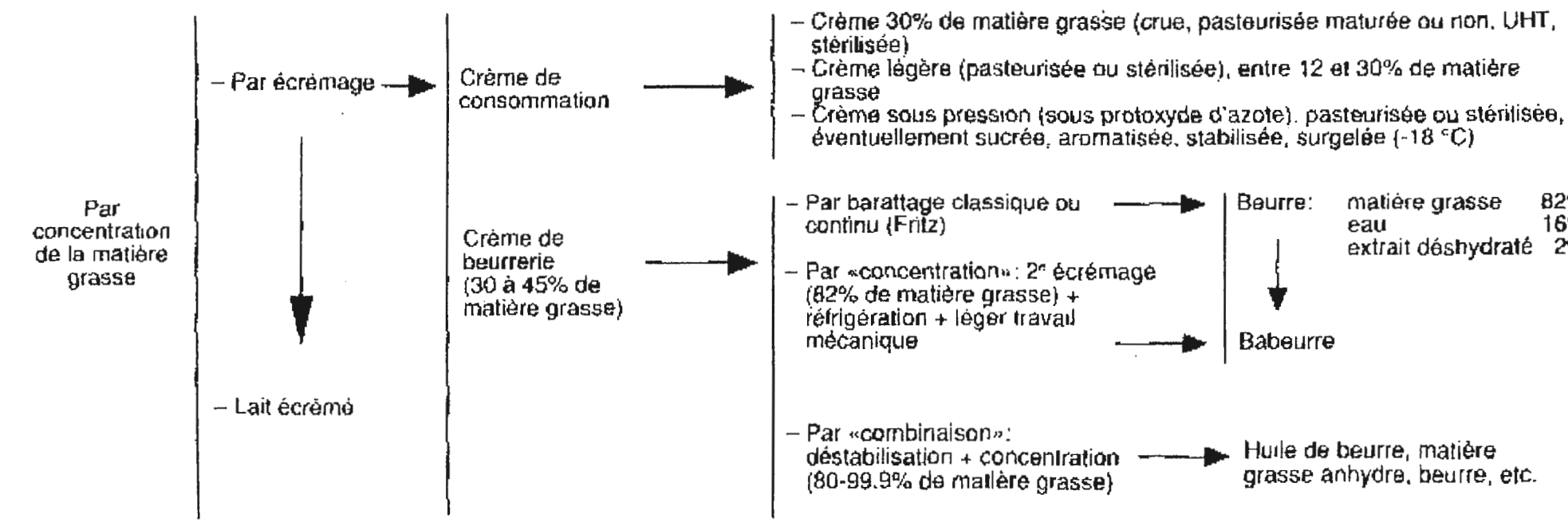
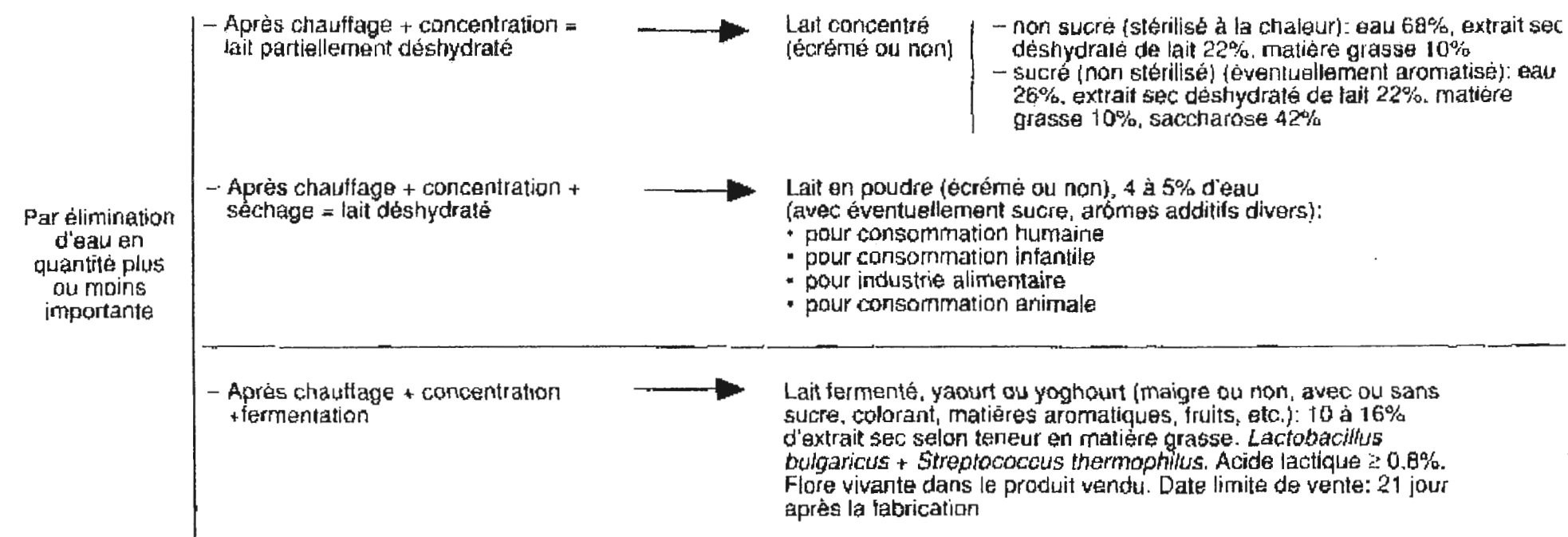


Tableau 9 : technologie des principaux produits laitiers (FAO, 1998).

2
4



Materiel
et
Methodes

II- MATERIEL ET METHODES

II-1-Materiel

II-1-1- Lait

Pour la réalisation de cette étude, nous avons utilisés deux types de lait ; lait cru et pasteurisé provenant de la laiterie **IGILAIT (Tassouste)**.

II-1-2-Milieus de culture

Les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- Gélose nutritive : pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM).
- Gélose au desoxycholate : pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux (CT) et des coliformes thermo-tolérants (CTT).
- Milieu Chapman : pour la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus*.
- Milieu Sabouraud : pour le dénombrement des levures et moisissures.
- Bouillon SFB : pour la recherche de *Salmonella*.
- Bouillon ROTHE : pour le dénombrement des Streptocoques fécaux.

II-1-3-Produits chimiques

- NaOH N/9 (soude dornic).
- Phénol phtaléine.
- Violet de Gentiane.
- Lugol, alcool, fuschine et bleu de méthylène.

II-1-4-Autres matériel

- Microscope (pour examen microscopique).
- Four : 120°C pour la détermination de la matière sèche.
: 500°C pour la détermination de la matière minérale.
- Etuve : 37°C et 44°C pour l'incubation.
- Bain marie : pour faire fondre les géloses (milieux solides).
- Balance, compteur de colonies, ...etc.

II-2-Methodes

II-2-1-Prélèvement et échantillonnage

- Lait cru

Le prélèvement des échantillons est effectué dans des flacons stériles à partir d'une citerne menu d'un agitateur et de façon aseptique.

- Lait pasteurisé

L'échantillon globale est constitué de trois sachets de lait pasteurisé et dont la pasteurisation est effectuée à une température de 93°C à 95°C pendant trois minutes.

Le transport des échantillons est réalisé dans une glacière et les analyses sont réalisées dans les six heures qui suivent le prélèvement.

II-2-2- Caractères physiques du lait

Un examen rapide, avant toute manipulation permet de détecter des anomalies. Pour les deux laits étudiés (cru et pasteurisé), nous avons déterminé leurs caractères physiques. Le tableau 10 résume les tests réalisés et donne à titre indicatif quelques résultats.



Tableau10 : Caractères physiques du lait (Joffin et Joffin, 1999)

Caractère examiné	Caractère normal	Caractère anormal
Couleur	<ul style="list-style-type: none"> - Blanc mat : lait normal - Blanc jaunâtre : lait riche en crème - Blanc bleuâtre : lait écrémé ou fortement mouillé 	<ul style="list-style-type: none"> - Gris – jaunâtre : .lait de mammite .lait de rétention - Bleu –jaune : lait coloré par des substances chimiques (bleu de méthylène dichromate) ou par des pigments bactériens
Odeur	Odeur faible	Odeur de putréfaction
Saveur	Saveur caractéristique et agréable(variable selon le degré de chauffage du lait)	<ul style="list-style-type: none"> - Saveur salée : .lait de rétention .lait de mammite - Goût amère : lait très pollué par des bactéries (quelques fois dû à l'alimentation)
Consistance	Aspect homogène	<ul style="list-style-type: none"> - Aspect grumeleux : lait de mammite - Aspect visqueux ou coagulé : lait très pollué par des bactéries.

II-2-3- Caractères physico-chimiques (Guiraud J. P. 1998)

II-2-3-1- pH

La lecture de la valeur du pH est faite sur un échantillon de 30ml de chaque lait reparti sur trois béchers de 10 ml à l'aide d'un pH mètre.

On plonge l'électrode dans les béchers contenant l'échantillon à analyser et on note la valeur affichée.

II-2-3-2-Acidité lactique

L'acidité est déterminée par dosage titrimétrique de l'acide lactique à l'aide de l'oxyde de sodium (N/9), en présence de la phénolphtaléine comme indicateur.

Pour la détermination de l'acidité lactique de chaque lait on :

- Place 10ml du lait dans un bécher stérile.
- Ajoute 5 gouttes de phénole-phthaléine 1% (dans l'alcool à 95%)
- Titre avec la soude dornic jusqu'au virage au rose (la couleur doit persister pendant 10 seconde).

L'acidité exprimée en degré dornic est donnée par la formule suivante

$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \cdot 10$$

V_{NaOH} : Volume de la soude utilisé pour titrer 10 ml de lait.

II-2-3-3-Stabilité à l'ébullition (Guiraud J. P. 1998)

Le lait peut paraître stable à température ordinaire ou basse mais une précipitation peut se révéler à l'ébullition : le lait « tourne » montrant ainsi une modification due au développement de micro-organismes.

L'échantillon de lait est placé au bain bouillon, puis examiné après refroidissement, le protocole opératoire est le suivant :

On transfère 5ml de chaque lait dans un tube stérile, puis on les place dans un bain d'eau bouillon pendant 10 minutes, après refroidissement sous un courant d'eau froid pendant 2 minute, on observe la présence éventuelle de floculation, précipitation ou la formation d'un coagulum.

II-2-3-4-Mesure de l'activité réductase

La plupart des bactéries modifient, au cours de leurs développements, le potentiel d'oxydoréduction du lait. Cette modification peut être mise en évidence par des indicateurs de potentiel redox. Une de ces substances est le bleu de méthylène, bleu en milieu très oxydant, blanc en milieu réduit.

La durée au bout de laquelle il y a changement de couleur d'un lait additionné de bleu de méthylène permet d'apprécier la charge bactérienne du milieu ; plus il y a de bactéries plus le bleu de méthylène est rapidement réduit.

Dans un tube stérile on place 10ml du lait cru et on ajoute 1ml de bleu de méthylène. En parallèle, on réalise un témoin avec du lait bouilli puis on mélange et on incube à 37°C. L'observation des tubes est faite avant agitation aux temps 15 minutes, 1h, 3h.

Tableau11 : Mesure de l'activité réductase (Guiraud, J.P., 1998)

Temps au bout duquel il y a décoloration	Conclusion
- Avant 15 minutes	- lait très fortement contaminé
- Entre 15 minutes et 1 heure	- lait fortement contaminé
- Entre 1 heure et 3 heures	- lait légèrement contaminé
- Plus de 3 heures	- lait de qualité satisfaisante

II-2-3-5-Détermination de la matière sèche (Guiraud J.P. 1998)

Dans deux creusés bien séchés et préalablement tarés, on met 10ml de lait (dans l'un le lait cru et dans l'autre le lait pasteurisé), ensuite on les place dans le four à 120°C pendant 3 heures, après évaporation on pèse le résidu.

La détermination de la matière sèche est donnée par la formule suivante :

$$MS (\%) = X/Y \cdot 100$$

MS : matière sèche

X : poids de l'échantillon en gramme après étuvage

Y : poids de l'échantillon en gramme avant étuvage

II-2-3-6-Détermination de la matière minérale : (Guivaud J.P. 1998)

Même méthode appliquée à la matière sèche, sauf que l'évaporation est faite à 500°C pendant 4 heures, les résultats sont donnés par la formule suivante :

$$MM (\%) = X/Y \cdot 100$$

MM : matière minérale

X : poids de l'échantillon en gramme après étuvage

Y : poids de l'échantillon en gramme avant étuvage

II-2-3-7-Détermination de la matière organique (Guivaud J.P. 1998)

La matière organique est déterminée par la formule suivante :

$$MO (\%) = MS - MM$$

MO : matière organique

MS : matière sèche

MM : matière minérale

II-2-4- Examens microscopiques (Joffin & Joffin, 1999)

L'examen microscopique apporte de précieuse indication sur la pathologie de la vache et les dangers causés par les bactéries chez le consommateur.

L'examen microscopique permet, selon les techniques de coloration adoptées, d'observer :










- Des cellules eucaryotes provenant des glandes mammaires. Ces cellules peuvent être normales (leucocytes) ou anormales.

- Des cellules procaryotes (bactéries), provenant : de la contamination normale du lait lors de la traite ou du conditionnement, d'une infection de la vache soit une infection des glandes mammaires, soit une infection tuberculeuse.

II-2-4-1-Formule leucocytaire

Sur une lame stérile on a étalé une goutte de lait cru mélangé avec une goutte d'eau distillée stérile comme un frottis sanguin à l'aide d'une lamelle. Après séchage on a coloré au bleu de méthylène pendant 5 minutes, différencié à l'éthanol, lavé à l'eau, séché et examiné à l'immersion.

Tableau 12 : Interprétation des résultats (coloration simple) (Joffin et Joffin, 1998)

Elément normaux	Mononucléaires			Granulocytes(polynucléaires)		
	monocyte	Petite Lymphocyte	grande lymphocyte	Neutrophiles	éosinophyles	bazophyles
10µm						
Elément Anormaux	Mononucléaire Lipophage.			Hématie		
10µm				Vue de face	vue de profil.	
						

II-2-4-2- Flore bactérienne au Gram

La préparation de frottis est réalisée par la même technique utilisée pour la formule leucocytaire. Ensuite, la coloration est faite par la méthode de Gram, en respectant le protocole suivant :

- Violet de Gentiane : 1 minute puis laver à l'eau.
- Lugol : 1 minute puis laver à l'eau.
- Laver à l'alcool puis à l'eau distillée
- Recouvrir à la fuschine pendant 1 minute

- Laver à l'eau distillée et sécher, puis observer au microscope

**Tableau 13 : Interprétation des résultats de la coloration de Gram
(Joffin et Joffin, 1999)**

Flore normale du lait	Flore anormale du lait
Toujours bactéries Gram+ :	- Bactéries G+ en grand nombre ne sont pas normaux
- Coques G+ en diplocoques ou en chaînettes	- Bacille G- (contamination externe)
- Bacille G+ souvent en chaînettes	- De longue chaînettes de coques G+ (de 20 à 100 éléments : mammites streptococcique)

II-2-5- Analyse microbiologique

II-2-5-1-Préparation des échantillons

Lait cru

On mélange et on homogénéise le contenu de trois flacons dans un bécher stérile et de façon aseptique.

Lait pasteurisé

Après lavage et homogénéisation de chaque sachet, on verse leurs contenus dans un bécher stérile et de façon aseptique.

II-2-5-2-Préparation des dilutions

Lait cru

A partir de l'échantillon préparé et homogénéisé, on réalise une série de dilution à l'aide d'une pipette stérile (jusqu'à 10^{-6}). On prend 1ml du lait cru et on l'introduit aseptiquement dans un tube contenant 9ml d'eau distillée stérile ; c'est la dilution 10^{-1} , et on refait la même opération jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-6} .

Mode opératoire :

Dans deux boîtes de pétrie stériles et pour chaque lait :

- on dépose 1 ml de la dilution 10^{-3} pour le lait cru et 1 ml de la solution mère pour le lait pasteurisé
- on fait couler la gélose au désoxycholate fondue et refroidie et on mélange bien l'inoculum
- après solidification de la gélose, on ajoute une deuxième couche de gélose
- enfin en place les boîtes en position renversée à l'étuve à 37°C pendant 24 heures à 48 heures.
- Après incubation on compte les colonies rouges d'au moins 05 mm de diamètre.

c- Dénombrement des coliformes fécaux

Selon les mêmes modalités pour les coliformes totaux sauf que l'ensemencement est fait à partir de la dilution 10^{-2} du lait cru et à partir de la solution mère pour le lait pasteurisé et l'incubation des boîtes est réalisée à 44°C pendant 24 heures à 48 heures.

D- Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus doit être recherché dans la majorité des produits laitiers parce que cette espèce demeure l'agent le plus fréquent provoquant des intoxications alimentaires.

Mode opératoire :

Selon les mêmes modalités pour le dénombrement de la FTAM. Seulement l'ensemencement est réalisé sur milieu Chapman en portant 0,1 ml de la solution mère. On incube à 37°C pendant 24 heures, après incubation on compte les colonies jaunes.

e- Recherche de *SALMONELLA*

Salmonella appartient à la famille des Enterobactériaceae, bien que leur présence dans les produits laitiers, pasteurisé notamment, soit rarissime, il convient de les rechercher sur un grand nombre de produits et plus particulièrement ceux consommés par les sujets à haut risque : nourissants,

jeunes, enfants et vieillards, car les *Salmonella* peuvent provoquer de très grave toxi-infection.

Mode opératoire :

La recherche de *Salmonella* correspond à un enrichissement, voir pré-enrichissement.

Ces opérations sont suivies d'isolement sur divers milieux gélosés sélectifs, la dernière phase et celle de l'identification de *Salmonella* et de leurs serotype, mais notre protocole est résumé dans une seule étape, celle de pré-enrichissement sur bouillon SFB.

- on place 1 ml de la solution mère de chaque lait dans deux tube contenant 10 ml de bouillon SFB et on incube à une température de 37°C pendant 24 heures. La présence d'un trouble dans les tubes indique la présence de *Salmonella*.

F- Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Les streptocoques fécaux sont les streptocoques des matières fécales, se sont des hôtes normaux de l'intestin. Dans certaines conditions, elles sont l'origine de différentes pathologies ; leurs pouvoir pathologique est lié au différentes molécules synthétisées et diffusées dans les milieux ambiants.

Mode opératoire :

Le dénombrement se fait sur milieu liquide, pour chaque lait :

- On ensemence deux tubes double concentration par 1 ml de la solution mère, deux tubes simple concentration par la dilution 10^{-1} et deux tubes simple concentration par la dilution 10^{-2}
- on incube à 37°C pendant 24 heures.

Le nombre des streptocoques est évalué à partir des tubes qui présentent des troubles en se rapportant à la table de Mac- Grady pour calculer l'indice NPP.

g- Dénombrement des levures et moisissures

Les levures et les moisissures prolifèrent sur les milieux acides en particulier dans les locaux, sur les ustensiles et provoquent des accident de fabrication : dégradation du goût, gonflement, mauvais présentation,... etc.

Mode opératoire :

- Deux boîtes de pétris stériles pour chaque lait, contenant le milieu Sabouraud déjà coulé et solidifié sont ensemencées, chacune par 1ml de la dilution 10^{-6} pour le lait cru et par 1ml de la dilution 10^{-3} pour le lait pasteurisé.
- puis on étale par un rateau stérile, ensuite les boîtes sont incubées à 37°C pendant 2 à 5 jours.

Resultats
et
Discussion

III – RESULTATS ET DISCUSSION

III-1- Caractères physiques

Les résultats obtenus pendant les quatre semaines, par l'analyse physique des deux types de lait (pasteurisé, cru) sont illustrés dans le tableau 14.

Tableau 14 : Caractères physiques des deux laits

Semaines	Caractères examinés	Lait cru	Lait pasteurisé
S1	Couleur	Blanc jaunâtre	Blanc jaunâtre
	Odeur	Faible	Faible
	Saveur	Caractéristique	Caractéristique
	Consistance	Homogène	Homogène
S2	Couleur	Blanc jaunâtre	Blanc jaunâtre
	Odeur	Faible	Faible
	Saveur	Caractéristique	Caractéristique
	Consistance	Homogène	Homogène
S3	Couleur	Blanc jaunâtre	Blanc jaunâtre
	Odeur	Faible	Faible
	Saveur	Caractéristique	Caractéristique
	Consistance	Homogène	Homogène
S4	Couleur	Blanc jaunâtre	Blanc jaunâtre
	Odeur	Faible	Faible
	Saveur	Caractéristique	Caractéristique
	Consistance	Homogène	Homogène

Il ressort de ce tableau une stabilité des caractères physiques des deux laits analysés pendant les quatre semaines.

Ainsi la couleur blanc jaunâtre correspond à leur richesse en matière grasse, qui peut être liée, soit à l'alimentation fournie aux vaches, à la race de la vache, son âge, à la date du dernier vêlage mais aussi au stade de lactation.

Par ailleurs, la faible odeur explique l'absence de putréfaction et le respect des conditions d'hygiène.

La saveur était caractéristique et la consistance homogène pour les deux laits analysés, cela peut s'expliquer par l'absence d'altération microbienne.

III-2- Caractères physico-chimiques

III-2-1- Evolution du pH

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau et la figure ci-dessous.

Tableau 15 : Evolution du pH du lait cru et pasteurisé

	PH (lait cru)	PH (lait pasteurisé)
S1	6.19	6.26
S2	6.67	6.57
S3	6.54	6.56
S4	6.68	6.52

S : semaine

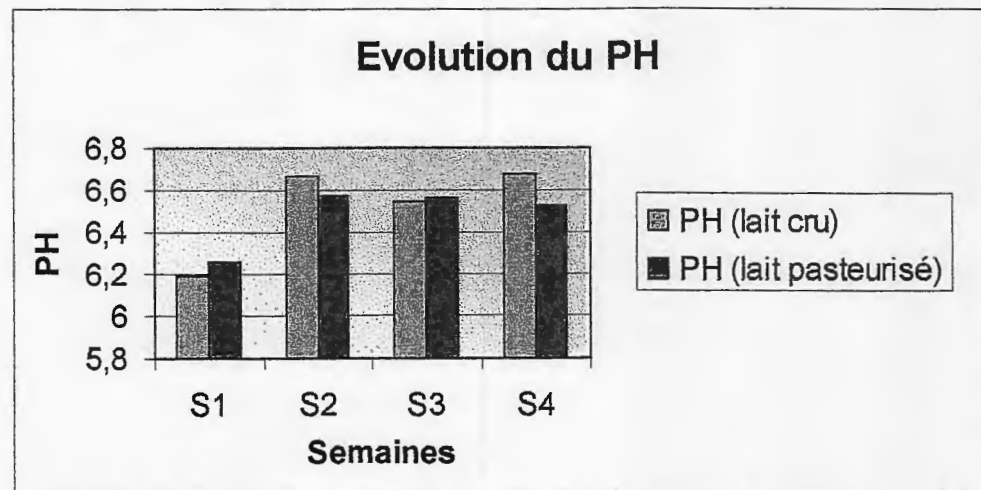


Figure 1 : Evolution du pH des deux laits en fonction du temps

Nous remarquons que les valeurs du pH varient entre **6.19** et **6.68** pour le lait cru et entre **6.26** et **6.57** pour le lait pasteurisé.

Par comparaison de ces valeurs avec la norme réglementaire AFNOR (1980), relative au pH qui est de **6.5** à **6.7**, nous constatons que nos laits sont conformes aux normes pendant la deuxième, troisième et quatrième semaine.

Au cours de la première semaine, les deux laits présentent des valeurs de pH inférieures à la norme (**6.19** pour le lait cru et **6.26** pour le lait pasteurisé). Cette acidité peut se traduire par la présence de bactéries lactiques qui ont pour propriété principale la production d'acide lactique par fermentation du lactose. Des bifidobactéries et des enterobactéries peuvent aussi intervenir dans l'acidification (FAO, 1998).

III-2-2- Evolution de l'acidité

D'après les résultats obtenus (tableau 16 et figure 2), on constate pour le lait cru, une variation de l'acidité entre une valeur minimale **17°D** pendant la quatrième semaine donc une valeur conforme aux normes (16 à 19°D), et une valeur maximale **22°D** non conforme aux normes pendant la première et la deuxième semaine, une quatrième valeur de **20°D** non conforme au norme est enregistrée à la troisième semaine.

Pour le lait pasteurisé, l'acidité varie entre **19°D** et **22°D**, donc pendant les quatre semaines elle était non conforme aux normes (16 à 18°D).

En général l'augmentation marquée à l'acidité des deux laits est liée à la contamination par une flore originale suite à la présence des facteurs favorable à leurs développements.

Tableau 16 : Evolution de l'acidité des deux laits

	Acidité °D (lait cru)	Acidité °D(lait pasteurisé)
S1	22	22
S2	22	20
S3	20	20
S4	17	19

S : semaine

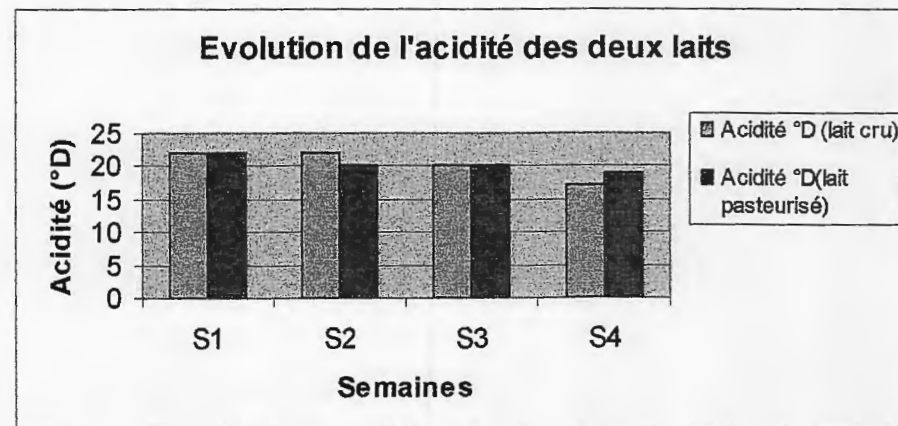


Figure 2 : Evolution de l'acidité des deux laits en fonction du temps

III-2-3- Test de stabilité à l'ébullition et activité réductase

Les résultats des ces deux tests sont résumés dans le tableau qui suit.

Tableau 17 : Test de stabilité à l'ébullition et activité réductase

Semaine	Lait cru		Lait pasteurisé	
	Test de stabilité	Test de réduction	Test de stabilité	Test de réduction
S1	Absence de précipitation ou formation de coagulum	Décoloration entre 1h et 3h	Absence de précipitation ou formation de coagulum	-
S2	Absence de précipitation ou formation de coagulum	Pas de décoloration	Absence de précipitation ou formation de coagulum	-
S3	Absence de précipitation ou formation de coagulum	Pas de décoloration	Absence de précipitation ou formation de coagulum	-
S4	Absence de précipitation ou formation de coagulum	Pas de décoloration	Absence de précipitation ou formation de coagulum	-

S : semaine

D'après ce dernier on remarque une absence de précipitation ou formation de coagulum pendant la période d'étude, donc il n'y a aucune modification due au développement microbien, ce qui explique une stabilité à température ambiante.

Il ressort aussi une réduction de bleu de méthylène entre 1 heures et 3 heures pendant la première semaine ce qui indique que ce lait est légèrement contaminé, par contre au cours des trois semaines qui suivent il n'y a pas

réduction de bleu de méthylène avant 3 heures, ce qui implique que ces laits sont de qualité satisfaisante.

III-2-4-Evolution de la matière sèche, minérale et organique

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 18:Evolution de la matière sèche, minérale et organique des laits analysés en %

	Lait cru			Lait pasteurisé		
	MS %	MM %	MO %	MS %	MM %	MO %
S1	12.89	0.39	12.50	11.77	0.19	11.58
S2	12.19	0.39	11.80	12.07	0.19	11.88
S3	11.19	0.58	11.40	12.02	0.59	11.43
S4	12.70	0.40	12.30	12.00	0.37	11.63

S : semaine

Il ressort de ce tableau une variabilité au niveau des différents paramètres mesurés. Ainsi on remarque que le lait cru contient une matière sèche allant de **11.19% à 12.89%**, alors que le lait pasteurisé contient une matière sèche allant de **11.77% à 12.07%**.

La comparaison des résultats avec la norme qui exige pour le lait cru une matière sèche > 12%, alors que pour le lait pasteurisé >10.7%, nous permet de conclure qu'elles sont conformes aux normes.

Par ailleurs, il apparaît d'après les résultats obtenus que les deux laits analysés (cru et pasteurisé) sont pauvres en matières minérale avec des valeurs allant de **0.39% à 0.58%** pour le lait cru et **0.19% à 0.59%** pour le lait pasteurisé. Il ressort aussi de ce tableau que le lait cru est plus riche en matière minérale.

En ce qui concerne la matière organique, cette dernière varie en fonction de la matière sèche et la matière **minérale** avec des valeurs allant de **11.4% à 12.5%** pour le lait cru et **11.43% à 11.88%** pour le lait pasteurisé.

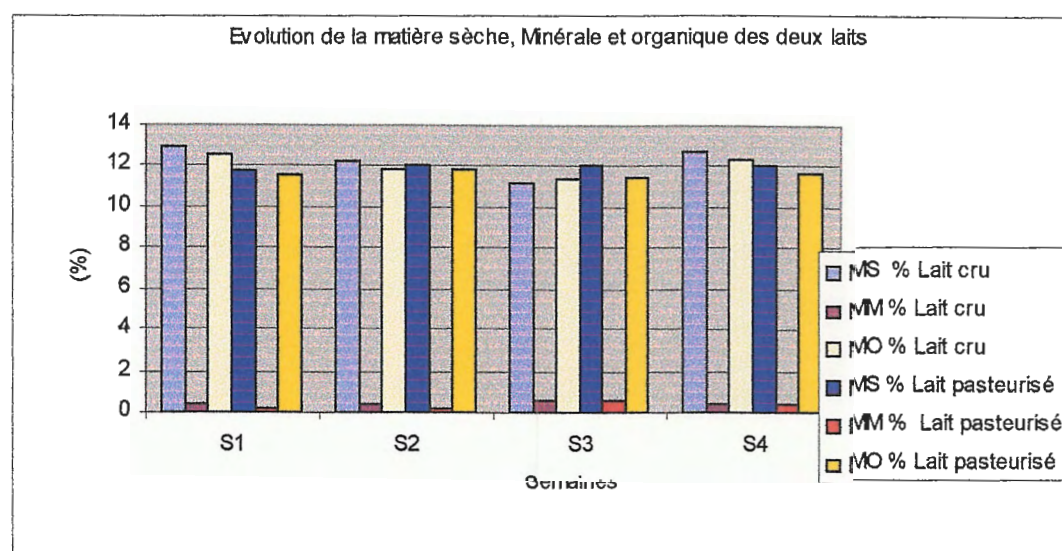


Figure 3: Evolution de la matière sèche, minérale et organique

La figure 3, illustre bien que le lait cru contient plus de matière sèche, de matière organique et par conséquent de matière minérale que le lait pasteurisé.

III-3-Examens microscopique

III- 3-1-Formule leucocytaire

Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau suivant

Tableau 19 : Résultats de l'examen microscopique (coloration simple)

	Lait cru
S1	- Petit lymphocyte
S2	- Petit lymphocyte - Monocyte
S3	- petit lymphocyte - Grand lymphocyte - Monocyte - Neutrophile
S4	- Grand lymphocyte - Monocyte - Eosinophile

S : semaine

D'après les résultats, on note la présence des formes mononucléaires et les formes polynucléaires, parmi les premières formes on distingue : les monocytes, les lymphocytes (petit et grand) et parmi les deuxièmes on distingue : les neutrophiles et les éosinophiles.

La présence de ces cellules peuvent être liée à différents facteurs liés au prélevement (début, fin et moment de la traite) et à l'animale (Surgère, 1993).

III-3-2-Coloration de Gram

Le tableau 20 résume les résultats d'analyse

Tableau 20 : Résultats de l'examen microscopique (coloration de Gram)

	Lait cru	Lait pasteurisé
S1	- coques Gram+ en diplocoques et en chaînette - Bacille Gram+ - Coques Gram-	- Coques Gram+ - Bacilles Gram+ - Coques Gram-
S2	- Coques Gram+ - Bacilles Gram+ - Coques Gram-	- Coques Gram+ - Bacilles Gram+ - Coques Gram-
S3	- Coques Gram+ en chaînette - Bacilles Gram+	- Coques Gram+ en diplocoques
S4	- Coques Gram+ en diplocoques et en chaînette - Bacilles gram+	- Coques Gram+ en diplocoques - Bacilles Gram+

S : semaine

Les résultats obtenus montre la présence des flores au sein des deux types de laits au long de notre étude. Cette flore est caractérisée par la présence de deux formes : coques et bâtonnet, à Gram+ et à Gram-. La présence de la flore à Gram- peut s'expliquer soit par la contamination du lait au cours de la traite, soit par l'eau, l'air, manipulateur ou par les équipements de stockage (Guiraud, 1985)

III-4-Analyse microbiologique

Les résultats de l'analyse microbiologique du lait cru et pasteurisé sont résumés dans le tableau 21.

Tableau 21 : Résultats de l'analyse microbiologique

	Germes	Lait cru	Lait pasteurisé
S1	FTAM G/ml	4.10^8	19.10^4
	CT G/ml	26.10^4	10
	CTT G/ml	29.10^3	Abs
	<i>Staphylococcus aureus</i> G/ml	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i> G/ml	Abs	Abs
	Streptocoque fécaux G/ml	Abs	Abs
	Levures et moisissures G/ml	40.10^6	5.10^3
S2	FTAM G/ml	24.10^7	25.10^5
	CT G/ml	59.10^3	7
	CTT G/ml	4.10^2	Abs
	<i>Staphylococcus aureus</i> G/ml	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i> G/ml	Abs	Abs
	Streptocoques fécaux G/ml	Abs	Abs
	Levures et moisissures G/ml	13.10^7	95.10^3
S3	FTAM G/ml	18.10^7	97.10^3
	CT G/ml	45.10^3	Abs
	CTT G/ml	19.10^2	Abs
	<i>Staphylococcus aureus</i> G/ml	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i> G/ml	Abs	Abs
	Streptocoques fécaux G/ml	Abs	Abs
	Levures et moisissures G/ml	85.10^6	4.10^3
S4	FTAM G/ml	302.10^6	152.10^3
	CT G/ml	105.10^3	Abs
	CTT G/ml	64.10^2	Abs
	<i>Staphylococcus aureus</i> G/ml	Abs	Abs
	<i>Salmonella</i> G/ml	Abs	Abs
	Streptocoques fécaux G/ml	Abs	Abs
	Levures et moisissures G/ml	72.10^6	3.10^4

S : semaine

Abs : absence

G/ml : germes par millilitre

III-4-1-Flore totale aérobie mésophile

Après le dénombrement de la FTAM dans les deux types de lait, nous constatons que le nombre varie selon le type de lait et d'une semaine à une autre (figure 4).

Pour le lait cru, le nombre varie de 180.10^6 G/ml à 400.10^6 G/ml, ces résultats dépassent la norme (3.10^5 G/ml à 10^6 G/ml) du lait cru de qualité satisfaisante et acceptable.

Pour le lait pasteurisé le nombre de la flore totale varié entre $19. 10^4$ G/ml pendant la première semaine et $25. 10^5$ G/ml pendant la deuxième semaine avec des valeurs intermédiaires de $97. 10^3$ G/ml pendant la troisième semaine et $152. 10^3$ G/ml durant la quatrième semaine.

Ces résultats dépassent de loin la norme $3. 10^4$ G/ml donc ils sont non conforme. Cette contamination peut être causé au niveau de notre laboratoire, étant donné que l'observation microscopique n'a révélé qu'un nombre minime de coques.

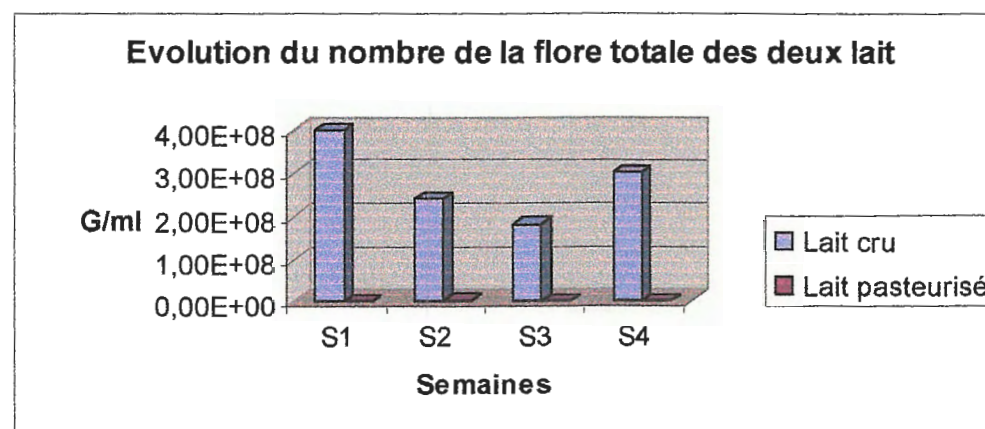


Figure 4: Evolution du nombre de la flore totale des deux laits

III-4-2- Coliformes totaux

Il ressort de ce tableau une variation du nombre de coliformes totaux avec une valeur minimale de $45 \cdot 10^3$ G/ml durant la troisième semaine et une valeur maximale pendant la première semaine $26 \cdot 10^4$ G/ml pour le lait cru.

Autre observation, une diminution remarquable est enregistrée pendant la deuxième et la troisième semaine, ce qui montre l'efficacité de la bonne pratique d'hygiène (figure5)

Pour le lait pasteurisé, nous remarquons une absence totale des coliformes totaux pendant les deux dernières semaines. Une valeur de 10 G/ml est enregistrée pendant la première semaine et 7 G/ml pendant le deuxième semaine, et par comparaison aux normes (< 10 G/ml) nous constatons que le lait pasteurisé est de qualité acceptable d'où l'efficacité de la pasteurisation et le respect des conditions d'hygiènes.

En général la présence des coliformes totaux est due à une contamination externe.

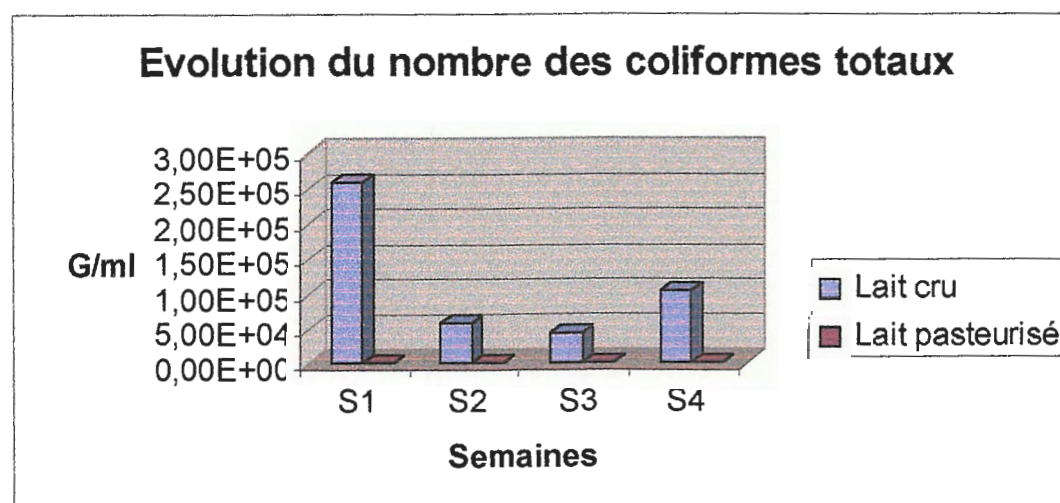


Figure 5 : Evolution du nombre des coliformes totaux

III-4-3- Coliformes fécaux

D'après le tableau 21 et la figure 6, nous remarquons que le nombre des CTT pour le lait cru varie pendant les quatre semaines entre une valeur minimale

de 4.10^2 G/ml pendant la deuxième semaine et une valeur maximale de 29.10^3 G/ml pendant la première semaine.

Par comparaison à la norme (entre 3.10^3 G/ml et 10^4 G/ml) nous constatons que ces résultats ne dépassent pas de loin la norme. Ces germes sont dus à une contamination externe.

Pour le lait pasteurisé, on note une absence totale de ces germes, ce qui indique l'efficacité de la pasteurisation et le respect des conditions d'hygiène.

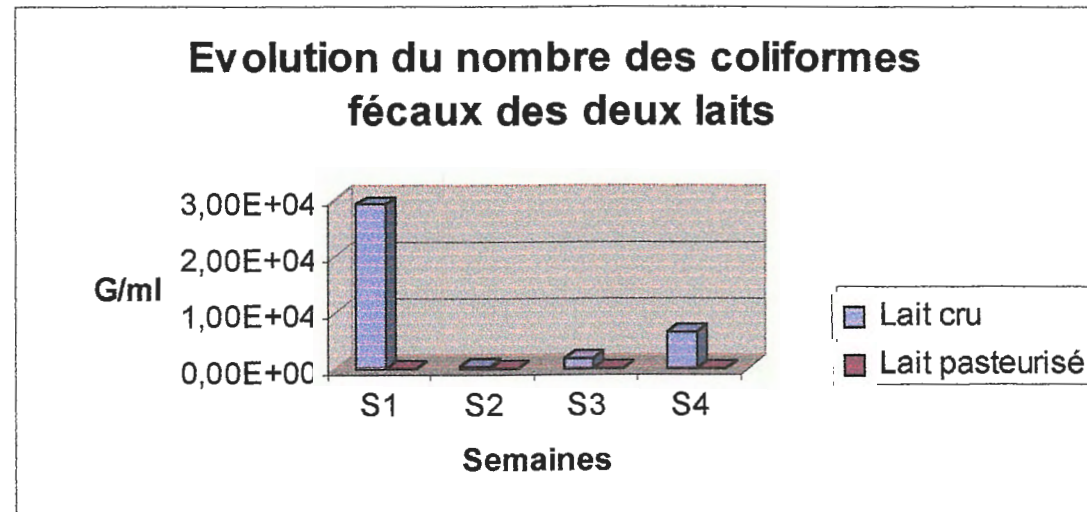


Figure 6: Evolution du nombre des coliformes fécaux des deux laits

III-4-4- *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*

D'après les résultats obtenus, nous remarquons une absence totale de ces germes dans les deux types de lait. Donc ces résultats restent toujours dans la norme qui exige l'absence de *Salmonella* dans les deux laits, ainsi, l'absence de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru et la présence d'un nombre varie entre 3 G/ml et 10 G/ml dans le lait pasteurisé (norme Algérienne).

III-4-5- Streptocoques fécaux

Les résultats de la recherche indiquent l'absence totale de ces germes dans les deux types de lait, ce qui explique la bonne pratique d'hygiène.

III-4-6-Levures et moisissures

Les résultats relatifs au dénombrement de cette flore, ont montré, la présence d'un nombre très important des levures et moisissures dans les deux laits (cru et pasteurisé) pendant les quatre semaines (figure7). Mais leur nombre dans le lait cru est plus élevé par rapport à celui du lait pasteurisé. Cela peut être due à une contamination externe des laits, soit au cours de la traite, du transport, de conditionnement ou au niveau du laboratoire.

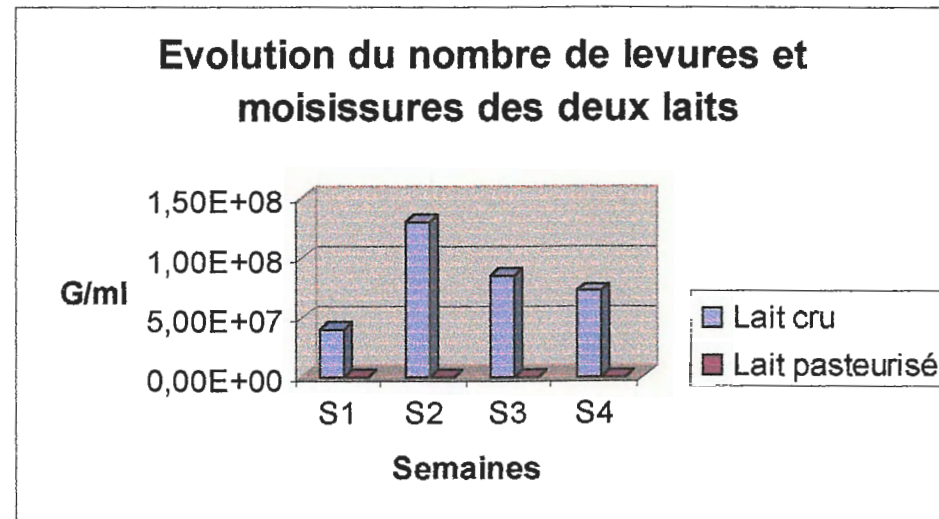


Figure 7 : Evolution du nombre de levures et moisissures des deux laits

Conclusion

CONCLUSION

Au cours de ce travail, et par l'application de méthodes microbiologiques et physico-chimiques, nous avons essayé d'évaluer la qualité microbiologique du lait de vache cru et pasteurisé en provenance de la laiterie IGILAIT.

Les résultats aux quels nous avons abouti nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- Les deux laits analysés : cru et pasteurisé présentent une couleur blanc jaunâtre due à leurs richesse en matière grasse, leurs odeur était faible et leurs saveur agréable.
- Le test de stabilité à l'ébullition a montré une stabilité pour les deux laits analysés et pendant toute la durée d'étude.
- La recherche de l'activité réductase a montré une légère contamination du lait cru pendant la première semaine. Celui des trois semaines suivantes était conforme à la norme ; avec une absence de réduction de bleu de méthylène.
- L'étude des paramètres physico-chimiques a montré que le pH des deux laits analysés était conforme aux normes durant les trois dernières semaines et inférieur à la norme pendant la première semaine ; donc se sont des laits acides.

Aussi, on a remarqué que l'acidité lactique du lait cru dépasse la norme et varie entre 20 et 22°D, pendant les trois première semaines, par ailleurs, elle est conforme à la norme, avec une valeur de 17°D pendant la quatrième semaine.

Pour le lait pasteurisé, l'acidité lactique dépasse la norme durant les quatre semaines et varie entre 19 et 22°D.

En ce qui concerne, la matière sèche des deux laits : cru et pasteurisé elle est conforme aux normes, avec des valeurs variant de 11.19% à 12.89% pour le lait cru et de 11.77% à 12.07% pour le lait pasteurisé, par contre on a noté que les deux laits sont pauvres en matière minérale, avec une valeur de 0.39% à 0.58% pour le lait cru, et de 0.19% à 0.59% pour le lait pasteurisé.

Les analyses microbiologiques ont montré que le lait cru est contaminé par une flore totale aérobie mésophile estimée de 18.10^7 G/ml à 4.10^8 G/ml, une flore de contamination fécale de 19.10^2 G/ml à 29.10^3 G/ml, et une absence de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et des streptocoques fécaux.

Pour le lait pasteurisé, on a noté, qu'il est conforme à la norme, avec une flore total aérobie mésophile variant entre 97.10^3 G/ml et 25.10^5 G/ml. Cette dernière peut être due à une contamination au niveau de notre laboratoire.

A la lumière de ce qui a été dit, nous constatons que le procédé de pasteurisation d'une part, permet la diminution des germes banales et l'élimination des germes pathogènes, donc elle permet une meilleure conservation du lait. D'autre part, elle réduit partiellement les constituants du lait (réduire le taux de la matière sèche). Pour cela, il faut utiliser un procédé de pasteurisation qui assure une bonne qualité physico-chimique du lait.

Il serait donc intéressant de développer ce procédé, en essayant de maîtriser les facteurs influençant la qualité microbiologique et physico-chimique du lait pasteurisé (traitement thermique, température de stockage, limitation des récontamination après pasteurisation).

Références bibliographiques

- 1- Anonyme, 1981. Larousse agricole, librairie Larousse. PP : 663 – 668.
- 2- Benmohamed, A. 2001. Analyse microbiologique du lait, Mémoire D.E.S. Constantine. PP : 3.
- 3- FAO.1998, Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. PP : 24 – 29, 33 – 44, 59, 68.
- 4- Gounelle, H.1996. Protection de la santé et hygiène, 11^{ème} édition. PP : 163.
- 5- Guiraud, J.P.1985. Microbiologie alimentaire. Technique et documentation.
- 6- Guiraud, J. et Galzy, P. 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. PP : 119, 120.
- 7- Guiraud, J.P.1998. Microbiologie alimentaire. PP : 391.
- 8- Ikhlef, A. 2001. Etude de suivi qualitatif du lait cru acheminé vers la laiterie Numidia de Constantine, Mémoire D.E.S. de Constantine. PP : 5.
- 9- Joffin, C. et Joffin, J.N. 1999. Microbiologie alimentaire, Lavoisier, Tec et Doc. PP : 169 – 176.
- 10- Journal officiel de la République Algérienne N° = 69, 1993.
- 11- Kerrada, A., Memeche, H. et Laariui, A. 2002. Contrôle de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait cru de deux régions de la Wilaya de Jijel « CHEKFA et TAHER », Mémoire D.E.U.A., Centre universitaire de Jijel. PP : 3.
- 12- Mechekef, S., Hamrouche,D. et Benchouieb, A. 2002. Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique des laits crus « Vache, Chèvre, Brebis », Mémoire D.E.U.A., Centre universitaire de Jijel. PP : 4, 5, 8.

13- surgère, 1993. Le lait de chèvre, Techniques et documentations. PP : 481.

14- Tikoudane, A. 2003. Etude de propriétés physico-chimiques et de la qualité bactériologique du nouveau lait de vache pasteurisé et conditionné, produit par la laiterie Numidia de Constantine, Mémoire D.N.A.T.A.A., université « Mentouri » de Constantine. PP : 4 – 6, 15.

Normes Algérienne, Journal Officiel de la République Algérienne N°35 du 27 mai 1998 (Aouel Safar 1419).

Normes AFNOR. 1995.

Anonyme, Site Internet : www.svp.lait.html

Annexe

I- Milieux de culture

1- milieu de Chapman

Peptone de viande	10 g
Extrait de viande	1 g
chlorure de sodium	75 g
D(-) manitole	10 g
Rouge dephénol	0.025 g
Agar – agar	12 g
Eau distillée	100 ml
pH final	7.4+- 0.1
stérilisation	120 °C / 15 mn

2-Gélose nutritive

Macération de viande	12 g
Peptone trypsique	15 g
Nacel ou Kcl	05 g
Agar	15 à 20
pH	6.8 à 07
Stérilisation	120°C /15mn

3-Gélose au désoxycholate

Peptone	10 g
Lactose	10 g
Désoxycholate de sodium	0.5 ou 1 g
Chlorure de sodium	5 g
Rouge neutre	30 mg
Gélose	12 g

4-Bouillon ROTHE

Peptone	20 g
Glucose	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Phosphate bipotassique	2.7 g

Phosphate monopotassique	2.7 g
Azide de sodium	0.2 g
pH	7
Stérilisation	115°C/20 minutes

Peut être préparé à double concentration en multipliant les valeurs ci dessus.

5-Milieu Sabouraud

Peptone de viande	5 g
Peptone de caséine	5 g
Glucose	20 g
Gélose	2%
pH	6.3
Chloramphénicole	1 ml à 0.5% par tube
Actidione (cycloheximide)	0.5 g/l
Actidione + chloramphénicole, gentamicine	40 mg/l

II- Colorants et réactifs

-Phynolphtaléine 1% :

Phynol :	1 g
Alcool :	100 g

- Solution d'hydroxyde de sodium (N/9) :

Hydroxyde de sodium :	4.4 g
Eau distillée :	100 g

Erratum

Page	Ligne	Erreur	Correction
1	1	Fruit	Fruit
1	6	donnés	données
1	17	intéressé	intéressées
3	4	allaitants	allaitantes
3	9	de	du
3	23	contrôlés	contrôlées
4	21	dés	dès
5	8	se	ce
5	12	matière grasse	matières grasses
5	23	grasse	grasses
6	3	gras	grasses
6	7	trace	traces
6	14	matière grasse	matières grasses
7	21	sont présentées	se présentent
7	21	globule	globules
7	23	d'acide	d'acides
8	11	sterois	steroïde
8	18	trace	traces
9	9	était	été
9	10	teneur	teneurs
11	13	B	B ₁
12	12	certain	certain
13	11	constituant originale	constituants originales
13	13	produit phytosanitaire	produits phytosanitaires
14	18	B-carotènes	β-carotènes
17	2	sensation	sensations
17	3	difficile	difficiles
18	5	d'autre	d'autres
18	7	Indésirable	Indésirables
18	9	Considéré	Considérés
18	15	constitué	constituée
19	2	conserver	conservés
19	29	faible quantité	faibles quantités
21	15	développe	développes
21	20	provoqué	provoqués
22	17	il fasse	ils fassent
25	4	utilisés	utilisé
28	5	a	à
28	14	seconde	secondes
28	24	place	places
28	26	minute	minutes
29	2	leurs	leur
29	8	de	des
29	11	faite	faire
29	21	tarées	tarés
30	19	précieuse indication	précieuses indications
31	5	mélangé	mélangée

33	10	Pétries	Pétri
33	20	Indique	Indiquent
34	2	Pétries	Pétri
34	27	Leurs	Leur
34	28	Pasteurisé	Pasteurisés
35	4	voir	voire
35	7	leurs	leur
35	17	leurs, au	leur, aux
35	30	mauvais	mauvaise
36	2	pétris	pétri
39	23	leurs developpement	leur développement
44	2	premiers	premières

L'ensemble des remarques faites
par M^{re} l'examinateur ont été
révisées.

Alger M^{re} M^{re} M^{re}

Présenté par : Bouanika Chafia Bouldjenouh Fattouma Labiod Farida	Option : Microbiologie	Date de setenance: 06/07/2004
---	----------------------------------	---

ملخص

در استنا الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية تمت على نوعين من الحليب : الطازج والمبستر التي بينت تشابه في خصائصهما الفيزيائية (الذوق ، الرائحة ، اللون و القوام) ، وإختلاف هاتين العينتين من الناحية الفيزيوكيميائية (pH ، حموضة ، المادة الجافة ، العضوية والمعدنية) و الميكروبيولوجية ؛ هذه الأخيرة وضحت أن الحليب الطازج يحتوي على عدد أكبر من الأحياء الدقيقة مقارنة مع الحليب المبستر . وبالتالي نستنتج أن عملية البسترة هي طريقة جيدة لحفظ الحليب .

الكلمات المفتاح : الحليب الطازج ، الحليب المبستر ، النوعية ، الفيزيوكيميائية ، الميكروبيولوجية .

Résumé

Notre étude physico-chimique et microbiologique a été réalisé sur deux types de lait de vache : cru et pasteurisé, qui a montré une similarité de leurs caractères physiques (saveur, odeur, couleur et consistance), et une différence entre ces échantillons du point de vue physico-chimique (pH, acidité, matière sèche, organique et minérale) et microbiologique. Cette dernière a révélé que le lait cru est plus chargé en micro-organismes que le lait pasteurisé. De ce fait on constate que la pasteurisation est un bon procédé de conservation de lait.

Mots clés : Lait cru, lait pasteurisé, qualité, physico-chimie, microbiologie.

Summarized

Our physico-chemical and microbiological survey has been achieved on two types of vache milk: raw and pasteurized, that showed a similarity of their physical characters (flavor, odor, color and consistence), and a difference between these samples of the physico-chemical view point (pH, acidity, dry, organic and mineral matter) and microbiological. This last revealed that the raw milk is charged more in microorganisms that the pasteurized milk. Of this fact one notes that the pasteurization is a good process of milk conservation.

Words clés : raw Milk, pasteurized milk, quality, physico-chemistry, microbiology, .