République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université de Médéa

Faculté des Sciences et de la Technologie



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En chimie

Spécialité : Normes et contrôle de qualité

Par :

Etudiant 1 : Bouderbani Chahira
Etudiant 2 : Toumache Chahira

Thème :

Caractérisations physicochimiques et microbiologiques de lait cru et quelque produits laitiers

Soutenue publiquement le : 05/06 /2016, Devant le jury composé de :

Dr Boucherit Nabila	*Président (MCB)*
M^{er}.Achek Rachid	*Examinateur(MAA)*
Dr Zouambia Yamina	*Co-encadreur(MCA)*
Melle Youcefettoumi Khadidja	*Encadreur(MBA)*

Année universitaire *2015/2016*

الملخص

الهدف من العمل المقدم هو دراسة الخصائص الفيزيوكميائية و المكروبيولوجية للحليب الطازج وبعض منتجات الالبان (زبدة البقر والياغورت) المباعة على مستوى ولاية المدية, 40 عينة من الحليب الخام تم جمعها من 5 مناطق:

4 من ولاية المدية و منطقة واحدة من ولاية البويرة, أثبتت مختلف الفحوصات الفيزيوكميائة ان 12 عينة تحتوي على بقايا formol. 35 % من العينات ذو كثافة تتعدى القيم العادية و 100% من العينات ذو نسبة حموضة عادية .كشف تعداد العينات الميكروبية FAMT للعينات الأربعين عن وجود نسبة تلوث تقدر ب 65% .تختلف النسب من 1,09 .10^6 الى 3,22 .10^7

UFC/ml تفوق القيم العدية المثبتة 10^6 UFC/ml البحث عن بقايا المضادات الحيوية أثبت وجود نسبة تلوث تقدر ب 20% بالنسبة لعينات الحليب .ونسبة 40 % و 20% على التوالي بالنسبة لعينات الزبدة والياغورت على التوالي.

الكلمات المفتاح. الحليبالطازج. الخصائص الفيزيوكميائية. الخصائص المكروبيولوجية. بقايا المضادات الحيوية

Résumé

L'objectif de ce présent travail est la caractérisation physicochimique et microbiologique du lait cru et quelques produits laitiers (Beurre de vache et yaourt) vendus dans le marché de la wilaya de Médéa. Au total, 40 échantillons de lait cru ont été collectés sur 5 régions : 4 régions de la wilaya de Médéa et une région de Bouira. Les différents tests physicochimiques réalisés montrent que sur les 40 échantillons étudiés, 12 échantillons révèlent la présence de formol, 35% des échantillons ont des densités qui dépassent la norme et 100 % des échantillons ont des acidités normales. Le dénombrement de FAMT pour les 40 échantillons de lait révèle la présence d'une contamination avec un pourcentage de 65 %. Ces échantillons ont une flore totale entre 1,09 10^6et 3,22 10^7 UFC/ml dépassant la norme fixée à 10^6UFC/ml. La recherche des résidus des antibiotiques réalisée par la méthode de la diffusion sur gélose, a montré une contamination de 20 % des échantillons du lait testés, de 40% du beurre de vache et de 20% du yaourt.

Mots clés. Lait cru. Caractérisations physiques chimiques. Caractérisations microbiologiques. les résidusd'antibiotiques

Abstract

Thepurpose of the present work is the physicochemical and microbiological characterization of raw milk and some dairy products (cow butter and yoghurt) sold in the market of the province of Medea. In total, 40 raw milk samples were collected from 5 regions: four regions of Medea province and one region from Bouira. The different physical and chemical tests show that of the 40 samples studied, 12 samples revealed the presence of formaldehyde, 35% of the samples have densities exceeding the standard and 100% of samples have normal acidity. The enumeration of FMAT for the 40 milk samples revealed the presence of a 10^6contamination with a percentage of 65%. These samples have a total flora between 1,09 UFC/ml exceeding the standard fixed at 10^6UFC / ml. For residues of antibiotics 10^7 and 3,22 produced by the method of agar diffusion, showed a contamination of 20 % of tested milks,40% of butter and 20% of cow yogurt.

Kay words:Raw milk; Physicochemical characteristics; Microbiological characteristics; Residues of antibiotics

REMERCIEMENTS

On remercie premièrement ALLAH le tout puissant pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage, sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé.

Nos vifs remerciements vont à notre promotrice de mémoire, Dr:ZOUAMBIA Yamina qui a bien voulu accepter l'encadrement de notre travail pour ses précieuses orientations et ses valeureux conseils.Merci pour votre disponibilité. Aussi pourM^{elle} Youcef Ettoumi Khadidja mercier pour votre disponibilité

On tient également à remercier tous le personnel du laboratoire de lycée annexe de l'université de Médéa, de laboratoire de laitier Tomlait (Bousken) le laboratoire de microbiologie de la direction de la santé publique.

Ainsi que tous ceux qui ontparticipé en répondant à nos questions et en mettant à notre disposition les informations et les documents nécessaires à la réalisation de ce travail. Merci pour votre aide précieuse.

Nos remerciements vont aussi à tous les membres du jury qui ont accepté de jugé ce travail et à tous les enseignants.

On remercie tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Merci Allah (mon Dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patient ce d'aller jusqu'au bout.

Pour la source de la tendresse et le secrète duréconfort pour l'être humain m'a donné la vie et m'a accompagné sur mon chemin, à la lumière de mes jours, la source de mes efforts, pour vous maman.

Pour la soutenir de ma vie, pour mon sourire, pour le premier homme dans ma vie et mon exemple éternel, l'école de mon enfance, pour vous papa.

Pour mon deuxième partie, pour mon amis, mon amour, pour mon mari Mohamed.

Pour les deux personnes qui étaient plus de jumeaux spirituels ma sœur Nabila et son mari Halim

Pour mon chère amis ma sœur Nassima et son mari Hakim.

Pour ma deuxième mère ma grande sœur Assia et son mari Abd Rahman.

Pour mes frères Hamza et sa femme Shahrazade, Ismail et sa femme Azhar.

Pour le symbole de la sourire ma petite chère sœurHamida.

Pour la famille de monmari, pour tous les enfants : Amel, Chirine, Kholoud, Mohamed, Rayan, Meriem, Maram, Yaakoub, Zino, Hichem, Amine, Farouk.

Pour mes amis Akila,Nawel, Habiba, Fatiha, Houria et Chahira.

TOUMACHE Chahira

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout puissant, ce travail fut accompli et je le dédie à :

A celle qui s'est toujours sacrifiée pour mon éducation, qui m a entourée de son amour et de son affection, a la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, je la remercié et je n'oublierai jamais son soutien moral dans les moments les plus difficiles, que Dieu la protège, a maman que j'adore.

A mon père, A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, l'école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

A mes sœurs, Fatiha, Dalila, Hadjer et Khadija

A mes frères, Hossine, Fatih, Rabeh et Mohamed

A ma petite chère, salsabil

A mon deuxième partie, a mon amis, a mon amour, a ma vie, a mon mari Lakhdar.

A mes amis, Nadia, Hayat, Bouchra, chahira, Fayza , Dalila ,

Fawzia et Mariam

BOUDERBANI Chahira

Abréviation :

AMM : autorisation mise en marché

BPA : Bon Pratique Agricole

CEE : Communauté Economique Européen

CVMP : Commette For Véterinary Médicinal Product

DES : Dose Sans Effet

DJA :Dose Journalière Admissible (ou Autorisée)

FP : Fraisent point

g : gramme

HPLC : high performances liquide chromatographie

Kcal :kilocalories

LMR : limite maximale des résidus

Mg: Milligramme

MH : Muller Hinton

ml: Millilitre

MSD : Matière Sèche Dégraissée

MST: Matière Sèche Totale

PPP : Produit Phytopharmaceutique

UFC : Unité Formant Colonie

µg : Microgramme

Liste des figures

Figure II.1.Différents étapes de conservation de lait……...30
Figure II.2. pH utilisé……31
Figure II.3. Mesure de l'acidité titrable……32
Figure II.4. MILKO-TESTER (Milk's analyser)……..33
Figure II.5. Test d'antibiotique…….34
Figure II.6..Différentesétapes du test de FAMT……35
Figure II.7. Echantillons de beurre avant et après le fondement……..36
Figure II.8. Les échantillons de yaourt…….36
Figure II.9. Le comptage des colonies après l'incubation……37
Figure II.10. Les différentes étapes de test d'antibiogramme……...40
Figure III.1. Le résultat de test formol……..43
Figure III.2. Test d'antibiotique……...50
Figure III.3. Résultat du contrôle de sensibilité des souches……...54
Figure III.4. Résultat du test de recherche des résidus d'antibiotiques….....55
Figure III.5. Résultat du pourcentage des échantillons négatifs et positifs des 40 échantillons de laits cru……55
Figure III.6. Résultats des échantillons positifs et négatifs par région……...56
Figure III.7. Zones d'inhibition obtenues pour les échantillons psitifs du beurre et du yaourt.……
…….57
Figure III.8. Résultats des échantillons positifs et négatifs pour le beurre et le yaout……..58

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Composition moyenne du lait de vache……...4

Tableau I.2: Teneur moyenne par litre en vitamines hydrosolubles et liposolubles dans le lait……..……..8

Tableau I.3. Caractéristiques physicochimiques du lait de vache……...11

Tableau I.4: Flore originelle du lait cru……...12

Tableau I.5 : Germes contaminant le lait cru……..13

Tableau I.6: Sources et niveaux de contamination du lait……..14

Tableau I.7 : LMR des principales molécules d'antibiotiques susceptibles d'être retrouvées dans le lait……..…...22

Tableau II.1 : Matériels et produits utilisés……....27

Tableau II.2. Distribution des échantillons selon les régions de prélèvement……..….29

TableauIII.1.1. Mesure du pH……41

Tableau III.2. Température des échantillons de lait……42

Tableau III.3. Les valeurs de l'acidité titrable dans l'échantillon de lait……42

Tableau III.4. Test de formol du lait cru……44

Tableau III.5. Densité du lait cru…….……44

Tableau III.6. Les valeurs de la matière grasse dans lait cru…….....45

Tableau III.7. Valeurs de M.S.D de lait cru……46

Tableau III.8. Valeurs de MST……...46

Tableau III.9. Teneur en lactose…….....47

Tableau III.10. Teneur en protéines……..48

Tableau III.11. Les valeurs de point de congélation dans le lait cru……48

Tableau III.12. Valeurs des Seles minéraux……..49

Tableau III.14. Résultats du test d'antibiotique 50

Tableau III.15. Résultats de FAMT des échantillons de lait……51

Tableau III.16. Résultats de FAMT du yaourt……..52

Tableau III.17. Résultats du FAMT du beurre…….….53

Tableau III.1.18. Familles d'antibiotiques détectées par les bactéries étudiées……...54

Tableau III.19. Références pour la lecture de l'antibiogramme……...54

Tableau III.20. Nombre des échantillons positifs pour chaque espèce……56

Tableau III.21. Répartition des échantillons positifs par rapport aux antibiotiques recherché……58

Sommaire

Introduction générale ……... 1

I.1.Le lait 3 I.1.1.Définition ……... 3

I.1.2. Caractéristiques du lait cru ……... 3

I.1.2. 1. Composition chimique ……... 3

I.1.2.1 .1.L'eau ……... 4

I.1.2.1 .2.Matière grasse ……... 4

I.1.2.1.3. Matière azotée ……... 5

I.1.2.1. 4.Les glucides ……... 6

I.1.2.1.5 .Matière minérale ……... 6

I.1.2.1 .6 .Biocatalyseurs ……... 7

I.1.2.2.Caractères organoleptiques du lait cru ……... 9

I.1.2.2.1.Couleur ……... 9

I.1.2.2.2.Odeur ……... 9

I.1.2.2.3.Saveur ……... 9

I.1.2.2.4.Viscosité ……... 9

I.1.2.2.5.Propreté physique ……... 9

I.1.2.3.Caractères physico-chimiques ……... 9

I.1.2.3.1.pH ou acidité actuelle ……... 9

I.1.2.3.2. Densité : poids spécifique ou masse volumique ……... 9

I.1.2.3.3.Point d'ébullition ……... 10

I.1.2.3.4.Point de congélation ou point cryoscopique ……... 10

I.1.2.3.5. Acidité titrable ou acidité Dornic ……... 10

I.1.3.Microbiologie du lait cru ……... 11

I.1.3.1. Flore originelle ……... 12

I.1.3.2. Flore de contamination ……... 12

I.1.3.3. Flore psychrotrophe ……... 13

I.1.4. Valeur nutritive du lait ……... 15

I.1.4.1. Apport en protéines ……... 15

I.1.4.2. Apport en lipides ……... 15

I.1.4.3. Apport en glucides ……... 15

I.1.4.4. Apports en minéraux et oligo-éléments ……... 15

I.1.4.5. Apports en vitamines ……... 15

I.1.5. Importance de la consommation du lait ……... 16
I.1.6. Importance de la consommation laitière en Algérie ……... 16
I.2. Résidus d'antibiotiques dans le lait ……... 17
I.2.1. Antibiotiques ……... 17
I.2.2. Différentes classes d'antibiotiques ……... 17
I.2.3.Définition des résidus d'antibiotiques ……... 18
I.2.4. Nature des résidus ……... 18
I.2.5. Propriétés des résidus ……... 19
I.2.5.1. Notion de biodisponibilités et biodisponibilités de relais ……... 19
I.2.5.2. Notion de toxico-disponibilité ……... 19
I.2.6. Problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques ……... 19
I.2.7. Règlementation autour des résidus d'antibiotiques ……... 20
I.2.7.1. Définition de LMR ……... 20
I.2.7.2. Principes généraux des LMR ……... 20
I.2.7.3. Etablissement des LMR ……... 21
I.2.7.4. Législation algérienne
I.2.7.5. Délai d'attente ……... 23
I.2.7.5.1. Définition ……... 23
I.2.7.5.2. entre le temps d'attente et La limite maximale des résidus ……... 23
I.2.7.5.3.Méthode de calcul de temps d'attente dans le lait
I.2.8. Méthodes de dépistage des résidus d'antibiotiques ……... 23
I.2.8.1. Méthode d'acidification ……... 24
I.2.8.2. Delvotest ……... 25
I.2.8.3. Premi® test ……... 25
I.2.8.4. Méthode Star ou méthode des 5 boites ……... 25
I.2.8.5. Méthodes de confirmation ……... 25
II. Matériels et méthodes
II.1. Introduction ……... 27
II.2. Matériel et produits ……... 27
II.3.Techniques de prélèvements ……... 29
II.4. Analyses physicochimiques du lait cru ……... 31
II.4.1. Mesure de Ph et la température. ……... 31
II.4.2. Acidité titrable ……... 31

II.4.3. Test de formol32 ……... 32
II.4.4.Autres analyses32 ……... 32
II.4.5. Test d'antibiotique33 ……... 33
II.5. Analyses microbiologiques 34 ……... 34
II.5.1.Dénombrement de la flore aérobie mésophile total dans le lait ……... 34
les produits laitiers
II.5.2.Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru et les produits
laitiers
……... 37
II.5.2.1.Méthode de diffusion sur gélose37 ……... 38
II.5.2.2. Principe de la diffusion sur gélose 38 ……... 38
II.5.2.3. Mode opératoire38 ……... 38
III. Résultats et discussion
III.1. Analyses physicochimiques du lait cru ……... 41
III.1.1. Mesure du pH ……... 41
III.1.2. Mesure de la température ……... 41
III.1.3. d'acidité titrable Mesure ……... 42
III.1.4. Test de formol ……... 43
III.1.5. Mesure de la densité ……... 44
III.1.6. Mesure de la matière grasse ……... 45
III.1.8. Extrait sec ou matière sèche totale ……... 46
III.1.9. Teneur en lactose ……... 47
III.1.10.Teneur en protéine ……... 48
III.1.11.Point de congélation ……... 48
III.1.12. Seles minéraux ……... 49
III.1.13. Présence de l'eau ……... 49
III.1.14. Test d'antibiotique ……... 50
III.2. Analyses bactériologiques ……... 51
III.2.1.Dénombrement de FAMT dans le lait ……... 51
III.2.2. FAMT des échantillons du yaourt ……... 52
III.2.3. FAMT des échantillons du beurre ……... 53
III.3. Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers ……... 53
III.3.1.Méthode de diffusion sur gélose ……... 53

III.3.1.1. Contrôle de la sensibilité des souches ……... 54
III.3.1.2. Test de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait ……... 55
III.3.1.3. Test de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le beurre de vache et de yaghort ……... 57
……... 58
III.3.1.4. Possibilité d'identification des antibiotiques recherchés au niveau des échantillons positifs
III.3.1.5. Conclusion
Conclusion générale ……... 59
Références

Introduction générale

Dans les pays africains, les produits laitiers jouent un rôle important dans l'alimentation humaine, notre pays est le premier consommateur de lait au niveau maghrébin. En plus, le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, en regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présente une forte concentration en nutriments de base: des protéines de bonne qualité, des glucides, des lipides, des éléments minéraux et des vitamines avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/l

Ainsi les laits sécrétés par les différentes espèces de mammifères présentent des caractéristiques communes et contiennent les mêmes critères de composants: eau, protéines, lactose, matière grasse et matières minérales. Malgré cela les proportions spécifiques de cescomposants se varient largement d'une espèce à l'autre.

La production de lait doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'ils peuvent présenter pour la santé humaine. En effet, des souches pathogènes pour l'homme et l'animal, pouvant avoir acquis des résistances multiples aux antibiotiques, peuvent y proliférer. Une évaluation de la qualité hygiénique du lait permet de rechercher la microflore naturelle et desmicroorganismes pathogènes. Un lait destiné à la consommation humaine se doit par conséquent d'être exempt de tout type de contamination et tout particulièrement médicamenteuse. Malheureusement, l'usage croissant et souvent irraisonné de produits antibiotiques se solde très souvent par la présence de leurs résidus dans le lait produit par la vache traitée.

Les antibiotiques sont utilisés comme outil thérapeutique ou aussi comme facteur de croissance dans l'élevage des animaux. Leur utilisation est limitée par une liste positive pour éviter tous risques pour l'animal et l'homme. Cela n'empêche pas que des résidus d'antibiotiques peuvent se présenter dans le produit animal final consommé par l'homme et être une source de nuisance pour sa santé provoquant des allergies ou des effets de toxicité.

Nous constatons actuellement en Algérie une utilisation abusive et anarchique des antibiotiques en pratique vétérinaire. Il s'agit surtout du non-respect du délai d'attente et de l'absence de règlementation concernant les limites maximales autorisées des résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale destinées à la consommation humaine.

La détection des résidus d'antibiotiques est d'un grand intérêt. Elle permet de protéger l'homme contre les effets de ces résidus. De nombreuses méthodes permettent la détection et, dans certains cas, l'identification précise des molécules antibiotiques présentes dans le lait. Elles diffèrent par leur sensibilité, leur coût et les difficultés techniques inhérentes à leur réalisation. Certaines comme l'HPLC (High Performance Liquid Chromatrography) ou la LC-MS *(*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) permettent outre une identification précise de la molécule en cause, une quantification fine de celle-ci. D'autres méthodes microbiologiques essentiellement basées sur le ralentissement ou l'inhibition de la croissance d'une souche bactérienne sensible mise en présence de l'échantillon de lait à tester ont permis le développement de kits rapides de détection (Delvotest®, Copan Test®, CharmFarm Test®…) plus adaptés au contrôle laitier de masse.

C'est dans cet ordre d'idée que nous avons réalisé le sujet qui nous a été proposé dont l'objectif principale est l'analyse physicochimique et microbiologique de lait cru et quelques produits laitiers vendus dans le marché de la wilaya de Médéa.

Ce manuscrit s'articule autour de deux grandes parties :

1- Dans la première partie, des données bibliographiques concernant le lait cru, les méthodes de leur caractérisation physicochimique, les problèmes causés par les résidus d'antibiotiques, les méthodes de détection couramment utilisées pour leur recherche ont été décrits.

2- Dans la deuxième, les principaux résultats relatifs à la caractérisation physicochimique et microbiologique de 40 échantillons de lait cru prélevés de différentes régions de la wilaya de Médéa et de Bouiraainsi que quelques produits laitiers (beurre de vache et yaourt), ont été rassemblés.

Enfin cette étude se termine par une conclusion générale ainsi que les perspectives.

I.1.Le lait

I.1.1. Définition

Selon le Congrès International pour la Répression des Fraudes Alimentaires, tenu à Genève en 1908, « 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»**[1]**.

Le lait cru est le nom donné au lait d'origine animal qui n'a subi aucune modification majeure telle que la stérilisation ou la pasteurisation. Le lait cru peut être légèrement chauffé. Cependant, pour conserver toutes ses qualités nutritionnelles, la température ne doit pas être supérieure à40°C soit celle de l'animal [**2]**.

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, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur**[3]**.

En général, le lait est un liquide alimentaire opaque, blanc mat légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre, à odeur peu marquée au gout douceâtre
, sécrété, après parturition, par la glande mammaire des animaux mammifères femelles pour nourrir leur nouveau-né **[4]**.

Du point de vue physico-chimique, le lait est une émulsion (dispersion grossière) de matière grasse dans une solution colloïdale de protéine dont le liquide inter micellaire est une solution vraie **[5]**.

I.1.2. Caractéristiques du lait cru

I.1.2. 1.Composition chimique

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition générale est représentée dans le Tableau I.1. Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs: race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse **[6]**.

Tableau I.1 : Composition moyenne du lait de vache **[7]**

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

I .1 . 2.1.1.L'eau

Est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. En elle, sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche **[8]**.

I .1 . 2.1.2. Matière grasse

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre. Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K **[9]**. La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe, dans la phase dispersante qu'est le lait écrémé **[10]**.

Cet état globulaire est fragile; toute altération de la membrane par voie chimique, physique et microbienne conduit à la déstabilisation de l'émulsion. Cette évolution peut être accidentelle, elle se traduit alors le plus souvent par une séparation de la phase grasse sous forme d'huile ou d'agrégats et/ou par l'apparition de flaveurs indésirables (rancidité-oxydation); lorsqu'elle est dirigée, elle permet la concentration de la phase grasse sous forme de beurre après barattage, ou sous forme d'huile de beurre et de matière grasse laitière anhydre après chauffage et centrifugation**[11]**.

I .1 . 2.1.3.Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait **[9]**. Les protéines se répartissent en deux phases : une phase micellaire et une phase soluble. La phase micellaire représente la caséine totale (environ 80% des protéines du lait) du lait. Elle est formée par quatre protéines individuelles**[12]**:

- Alpha-caséines ou caséines αs1 36 % et αs2 10 % ;
- Bêta-caséine ou caséine β 34 % ;
- Kappa-caséine ou caséine κ 13 % ;
- Gamma-caséines ou caséine γ 7 % (produits de la protéolyse de la β-caséine).

Une micelle de caséine contient environ 92 à 93% de protéines, les caséines, et 8% de minéraux. La partie minérale de la micelle comporte 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrate et de magnésium (2,9 % de Ca, 0,1% de Mg, 4,3% d'ions phosphate, 0,5% d'ions citrate) **[13]**. La présence de phosphate de calcium lié à la caséine est l'une des forces responsables de la stabilité de la structure des micelles de caséine **[14]**. Une propriété importante des micelles est de pouvoir être déstabilisée par voie acide ou par voie enzymatique et de permettre la coagulation. Elle constitue le fondement de la transformation du lait en fromage et en laits fermentés **[15]**. L'autre fraction protéique (environ 17%) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la β-lactoglobuline et l'α-lactalbumine**[13]**.

I .1 . 2.1.4.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'α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses**[16]**:

α Glu + β Gal $\Longrightarrow$ α Lac hydraté : $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$

β Glu + α Gal $\Longrightarrow$ β Lac anhydre : $C_{12}H_{22}O_{11}$

Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers**[17]** :

- ***Fermentation lactique***: due aux bactéries lactiques naturelles ou ajoutées (ferments lactiques) qui utilise le lactose en le transformant en acide lactique. Cette fermentation lactique est souvent accompagnée d'une production plus au moins grande de substances secondaires (ex. diacétyle) responsables de l'arôme des produits laitiers**[18]**.

- ***Fermentation propionique***: due aux bactéries propioniques qui transforment le lactose en acide propionique et en acide acétique responsables de la flaveur des fromages à pâte cuite et en gaz carbonique induisant l'ouverture de ces fromages **[16]**.

- ***Fermentation butyrique***: par des bactéries du genre *Clostridium* qui utilisent l'acide lactique déjà produit en le transformant en acide butyrique, responsable d'odeurs putrides et de goût piquant, et en gaz carbonique et hydrogène. Ces substances induisent le gonflement tardif des fromages, en particulier à pâte cuite.

- ***Fermentation alcoolique***: due à des levures qui hydrolysent le lactose en glucose et galactose et qui transforment ensuite le glucose en alcool éthylique. Cette fermentation est utilisée en particulier dans la fabrication du kéfir, boisson issue de la fermentation du lait, contenant peu d'alcool et légèrement gazeuse.

A température élevée, le lactose participe avec les protéines à des réactions de brunissement non enzymatique pouvant altérer la couleur des laits stérilisés**[19]**.

I .1 . 2.1. 5.Matière minérale

La matière minérale du lait (7g à 7,5g/l) est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique. Il est possible de doser les matières minérales ou cendres du lait par une méthode de calcination à 550°C**[16]**.Les minéraux sont présents, 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 ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions**[8]**.

Il existe un équilibre entre les formes solubles et colloïdales, d'une part, et entre les formes ionisées et non dissociées d'autre part. Cet état est précaire parce qu'il est sensible à divers facteurs, notamment au pH, à la température, et à la concentration ou à l'addition de calcium. Toute altération de ces équilibres modifie la stabilité du lait, notamment les propriétés de la caséine native.

En raison de la présence concomitante de lactose et de phosphopeptides (produits d'hydrolyse de la caséine), les minéraux sont, de tous les éléments du lait, ceux qui sont les mieux adsorbés et retenus. A cet égard, le rapport calcium/phosphore (Ca/P) du lait de vache (voisin de 1,2), bien qu'inférieur à celui du lait maternel (voisin de 2,2), est de loin supérieur à celui des autres denrées alimentaires, faisant du lait une excellente source de calcium et un bon correctif des rations pauvres en calcium**[20]**.

I .1 . 2.1.6.Biocatalyseurs

- **Enzymes :** Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Plus de 60 enzymes principales ont pu être isolées du lait ou dont l'activité a été déterminée. La moitié d'entre elles sont des hydrolases**[21, 22]**.

  Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

  - Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipases, protéases). Ainsi, on distingue des protéases originelles du lait ; la plasmine est le composant majoritaire (elle provient du sang et migre via la glande mammaire), et des protéases d'origine microbienne. Le genre *Pseudomonas* et tout particulièrement l'espèce *Pseudomonas fluoresces*, synthétise des protéases exocellulaires thermostables. Il est également à souligner que dans les laits de mammites, le nombre de cellules somatiques peut être considérablement accru, le niveau de protéolyse.

  - Rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (lactopéroxydase et lysozyme) sont nettement plus élevé que dans les laits normaux**[23]**.

  - Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase,

acétylestérase, sont des enzymes thermosensibles) et d'espèces (test de la xanthine-oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre)**[22]**.

- **Vitamines :** Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique. On classe les vitamines en deux grandes catégories **[24]**:

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

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

Les teneurs moyennes des vitamines hydrosolubles et liposolubles dans le lait sont portées dans le tableau I.2.

Tableau I.2: Teneur moyenne par litre en vitamines hydrosolubles et liposolubles dans le lait **[25]**

Groupes de vitamines	**Types de vitamines**	**Teneurs moyennes/l**
Vitamines liposolubles	· Vitamine A	500 - 1000 UI
	· Vitamine D	15 - 20 UI
	· Vitamine E	1-2 mg
	· Vitamine K	0.02 - 0.2 mg
Vitamines hydrosolubles	· Vitamine B1	0,01 - 0.1 mg
	· Vitamine B2	0.8 - 3 mg
	· Vitamine PP	1 - 2 mg
	· Vitamine B6	2 - 1 mg
	· Acide pantothénique	2 - 5 mg
	· Vitamine B12	1- 8 µg
	· Vitamine C	10-20 µg

I.1.2.2.Caractères organoleptiques du lait cru

I.1.2.2.1.Couleur

Le lait est un liquide blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates, parfois Bleuté ou jaunâtre du fait de la beta carotène ou de la lactoflavine contenues dans la matière grasse.

I.1.2.2.2.Odeur

Le lait a une odeur toujours faible (caractéristique de l'animal qui l'a produit), agréable et variable en fonction de l'alimentation**[25].**

.I.1.2.2.3.Saveur

Le lait a une saveur douceâtre, faiblement sucrée en raison de la richesse en lactose dont le pouvoir sucrant est inférieur à celui du saccharose**[25].**

I.1.2.2.4.Viscosité

La viscosité est fonction de l'espèce, c'est ainsi que l'on distingue

- Un lait visqueux chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores, et femme etc.).
- Un lait moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que celui de la vache)**[26]**

I.1.2.2. 5.Propreté physique

Un lait commercialisé doit être propre, donc dépourvu d'éléments physiques (sable, poils et impuretés). Cette propreté s'apprécie par le test qualitatif réalisépar filtration (utiliser un lactofiltreur ou pompe Van Doorn disposant d'une rondelle d'ouate comme filtre)

I.1.2.3.Caractères physico-chimiques

I.1.2.3.1.pH ou acidité actuelle

L'acidité actuelle s'apprécie par le pH et renseigne sur l'état de fraîcheur du lait. A la traite, le pH du lait est compris entre 6,6 et 6,8 et reste longtemps à ce niveau. Toute valeur située en dehors de ces limites indique un cas anormal; d'où l'intérêt de cette connaissance pour le diagnostic des mammites.

.I.1.2.3.2.Densité : poids spécifique ou masse volumique

Pour une même espèce, la densité n'est pas constante. Elle dépend de la richesse du lait en éléments dissouts et en suspension ainsi que de la teneur en matière grasse. Elle est également variable en fonction de la température. A 20°C, la densité des laits individuels peut prendre

des valeurs entre 1,030 et 1,033 et de 1,020 à1,038 pour les laits de mélange. La densité du lait fraîchement extrait de la mamelle est instable et tend à augmenter avec le temps **[26]**.

I.1.2.3.3.Point d'ébullition

L'ébullition propre du lait a lieu à 100°C; cependant, lorsqu'on porte le lait sur le feu, à une température voisine de 80 à 90°C, il y a une montée du lait, c'est-à-direformation d'une membrane protéinocalcaire ou peau du lait (frangipane) qui gênel'ébullition du lait **[27]**. Pour bouillir le lait, il faut donc éliminer cette peaude lait.

I.1.2.3.4.Point de congélation ou point cryoscopique

Il est de -0,555°C avec des variations normales entre- 0,530 et - 0,575C° en fonction du climat. Le mouillage rapproche le point de congélation de 0°C, l'écrémage ne modifie pas le point de congélation. Cependant, l'acidification lactique et l'addition de sels solublesl'abaissent**[19]**.

I.1.2.3.5. Acidité titrable ou acidité Dornic

L'acidité de titration globale mesure à la fois le pH initial du lait et l'acidité développée après la traite par la fermentation lactique qui diminue le pH jusqu'à 4 ou 5. L'acidité de titration indique donc le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Le degré Dornic est le nombre de dixième de millilitre de soude utilisé pour titrer dix millilitres de lait en présence de phénolphtaléine**[28]**.1°D = 1 millilitre d'acide lactique dans 10 millilitre de lait soit 0,1 gramme d'acide lactique par litre. Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités tritrables différentes et inversement. C'est-à-dire qu'il n'ya pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration **[29]**.

Le Tableau I.3 récapitule les principales caractéristiques physicochimiques du lait devache.

Tableau I.3. Caractéristiques physicochimiques du lait de vache[**30]**

Constantes	Moyennes	Valeurs extrêmes
Densité du lait entier à 20 °C	1,031	1,028 - 1,033
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
Tension superficielle du lait entier à 15 °C (dynes/cm)	50	47 – 53
Viscosité du lait entier à 20 °C	2,2	-
Conductivité électrique à 25°C (siemens) b	45 x $10^{-}4$	40 - 50 x 10-4
Point d'ébullition (°C)	-	100,17- 100,15
Potentiel d'oxydoréduction	0,25 V	(+0,20) - (+0,30)
Point de fusion des graisses (°C)	36	25-24

I.1.3.Microbiologie du lait cru

Le lait contient un nombre variable de cellules; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène que sont la plupart des microorganismes contaminants **[31]**.

Les microorganismes principalement présents dans le lait sont les bactéries. Mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme **[32]**.

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages**[33],** mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait**[34]**.Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à

quelques milliers de germes par millilitre, un lait fortement pollué peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml**[16]**.

Dans cette microflore contaminant, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première **[35]**.

I.1.3.1. Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) **[36]**.

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles **[37]**. Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avecl'alimentation **[38]**et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production **[39]**.Le tableau I.4 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau I.4: Flore originelle du lait cru **[40]**

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

I.1.3.2. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire **[40]**.

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement: entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, microcoques, corynébactéries, *Bacillus*, etc.,

par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière (Tableau I.5).

Des contaminations d'origine fécale peuvent entrainer la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella, Yersinia.* Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait **[41]**.

Tableau I.5 : Germes contaminant le lait cru **[42]**

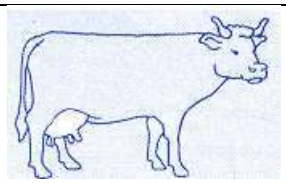
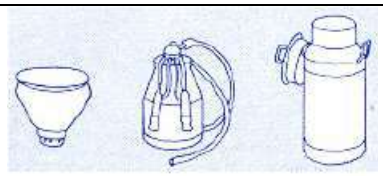
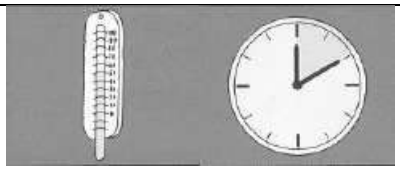
Sources de contamination		**Psychrotrophes**
Germes Gram positifs -Germes sporulés aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
-Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
-Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
-Staphylocoques	Peau, muqueuses	Non
-Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
-Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
-Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
-Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
Germes Gram négatifs -Colibactéries (*E. coli*)	Féces, eaux usées	Non
-Entérobactéries	Plantes, féces, eaux usées	Certaines espèces
-*Pseudomonas*	Eau, sol (très répandu)	Oui
-*Alcaligenes*, *Flavobacterium*, etc.	Eau, sol (très répandu)	Oui
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	Oui

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : *Streptococcus pyogenes, Corynebactériumpyogenes*, staphylocoques, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis: *Salmonella*; *Brucella*, agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria*

monocytogenes, agent de la listériose; *Mycobacteriumbovis*et *tuberculosis*, agents de la tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon ; *Coxiellaburnetii*, agent de la fièvre Q, et quelques virus.

Hormis les maladies de la mamelle, le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (Tableau I.6)**[20]**.

Tableau I.6: Sources et niveaux de contamination du lait**[43]**

	Normal	**Anormal**	
Pis	<100 germes par milliltre	100 000 et plus par milliltre	
Environnement	1000-5 000 Germes par milliltre	10 000 et plus par milliltre	
Ustensiles à lait	1000-30000 Germes par milliltre	100 000 et plus par milliltre	
Refroidissement et durée de stockage	Pas d'augmentation significative	500 000 et plus par millitre	

I.1.3.3. Flore psychrotrophe

On désigne par psychrotrophes des micro-organismes qui ont la faculté de se développer à une température égale ou inférieure à 7°C, indépendamment de leur température optimale de croissance (en général, dans le lait, c'est le genre *Pseudomonas* qui domine). Dans des laits refroidis, cette flore peut devenir la flore dominante, notamment quand ceux-ci ne sont pas récoltés dans d'excellentes conditions hygiéniques et qu'ils sont maintenus plus de 24 à 48 heures dans les conditions habituelles de réfrigération (+3 à +4 °C). Si l'on tient compte de

leur temps de génération, la population des psychrotrophes peut être multipliée par 10 en 24 heures à 4°C et par 4 à 1°C. Ces germes peuvent produire des lipases et des protéases thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables dans les produits laitiers: goût amer, rance, putride, etc. **[44]**.

I.1.4. Valeur nutritive du lait

Le lait est généralement considéré comme un aliment très complet du point de vue nutritionnel car il apporte à la fois des protéines, des glucides, des lipides et des minéraux **[45]**.

I.1.4.1. Apport en protéines

Un litre de lait de vache, qu'il soit entier ou écrémé apporte 35 g de protéines. Il s'agit principalement de caséine, de lactalbumine et de lactoglobuline. Tous les acides aminés indispensables sont présents, ces protéines sont très bien assimilées par l'organisme **[46].**

I.1.4.2. Apport en lipides

La teneur en lipides du lait de consommation courante est standardisée à un taux minimum de 36 g par litre de lait entier. Cette teneur en lipides confère au lait entier une valeur énergétique importante (700 Kcal soit 2930 KJ pour 1 litre). Les laits demis écrémé et écrémé apportent respectivement 15 à 18 g et 1 g de lipides par litre.

Les triglycérides du lait comportent essentiellement des acides gras saturés (60 à 65%) et mono-insaturés (32 %). Le lait est pauvre en acides gras essentiels (environ 3%) et comporte 11 à 15 % d'acides gras à chaîne courte ou moyenne (C4 à C12).

Le lait contient également du cholestérol (lait entier : 140 mg/litre, lait 1/2 écrémé: 90mg/litre**[47]**.

I.1.4.3. Apport en glucides

Le lactose, glucide essentiel du lait, favorise l'absorption du calcium contenu dans cet aliment. Un litre de lait, qu'il soit entier ou écrémé, apporte 50 g de lactose **[46].**

I.1.4.4. Apports en minéraux et oligo-éléments

Le lait est une source importante de calcium : 1 200 mg par litre (les besoins journaliers de l'adulte sont de 900 mg). Le calcium du lait est mieux absorbé que celui de toute autre source grâce à la présence d'éléments favorables (protéines, graisses et un peu d'acide lactique). Il

est mieux utilisé par l'organisme car le lait apporte en même temps du phosphore (rapport Ca/P = 1,4) et de la vitamine D. Le lait apporte en outre du chlorure de sodium, du chlorure de potassium, du zinc et de faibles quantités de soufre, de magnésium et de cuivre. Il ne contient pas de fer **[46, 47]**.

I.1.4.5. Apports en vitamines

Le lait entier est une source appréciable en vitamine A, la teneur en vitamine D est variable (plus élevée dans le lait d'été que dans le lait d'hiver). Presque toutes les vitamines du groupe Bsont présentes, en particulier la vitamine B12 **[46]**.

I.1.5. Importance de la consommation du lait

Le lait et les produits laitiers participent à la couverture des besoins alimentaires, certains composants peuvent jouer un rôle de promoteur de croissance ou de protecteur à l'égard de maladies notamment **[47] :**

- la casoplatéline et la casoplastrine, inhibent l'agrégation plaquettaire
- la fixation des fibrinogènes
- les phosphopeptides, chélateurs de calcium, qui expliquaient en partie la forte digestibilité du calcium chez le jeune consommant du lait.
- les casokinines, à rôle immunomodulateur et antihypertenseur
- les casomorphines, à propriétés opioïdes
- les casoxines, antagonistes des opioïdes
- la lactoferrine, glycoprotéine de transport du fer, possède des fonctionsantimicrobiennes.

De nombreuses études ont montré que la consommation des produits laitiers pouvait diminuer le risque d'apparition de certains cancers **[47]**.

I.1.6. Importance de la consommation laitière en Algérie

L'Algérie est le premier consommateur laitier du Maghreb avec un marché annuel estimé, en 2004, à 1,7 milliard de litres plus de trois milliards de litres en 2007 et une consommation moyenne de l'ordre de 100 à 110 l/habitant/an. Cette consommation augmente encore régulièrement et atteigne au moins 115 l par habitant et par an en 2010.

La production locale est évaluée à un peu moins de deux milliards,l'Algérie est donc contrainte d'importer des quantités massives de lait, dont la plus grande partie sous forme de lait de poudre qui coûte de plus en plus cher.

En Algérie, le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire car il représente la principale source de protéines d'origine animale, en 1990 par exemple, on estime que le lait a compté pour 65,5 % dans la consommation de protéines d'origine animale, devançant largement la viande (22,4 %) et les œufs (12,1 %) et cela est due surtout au coût car un gramme de protéines à partir du lait coûte huit fois moins cher que la même quantité à partir de la viande; en termes énergétiques, une calorie obtenue à partir de la viande est vingt fois plus chère que celle du lait**[48]**.

I.2. Résidus d'antibiotiques dans le lait

Le lait est l'un des aliments les plus consommés au niveau mondial, il présente aussi une source de protéines et de calcium essentiel pour la promotion de la croissance, surtout chez les enfants **[49]**. Toutefois, en raison de mauvaises conditions d'hygiène dans de nombreusesfermes laitières, les vaches ont souvent des ulcères ou des plaies sur les mamelles ceux qui nécessitent des antibiotiques pour les traiter et contrôler leur état. Les producteurs sont tenus alors, de commercialiser un produit exempt d'antibiotiques et doivent prévenir la présence de résidus illégaux d'antibiotiques dans le lait et par conséquent, il pourrait êtretrès coûteux pour les producteurs qu'un événement malheureux porte atteinte à la réputation du lait.

I.2.1. Antibiotiques

Les antibiotiques, sont des médicaments d'utilisation courante en médecine, ils sont cependant de découverte récente et ont permis de sauver de nombreuses vies. En 1897, Ernest Duchesne met en évidence les propriétés de certaines moisissures (*Penicillium glaucum*), mais ce n'est qu'en 1928 qu'Alexandre Fleming découvre "officiellement" la pénicilline, et ce n'est qu'en 1943, qu'elle sera produite industriellement. Depuis, le développement de nouveaux antibiotiques est devenu un pôle important de la recherche médicale.

Les antibiotiques sont définis par leur :

- ✓ Activité antibactérienne (spectre d'activité),
- ✓ Toxicité sélective (mode d'action),
- ✓ Activité en milieu organique (pharmacologie),
- ✓ Bonne absorption et diffusion dans l'organisme. (pharmacocinétique).

I.2.2. Différentes classes d'antibiotiques

Les antibiotiques les plus couramment utilisés chez les animaux destinés à l'alimentationpeuventêtre regroupés en sept classes : les bêta-lactamine (ex.: la pénicilline etla céphalosporine), les tétracyclines (ex.: l'oxytétracycline, la tétracycline et la chlorotétracycline), les aminoglycosides (ex.: la streptomycine et la gentamicine) **[50]**, les macrolides (ex.: l'érythromycine), les sulfamides **[51]** (ex.: la sulfaméthazine), les phénicoles et les quinolones **[52]**.

I.2.3.Définition des résidus d'antibiotiques

Selon la directive européenne (Directive 81 / 851 / CEE, 1981), les résidus sont définis comme étant « tous les principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré » **[53]**.

Aussi, les résidus sont définis comme toutes substances pharmacologiquement active, qu'il s'agit de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus desanimaux après administration des médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux. Il s'agit de traces indésirables de médicaments ou de produits phytopharmaceutiques ou de dérivés de ceux-ci dans le produit final susceptibles de nuire à la santé humaine **[53]**.

I.2.4. Nature des résidus

On distingue deux types de résidus :

- **Résidus extractibles :** Les résidus extractibles sont défini comme des résidus extraits des tissus ou des liquides biologiques en milieu aqueux acide ou basique, au moyen de solvants organiques et /ou par hydrolyse enzymatique des conjugués. Le procédé d'extraction ne doit pas détruire les substances recherchées**[53]**.

- **Résidus non-extractibles** Le résidu non extractible est obtenu en soustrayant le résidu extractible du résidu total et comprend **[53]**:

  $\rightarrow$ les résidus des médicaments incorporés par les voies métaboliques normales dans des composés endogènes (ces résidus ne posent aucun problème toxicologique);

→ les résidus liés chimiquement, issus de l'interaction des résidus de la substance-mère ou de ses métabolites avec des macromolécules (ces résidus peuvent poser un problème toxicologique).

I.2.5. Propriétés des résidus

I.2.5.1. Notion de biodisponibilités et biodisponibilités de relais

Le résidu biodisponible est le résidu dont on peut démontrer, par une méthode appropriée, qu'il est absorbé après ingestion chez l'animal de laboratoire. Dans un sens plus large, les «résidus biodisponibles» sont aussi définis comme des composés (substance-mère et les métabolites) absorbés dans le tractus gastro-intestinal et qu'on peut trouver dans lestissus et fluides biologiques des espèces animales qui l'ingèrent ainsi que dans le dioxyde de carbone expiré après métabolisation du composé **[54]**.

I.2.5.2. Notion de toxico-disponibilité

Les métabolites reconnus toxiques sont en général extractibles et donc relativement biodisponibles. Leur toxico-disponibilité est donc toujours à craindre **[55]**. Les résidus liés sont généralement peu biodisponibles. Leur toxico-disponibilité est donc faible. D'autre part, les résidus liés sont également peu accessibles à la réponse immune de l'organisme pouvant entraîner une réaction allergique **[56]**.

I.2.6. Problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques

Les problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques sont de deux ordres: sanitaires et technologiques :

- **Problèmes sanitaires**

✓ Problèmes d'allergie ;

✓ Risques toxiques ;

✓ Modification de la flore digestive du consommateur ;

✓ Risque d'antibio-resistance

- **Problèmes technologiques**

Les résidus représentent un réel problème pour les transformateurs laitiers par leurs conséquences néfastes sur les fermentations lactiques et constituent le problème majeur des accidents de fabrication.

Les bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricusLactococcuslactis)* jouent un rôle essentiel comme ferment en acidifiant le lait

(car ils transforment le lactose du lait en acide lactique et la présence de cet acide entraîne une baisse du pH ce qui permet la précipitation des protéines, le développement des arômes et l'inhibition de flores indésirables.

Les bactéries lactiques sont sensibles à de très faibles doses d'antibiotiques ainsi la présence de résidus d'antibiotiques inhibent de manière partielle ou totale la croissance de ces ferments et se traduit par de nombreux défauts notamment les accidents de fabrication du fromage, du yaourt et autres produits de fermentation du lait.

Les accidents les plus connus sont les défauts de coagulation du lait, l'insuffisance de l'égouttage et les risques de prolifération incontrôlée de germes gazogènes, insensibles aux antibiotiques telles que les *Coliformes, Bacillus, Clostridium, Proteus, Aerobacter*.

De ce fait un lait contenant des antibiotiques ou des résidus d'antibiotiques n'est pas apte à la transformation **[53]**.

I.2.7. Règlementation autour des résidus d'antibiotiques

Au début des années 1980, les progrès techniques ont permis un bon spectaculaire dans les méthodes de détection avec notamment le développement de la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP ou en anglais HPLC). La politique du zéro résidu n'était alors plus tenable car des quantités infimes de résidus étaient presque systématiquement détectées. Ces quantités détectées étaient si faibles dans la grande majorité des cas qu'il devenait important d'évaluer le danger qu'elles représentaient vraiment pour la santé publique.

Deux notions très importantes sont alors apparues dans la réglementation, afin de compléter celle de résidus : la notion de Dose Sans Effet (DSE) et la notion de Limite Maximale de Résidus (LMR ou en anglais MRL) **[53]**.

I.2.7.1. Définition de LMR

La LMR correspond à la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire, sans risque sanitaire pour le consommateur et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires **[53]**.

I.2.7.2. Principes généraux des LMR

Les LMR sont établies au nom de chaque molécule pour chaque espèce de destination et non au nom de la spécialité pharmaceutique. Ainsi par exemple, deux médicaments vétérinaires composés du même principe actif antibiotique et destinés à la même espèce, se réfèreront à la même LMR pour ce principe actif antibiotique.

Les LMR appartiennent au domaine public et n'importe quel industriel peut les utiliser sans avoir à payer de « droits ». Cependant, les études réalisées par un industriel et ayant servies à l'établissement de la LMR pour une substance (principe actif ou ingrédient) dans une ou plusieurs espèces de destination, restent la propriété intellectuelle de l'industriel.

La Directive 90/676/CEE suivie du règlement 2377/90/CEE indique que tout médicament vétérinaire destiné aux animaux de production, c'est-à-dire les animaux destinés à la consommation humaine, doit avoir une LMR pour chacun de ses principes actifs et chacun de ses ingrédients pharmacologiquement actifs et dans chacune des espèces de destination de ce médicament, afin d'obtenir une autorisation de mise sur le marché **[53]**.

Dans le cas du lait, une substance doit obtenir une LMR lait pour chaque espèce de destination, pour que son utilisation soit autorisée chez les femelles en cours de production laitière dans ces espèces de destination. Si une substance n'a pas de LMR lait dans une espèce, le médicament vétérinaire la contenant ne peut pas être utilisé chez une femelle de cette espèce en lactation. La mise en évidence de ce résidu dans le lait de cette espèce correspond à un non-respect de Autorisation de Mise en Marché (**l'AMM)**et de la réglementation sur les résidus **[53]**.

I.2.7.3. Etablissement des LMR

L'établissement des LMR est basée sur 3 concepts principaux : pratiques de production selon les Bonne Pratique Agricole (**BPA)**, le régime alimentaire (niveau de consommation par le consommateur (exposition)); et toxicité des produits phytopharmaceutiques (**PPP)**.
Les résultats des études pharmacologiques et de toxicité permettent de déterminer une Dose Sans Effet (DSE), c'est-à-dire une dose qui ne montre pas d'effets toxicologiques ou pharmacologiques dans les différentes études. Ensuite, cette DSE est divisée par un facteur de sécurité (100 à 1000) selon le profil toxicologique de la molécule pour aboutir à la Dose Journalière Admissible **[9].**

En tenant compte d'une répartition théorique des consommations quotidiennes des différentes denrées d'origine animale (foie, rein, graisse, muscle, peau, lait, œufs, miel) connue sous le nom de « panier de la ménagère » et sur la base des informations pharmacocinétiques disponibles sur le devenir de la substance dans les espèces animales de destination un industriel ou les experts du CVMP proposent les LMR à la Commission Européenne. Pour une substance donnée, sa Dose Journalière Admissible (ou Autorisée) **DJA** est ainsi répartie dans les différentes denrées du « panier de la ménagère » ce qui permet d'obtenir la LMR de cette substance dans chaque denrée.

Ainsi, les LMR sont établies dans la réglementation au niveau européen, pour chaque substance pharmacologiquement active selon une procédure bien établie afin de déterminer les quantités résiduelles ingérables lors de la consommation des différentes denrées d'origine animale **[53].**

Le tableau I.7 résume les LMR en Europe des principales molécules d'antibiotiques susceptibles d'être retrouvées dans le lait.

Tableau I.7 : LMR des principales moléculesd'antibiotiques susceptibles d'être retrouvées dans le lait**[56]**

Molécules	Familles d'antibiotique	LMR dans le lait
L'acide Oxolinique	Fluoroquinolones	0
Amoxicilline	Bétalactamine	4
Ampicilline	Bétalactamines	4
Bacitracine	Polypeptides	100
Cefacetrile	Bétalactamines	125
Cephalexine	Bétalactamines	100
Cefalonium	Bétalactamines	20
Cefapirine	Bétalactamines	60
Cefazoline	Bétalactamines	50
Cefopérazone	Bétalactamines	50
Cefquinome	Bétalactamines	20
Ceftiofur	Bétalactamines	100
Chloramphenicol	Phenicolés	0
Cloxacilline	Bétalactamines	30
Colistine	Polypeptides	50
Chlorotétracycline	Tétracyclines	100
Danofloxacine	Fluoroquinolones	30
Streptomycine	Aminoglycosides	200
Dicloxacilline	Bétalactamines	30

I.2.7.4. Législation algérienne

La législation algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêtéinterministériel (le ministère de l'économie, le ministère de l'agriculture et le ministère de lasanté et de la population) du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation

decertains laits de consommation, mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir des résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement des limites maximales de résidus **[57]**.

I.2.7.5. Délai d'attente

A. Définition

Le temps d'attente est défini comme le délai entre la dernière administration à l'animale de l'antibiotique et le moment où celui-ci ne présente plus de résidus dans ses tissus ou dans ses productions (lait, œuf).

Le délai d'attente correspond donc à la durée minimale requise entre le dernier traitement de médicaments recommandé et l'abattage ou la collecte d'aliments (exemple : lait et œufs), il est établi pour un schéma thérapeutique bien précis : espèces animales concernées, dose, rythme d'administration, voie d'administration, durée du traitement, etc.

Le respect de ce temps d'attente permet de commercialiser les denrées qui présentent des concentrations inférieures ou proches de la limite maximale des résidus garantissant la protection de la santé du consommateur **[58]**.

B. Lien entre le temps d'attente et La limite maximale des résidus

La composition du médicament vétérinaire ainsi que ses conditions d'emploi (voie d'administration, posologie) influencent la pharmacocinétique des résidus, par conséquent, le moment où les concentrations dans les denrées alimentaires sont inférieures à la limite maximale des résidus doit être déterminé. Cet intervalle de temps entre l'administration du médicament et ce moment précis constitue le temps d'attente**[58]**.

C. Méthode de calcul de temps d'attente dans le lait

Le calcul du temps d'attente est fondé sur le principe que dans 95 pour cent des groupes d'animaux traités, 95 pour cent des individus produisent un lait avec une concentration inférieure à la limite maximale des résidus (LMR), cependant le risque d'avoir une concentration dans le lait supérieure à la LMR n'est pas nulle mais reste sans danger pour le consommateur **[58]**.

- **Expression de temps d'attente**

✓ **Initialement :** le temps d'attente était exprimé sous forme d'un nombre de traite à éliminer avant de pouvoir commercialiser le lait

- ✓ **Actuellement :** compte tenu des différents types de traites rencontrées, le temps d'attente est exprimé en multiple de 12 heures, considérant que ce temps correspond à l'intervalle moyen entre deux traites. Par conséquent, il est exprimé en heures ou en jours éventuellement.

  Le temps d'attente est noté « zéro » lorsqu'il n'est pas nécessaire d'éliminer le lait après un traitement **[58]**.

I.2.8. Méthodes de dépistage des résidus d'antibiotiques

Le dépistage est effectué au moyen d'une méthode d'analyse qui donne une indicationforte de la présence d'un résidu dans un échantillon, les tests de dépistage ont pour objectifsde détecter un maximum de substances différentes à un seuil proche ou inférieur à la limite maximale des résidus. Ils doivent aussi permettre de faire rapidement des analyses sur un grand nombre d'échantillons afin de retenir qu'un faible nombre suspects à soumettre à une méthode de confirmation. Les méthodes de dépistage sont donc des méthodes qualitatives qui ont pour but de discerner les échantillons positifs des échantillons négatifs. Ces contrôles sont basés sur l'analyse d'un grand nombre d'échantillons. Les échantillons conformes sont acceptés tandis que ceux suspectés d'être non-conformes doivent être confirmés à l'aide de méthodes de confirmation.

Pour le dépistage, les tests microbiologiques présentent l'intérêt d'avoir un spectre large, néanmoins ils présentent des inconvénients tels que le manque de sensibilité à certains antibiotiques et l'éventuelle sensibilité à des inhibiteurs naturels **[58]**.

Les tests de dépistage doivent répondre aux critères suivants:

- sensibilité suffisante
- peu coûteux
- rapides
- préparation de l'échantillon réduite au minimum
- applicables à de nombreux échantillons en même temps
- détection de multi-résidus
- pas de faux négatifs
- peu de faux positifs

Il existe plusieurs méthodes de dépistage des résidus d'antibiotiques les plus répondus sont :

- **Méthode d'acidification**

C'est une méthode d'acidification au *Streptococcus thermophilus*, suivie de la confirmation par la méthode de diffusion sur gélose au *Bacillus stearothermophilus***[59].**

- **Delvotest**

C'est le test le plus utilisé, plusieurs versions sont proposées. C'est un test biologiquesimple, standardisé, fondé sur la multiplication d'un germe : *Bacillus stearothermophilus***[58]**

- **Premi® test**

C'est un test de détection mis au point pour la détection des résidusd'antibiotiques, dans la viande fraîche, le poisson ou les œufs[**61].**

- **Méthode Star ou méthode des 5 boites**

C'est une méthode de détection microbiologique des antibiotiques dans le lait,le muscle ainsi le foie gras, les crevettes, les poissons, etc.**[61].**

- **Méthodes de confirmation**

Les méthodes de dépistage doivent être complétées par des méthodes de confirmation qui sont appliquées sur les échantillons détectés positifs par les méthodes de dépistage. Les méthodes de confirmation doivent identifier sans ambiguïté la molécule de résidu et doivent pouvoir la quantifier à un niveau au moins deux fois inférieur à la LMR.

La procédure complète pour une analyse de confirmation est coûteuse en temps, en équipements et en produits réactifs. De plus, elle nécessite un personnel formé avec un bon degré d'expertise. Les méthodes de confirmation sont aujourd'hui des méthodes physico-chimiques, la confirmation des échantillons positifs se fait au moyen de méthodes analytiques comme**[58]** :

- La chromatographie liquide haute performance avec ionisation électro-spray à pression atmosphérique (HPLC-ESI) associée à la spectrométrie de masse (SM). C'est la technique de choix pour identifier et doser le chloramphénicol par exemple.
- L'HPLC-SM avec ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI en anglais).

La chromatographie liquide associée à la spectrométrie de masse en tandem est utilisée depuis le début de l'année 2002 par le laboratoire national de référence pour la confirmation

des échantillons trouvés positifs par les méthodes microbiologiques dans le cadre du programme de contrôle des résidus d'antibiotiques mis en place par la DGAl. Cette technique est également utilisée pour la confirmation des échantillons détectés positifs dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle des substances interdites telles que le chloramphénicol et les nitroimidazoles.**[58]**

II.1. Introduction

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau de trois laboratoires qui sont :

- Laboratoire d'analyses physicochimiques de la laitière Tomlait commune de Bousken, Beni Slimane,
- Laboratoire de microbiologie de la direction de la santé publique (DSP),
- Laboratoire de biologie du lycée annexe d'université de Médéa.

La partie expérimentale porte principalement sur l'étude de caractérisations physiques chimiques et microbiologique de 40 échantillons des laits crus et quelques produits laitiers vendus dans le marché de la wilaya de Médéa(10 échantillons de beurre et 10 échantillons de yaourt).

A cet égard, nous avons suit les points suivants :

- ✓ Caractérisation physicochimique des échantillons du lait.
- ✓ Caractérisation microbiologique du lait crus et des produits laitiers.
- ✓ Recherche des résidus d'antibiotiques dans les échantillons collectés parlaméthode de la Diffusion sur gélose.

II.2. Matériel et produits

Les différents matériels et produits utilisés au cours de cette étude sont regroupés dans letableau II.1.

Tableau II.1 : Matériels et produits utilisés

Matériel	Réactif
-autoclave - pH-mètre - Bain marie - Etuve - Compteur des colonies - Anses de platine - Bec bensen -Milko-tester (Master Eco) -Spectrophotomètre	- Acide chlorhydrique - Eau distillé - Solution phénophtaléine à 1 % - Hydroxyde de sodium 0.1N - Acide chlorhydrique -β-lactamine -tétracycline -eau physiologie

Dans la partie microbiologie, les différentes souches bactériennes utilisées sont:

- **Souches de** *Bacillus subtilis*

  (Réf : ATCC6631): est une bactérie résistante qui est présente dans les sols. Elle se retrouve sur des aliments qu'elle contamine. Une fois ingéré, le *Bacillus subtilis* peut être à l'origine d'une intoxication alimentaire. Dans l'industrie agroalimentaire, on utilise le *Bacillus subtilis* pour produire des enzymes du type amylase qui servent à fabriquer du pain. La bactérie entre également dans la composition de produits détergents. En pharmacie, le *Bacillus subtilis* est utile dans les traitements antibiotiques**[62].**

- **Souches de** *Bacillus stéarothermophilus*

  (Réf : ATCC7953): est une bactérie à Gram positif en forme de bâtonnet. Elle est mobile, produit des spores et est thermophile. Elle est responsable de quelques cas de toxi-infections alimentaires où il a pu être isolé en grand nombre (plus de un million par gramme) à partir des aliments suspects (viandes froides, pâtés, farces, pizza, pains complets...). Ce germe a été impliqué dans des avortements chez les ovins et, chez les bovins, il est l'agent de mammites aiguës, récidivantes malgré un traitement antibiotique (Pénicilline par exemple) qui, au vu des résultats obtenus in vitro, aurait dû être efficace. Elle est utilisée pour la recherche de résidus d'antibiotiques et de sulfamides dans le lait cru **[63]**.

- **Souches** *d'Escherichia coli*

  (Réf : ATCC11105): également appelée colibacille et abrégée en E. coli, est une bactérie intestinale (Gram négatif) des mammifères, très commune chez l'être humain. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. Découverte en 1885 par Théodore Escherich, dans des selles de chèvres, c'est un coliforme fécal généralement commensal. Cependant, certaines souches d'E. Coli peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou sepsis**[64].**

- **Souches de** *Staphylococcus aureus*

  (Réf : ATCC29213) : le staphylocoque doré (Staphylococcus aureus) est l'espèce la plus pathogène du genre Staphylococcus. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, de septicémies physiques (greffe, prothèses cardiaques). S. aureus se présente comme une

coque en amas (grappes de raisin), Gram positif etcatalase positif. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom**[65].**

II.3.Techniques de prélèvements

Au cours du prélèvement des échantillons, des instructions stérilisantes citées par HOGANeta*l*., 1999 ont été suivies**[66]**, afin de réduire le risque de contamination par les nombreux microorganismes présents sur la peau et des trayons de mamelle, ainsi que sur les mains de l'échantillonneur. Les prélèvements du lait sont placés dans une glacière munie d'accumulateurs de glace et sont acheminés aux laboratoires afin de les analyser.

Dans cette présente étude, nous avons prélevé au total 40 échantillons de lait cru, 30 échantillons ont été collectés par vache au niveau de 5 régions : Aine boussif, Bire ben Abed, Saghouane, Bousken de la wilaya de Médéa et de la wilaya de Bouira. De plus 10 échantillons du beurre de vache achetés au niveau des élevures dans les environs de Beni Slimane et 10 échantillons de yaourt achetés au niveau du marché de la wilaya de Médéa.

La distribution des échantillons selon les régions de prélèvement ainsi que leur notation sont représentées sur le tableau II.2.

Tableau II.2. Distribution des échantillons selon les régions de prélèvement

Nombre d'échantillons et leur notation	Région de prélèvement
Lait	
B(9)	BOUSKEN
A(10)	AINE BOUSSIF
S(5)	SAGHOUANE
AB(10)	BIRE BEN ABED
BR(6)	BOUIRA
Beurre	
BS(10)	BENI SLIMANE
Yaourt	
Y(10)	MEDEA CENTRE

La figure II.1montre les différentes étapes de prélèvements de lait effectués dans des flacons en plastiques et en verres stériles et étanches, clairement étiquetés et identifiés. Les échantillons obtenus ont été congelés dans les 2 heures suivants leurs prélèvement jusqu'au moment de leur analyse**[67]**.

Il faut noter ici que les échantillons qui ont subis des analyses physicochimiques n'ont pas été congelés mais ils ont été analysés directement (30min après le prélèvement**[68]**.

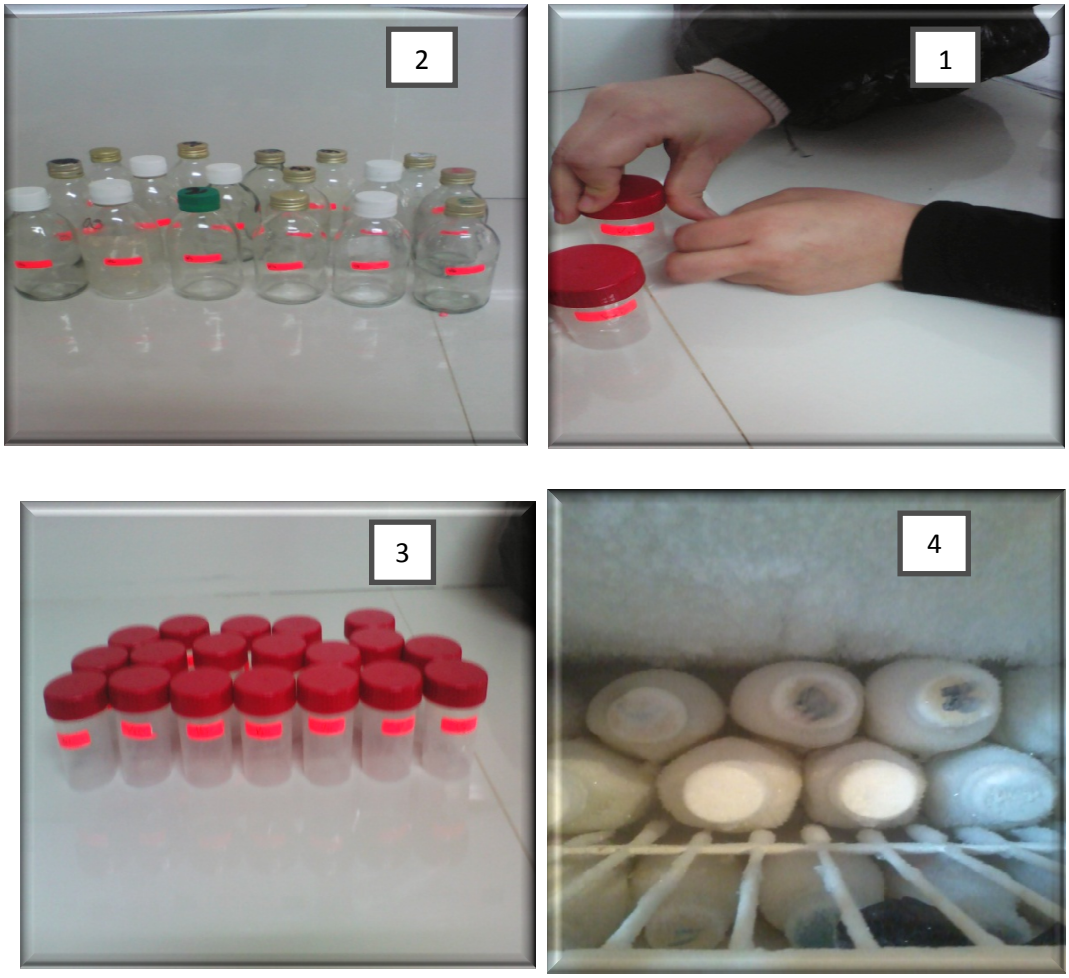


Figure II.1 : Différentes étapes de conservation du lait cru

1- Identifications des flacons, 2- Les flacons stériles en verres,

3- Les flacons stériles en plastique, 4- Le lait congelé.

II.4. Analyses physicochimiques du lait cru

Tous les échantillons du lait cru ainsi que des produits laitiers (yaourt et beurres)ont été soumis à des analyses physicochimiques appropriés.

II.4.1. Mesure de pH et la température

La mesure du pH etla température a été effectué à l'aide d'un pH-mètre de type HANA. Un volume de 10ml à 50 ml du lait cru est mis dans un bécher, le bout de l'électrode du pH-mètredoit être bien immergé dans le lait. La valeur du pH et de la température s'affiche instantanément sur l'écran comme le montre la Figure II.2.



Figure II.2. pH-mètre utilisé

Remarque : L'électrode est rincée abondamment à l'eau distillée après chaque utilisation.

II.4.2. Acidité titrable

L'acidité titrable est mesurée par un titrage acido-basique, l'acide lactique est neutralisé par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH. Un échantillon précis de 10 ml de lait est placé dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphtaléine. La solution de **NaOH (N/9)** est rajoutée (à l'aide d'une burette) jusqu'au virage au rose (voir figure II.3). La coloration rose doit persister au moins 10 secondes**[66]**.



Figure II.3. Mesure de l'acidité titrable

II.4.3. Test de formol

Ce test permet de déceler la présence de formol dans le lait. Pour ce faire, le mode opératoire suivant a été réalisé comme le montre la figure II.4**[69]**:

- Dans un tube à essai, verser 10 ml d'acide chlorhydrique concentré,
- Puis ajouter 2 ml de lait, le mélange obtenu est de couleur jaune,
- Placer le tube dans un bain marie à 37°C pendant 10 min.
- Observer le résultat (changement de couleur).
- Couleur jaune (négative),couleur bleu (positive).

II.4.4.Autres analyses

Toutes les autres analyses ont été mesuréesa l'aide d'un appareil appelé MILKO-TESTER (Figure II.4) à une température de 15 °C. Cet appareil permet de réaliser une mesure rapide et facile où la valeur s'affiche directement sur l'écran. Pour ce faire, il faut mettre un échantillon du lait (2 ml) dans une cuve auxiliaire de l'appareil, puis placer cette cuve sur l'appareil et appuyer sur le bouton correspondant aux analyses recherchées. Le résultat s'affiche directement sur l'écran. A la fin de chaque mesure, l'échantillon du lait est rejeté et la cuve est nettoyée pour une autre analyse.

Les différentes analyses réalisées à l'aide de cet appareil sont :

- La densité,
- La matiére grasse,
- La matiére non grasse (M.S.D),
- Teneur en lactose,
- Teneur en protiéne,
- Point de congélation,
- Les sels minéreaux,
- La présence de l'eau,



Figure II.4. Milko-tester (milk's analyser)

II.4.5. Test d'antibiotique

Ce test a été réalisé à l'aide d'un appareil appelé **β S.T.R Combo**. C'est une méthode de type Receptor Assay réalisée pour la recherche rapide, dans le lait, de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des β-lactames et des Tétracyclines, utilisés dans la prévention et le traitement des maladies infectieuses des femelles laitières et en particulier les mammites.

Principe de la méthode

Le test d'antibiotique est basé sur l'emploi de récepteurs spécifiques lié à des particules d'or.

Au cours de la première étape d'incubation, les antibiotiques, s'ils sont présents dans l'échantillon de lait, se lient aux récepteurs.

Pendant la deuxième étape d'incubation, le lait migre sur un support immuno-chromatographique qui présente trois bandes de capteurs :

- ✓ La première bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié de Tétracyclines.
- ✓ La seconde bande sert de référence.
- ✓ La troisième bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié de Beta lactames.(la figure II.5.)

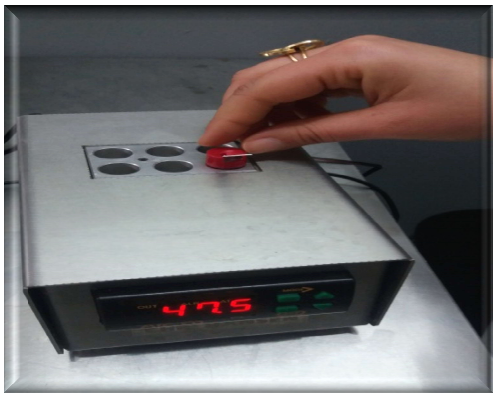


Figure II.5. Test d'antibiotique

1-Incubation de bandelette dans l'appareil

II.5. Analyses microbiologiques

L'évaluationde la qualité bactériologique du lait cruconsiste à la recherche des germes pathogènes, des germes utiles et des germes nuisibles à la conservation. Parmilesprincipaux tests réalisés nous citons le test de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FAMT) ;

Ce test est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présentes dans un produit ou sur une surface.Ce dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du produit.

II.5.1.Dénombrement de la flore aérobie mésophile total dans le lait et les produits laitiers

FAMT est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que la qualité (propreté) des installations. Leur dénombrement est effectué par la méthode classique en milieu gélosé dont les ensemencements sont réalisés en plaçant 1ml de la dilution choisie dans une boite de pétri vide et en lui ajoutant le milieu gélosé (PCA) que l'on mélange ensuite soigneusement**[70]**.

Pour chaque prélèvement, nous réalisons une dulition decimale, 10 ml d'échantillon à analyser ont été ajoutés dans un erlenmeyer à 90 ml d'eau physiologique stérile. On obtient ainsi une dilution mère de 10^{-1}à partir de laquelle des dilutions décimales jusqu'à 10^{-6}ont été réalisées.A partir des dilutions réalisées (10^{-1} jusqu'à 10^{-6}), on prélève 1 ml de chaque dilution et on le met dans une boîte de Pétri vide, puis on coule environ 15 ml du milieu gélosé PCA (Plate Count Agar) fondu au préalable au bain marie et maintenu à 45°C. Pour

homogénéiser l'inoculum à la gélose, des mouvements circulaires et des va-et-vient ont été effectués. après solidification, les boites sont incubées à 37°C pendant 72 heures**[66]**.

Les différentes étapes du dénembrement de FAMT sont données sur la figure II.6.



Figure II.6. Différentesétapes du dénembrement de FAMT

1-réalisation des dilutions dicimales 2-dépôt des échantillons diluédans les boites pétri 3-mesure du volume de milieu PCA4-Ajout de PCA dans les boites pétri

Les échantillons du beurre (figure II.7) et avant d'être analysés ont été fondus dans un bain marie à 50°C.



Figure II.7. Echantillons de beurre avant et après le fondement

Les échantillons de yaourt ont été bien homogénéisés manuellement pour faciliter les prélèvements(Figure II.8).



Figure II.8. Les échantillons de yaourt

Après l'incubation, le comptage des colonies a été réalisé en utilisant un compteur des coloniesdonné sur la figure II.9.

Il est à noter que selon la littératureles colonies sont dénombrables si leur nombre est compris entre 30 et 300. Au-dessus de 300, elles sont indénombrables, en dessous de 30 elles sont considérés trop rares pour être dénombrées.



Figure II.9. Comptage des colonies après incubation

II.5.2.Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait cru et les produits laitiers

Dans notre étude la recherche des résidus d'antibiotiques dans les échantillons étudiés a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose.

II.5.2.1.Méthode de diffusion sur gélose

La recherche de résidus d'antibiotiques dans les prélèvements collectés a été effectuée selon la méthode officielle européenne de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait (Décision de la commission 91/180/CEE du 14 février 1991) et qui est appliquée dans la communauté européenne depuis le 1er Janvier 2002 (Décision européenne 91/180.CEE ; Règlement CE N°1664/2006)**[67]**.

Cette méthode consiste en la réalisation successive de :

- Un test d'acidification qui repose sur la mise en évidence d'une éventuelle inhibition de *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis* C953 (soucheC953, CIP 5281), indiquée par le virage d'un indicateur coloré par les résidus d'antibiotiques qui seraient présents dans l'échantillon.
- Suivi par une épreuve de confirmation, correspondant à laréalisation de deux tests de diffusion en gélose l'un avec *Bacillus subtilis* à 30°C et l'autre avec *Bacillus stearothermophilus variété calidolactis* à55°C.

II.5.2.2. Principe de la diffusion sur gélose

Une souche sensible aux antibiotiques est ensemencée dans le milieu Mueller-Hinton coulé en boite de pétri. Sur cette gélose, des disques imprégnés d'antibiotique ou de l'échantillon à examiner sont déposés. Après incubation, une zone d'inhibition apparaît autour du disque contenant un antibiotique en quantité suffisante pour être actif sur la souche.

La méthode est basée sur la diffusion de substances antibiotiques imprégnées sur des disques en papier préalablement séchés qui doivent être déposés à la surface de la gélose. Les disques appliqués sur la gélose absorbent une quantité d'eau suffisante pour dissoudre l'antibiotique qui diffuse ainsi progressivement dans le milieu**[66]**.

Nous avons procédé au premier lieu au contrôle de la sensibilité des souches choisies envers quelques antibiotiques les plus utilisés pour le traitement des bovins laitiers : Streptomycine,pénicilline G et Bétalactamine.

II.5.2.3. Mode opératoire

Les différentes étapes réalisées sont :

1- **Préparation du milieu de culture** :

Le milieu de cultureMueller-Hinton a été fondu à 100°C, puis refroidi à 55°C et coulé dans des boites Pétri.

2- **Préparation de l'inoculum et ensemencement des boites de Pétri**

A partir d'une culture jeune de 24 h, une suspension bactérienne est réalisée directement à partir des colonies en solution salée pour atteindre une turbidité, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mac-Farland(10^8UFC/ml) ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 lu à 625 nm **[71]**.

Pour l'ensemencement des boites de Pétri, tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum,l'essorer en le tournant contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée,répéter l'opération 2 fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

3- **Applications des disques**

- Pour l'échantillon de lait : Mettre 2 ml de chaque échantillon à analyser dans des tubes stériles, puis les placer dans un bain marie à 80°C pendant 10 min pour éliminer les inhibiteurs naturels. Emerger les disques vierges dans chaque échantillon et laisser 2 à 3 min pour assurer une bonne imprégnation.

  A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque de chaque échantillon et le déposer dans une boite de pétri, puis l'appuyer légèrement pour l'enfoncer dans la gélose contenant la souche appropriée.
- Pour les échantillons de beurre et du yaourt, les disques vierges sont émergés directement dans chaque échantillon puis déposés dans les boites de Pétri.

4- Incubation et lecture des résultats

L'incubation est réalisée comme suit :

1- *E-Coli* : à 37°C pendant 24 heures;

2- *Staphylococcus aureu*s : à 37°C pendant 24 heures;

3- *Bacillus subtilis* : à 37°Cpendant 24 heures;

4- *Bacillus stearothermophilus :* à 55°C pendant 24heures;

Les différentes étapes de la réalisation du test d'antibiogramme sont données sur la figure II.10.

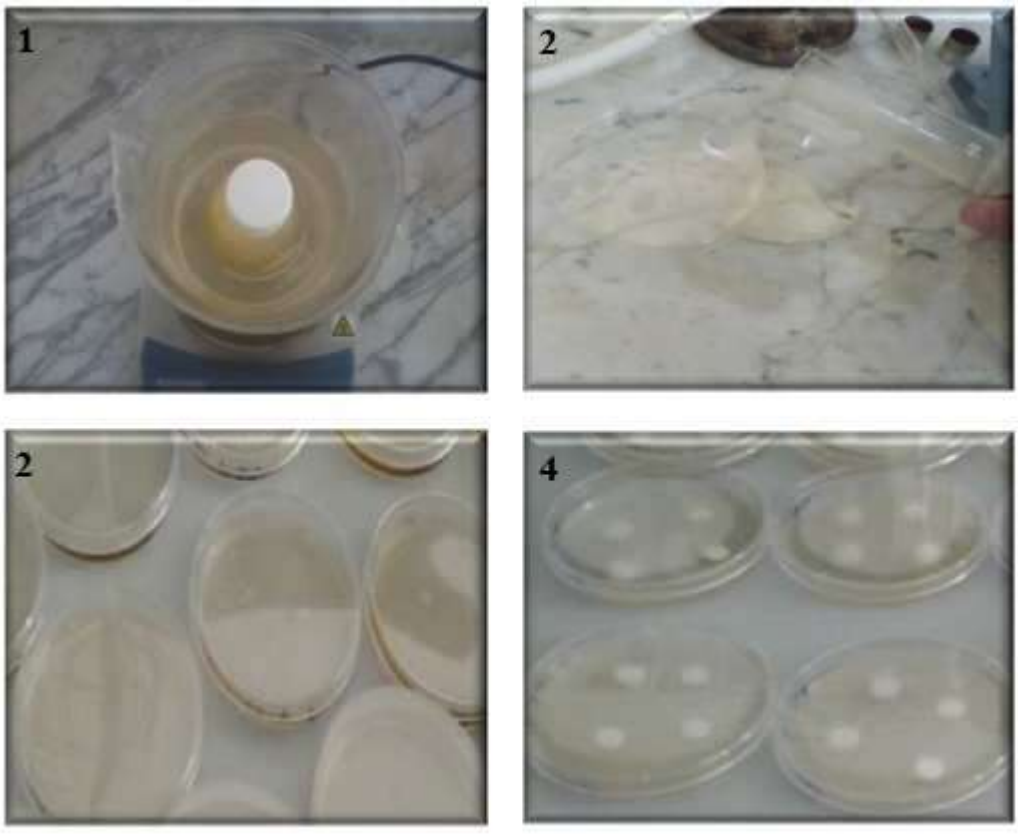


Figure II.10. Différentes étapes de la recherche des résidus d'antibiotiques

1- MH fondu ; 2- coulage des boites de Pétri ;

3- boites coulées ; 4- dépôt des disques imprégnés ;

III.1. Analyses physicochimiques du lait cru

III.1.1. Mesure du pH

Le pH a une importance exceptionnelle par l'abondance des indications qu'il donne sur la richesse du lait en certains de ces constituants, sur son état de fraicheur et sur sa stabilité. Les résultats des mesures du pH réalisées pour les 40 échantillons du lait sont regroupés dans letableau III.1.

Tableau III.1. Valeurs du pH des échantillons du lait cru

Echantillon	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
pH	6.6	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.6	6.6	6.6	6.7
Echantillon	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
pH	6.7	6.8	6.8	6.6	6.5	6.8	6.9	6.7	6.9	6.9
Echantillon	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
pH	6.8	6.7	6.8	6.9	6.8	6.7	6.9	6.9	6.7	6.7
Echantillon	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
pH	6.7	6.9	6.7	6.7	6.7	6.7	6.7	6.6	6.6	6.7
Moyenne	6.71									

Selon la norme Algérienne, le lait frais contient peu d'acide et son pH est voisin de laneutralité avec un pH compris entre 6.5-6.8 pour le lait de vache.

Les résultats obtenus montrent que les valeurs de pH varient entre 6.5 et 6.9 avec une moyenne de 6.71. Parmi les 40 échantillons, nous notons 6 échantillons dépassants la norme avec une valeur de 6.9. Cette acidité peut être expliquée par la réaction de transformation de lactose en acide lactique, la réaction se fait à cause des bactéries lactiques. Donc la valeur du pH n'est pas constante mais varie sous l'influence de plusieurs paramètres. Dans des conditions de traite traditionnelle, les variabilités sont liées au climat, au stade de lactation, à la disponibilité alimentaire, à l'apport hydrique, à l'état de santé des vaches et aux conditions de la traite**[68].**

III.1.2. Mesure de la température

La température a été mesurée après le transport dans une glacière et après l'arrivéeau laboratoire. Les résultats de la température sont représentés dans le tableau III.2.

Tableau III.2. Température des échantillons de lait

Echantillons	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
T C°	15	14.4	13.3	14	12.9	12.8	13.4	13	14	14
Echantillons	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
T C°	14.6	14.7	14	13.7	14.7	11.5	11.7	14.9	13.3	15
Echantillons	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
T C°	14.6	13.3	14.7	15	13.7	14	12.8	15	14.7	14
Echantillons	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
T C°	14	11.7	13.9	15	17.4	18	19	19	18	17
Moyenne	14.49									

Les résultats obtenus varient entre 12.9 et 19°C avec une moyenne de l'ordre de 14.49°C. Selon la littérature, il existe une certaine relation entre la température et le pH lorsque latempérature augmente, la valeur de pH augmente proportionnellement.

III.1.3. d'acidité titrable Mesure

Les résultats des mesures de l'acidité titrable sont représentés dans le tableau III.3.

Tableau III.3. Les valeurs de l'acidité titrable dans l'échantillon de lait

Echantillons	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
Acidité °D	18	18	18	18	17	18	17	18	18	17
Echantillons	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
Acidité °D	16	15	16	18	17	14	18	18	17	15
Echantillons	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
Acidité °D	16	15	15	18	17	15	14	14	15	14
Echantillons	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
Acidité °D	15	17	16	17	18	17	17	18	18	17
Moyenne	16.6									

L'acidité des échantillons de laits crus analysés est comprise entre 13 et 18°D avec une moyenne de 16.6 °D. Selon les normes algériennes l'acidité doit être inclue dans l'intervalle 14-18°D. Selon Bennacir, la moyenne reste néanmoins dans l'intervalle de 15-17,5°D. Donc les résultats obtenus sont accord avec les normes**[68].**

Il faut noter qu'entre 18°D et 40 °D, le lait caille lorsqu'on le chauffe; c'est la caséine qui flocule. Alors qu'au-delà de 40°D, il caille à température ambiante.

L'acidité du lait dépend de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions, des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et son activité métabolique et de la manutention du lait**[68]**. Ainsi, nous pouvons déduire qu'il y a une relation entre les trois paramètres suivants : pH, température et acidité. Donc, l'augmentation de la température génère un milieu favorable pour la croissance bactérienne, ces bactéries dégradent le lactose en acide lactique ce qui conduit à une augmentation de pH et de l'acidité.

III.1.4. Test de formol

Pour ce test, il faut rappeler que le résultat est basé sur le principe de changement de couleur. Selon les normes, le lait doit répondre négativement au test formol. Pour ce faire, on note que :

- ✓ S'il y a persistance de la coloration jaune, le test est donc négatif et par suite le lait est accepté.
- ✓ Si la coloration change au bleue le test est donc positif et par suite le formol est présent donc le lait est refusé.

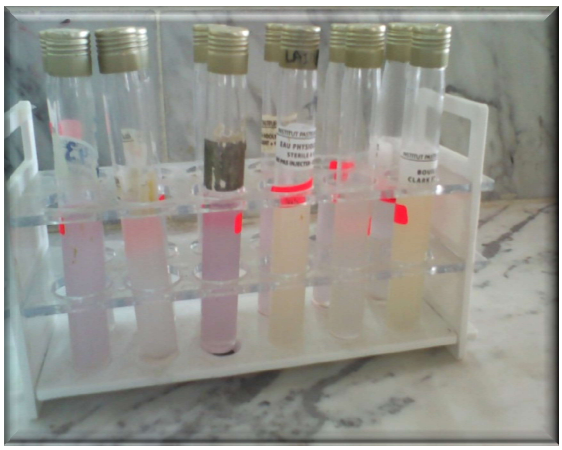


Figure III.1. Le résultat de test formol

Les résultats du test de formol obtenus sont représentés dans le tableau III.4.

Tableau III.4. Test de formol du lait cru

Echantillons	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
Formol	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+
Echantillons	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
Formol	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Echantillons	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
Formol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Echantillons	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
Formol	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Le tableau III.4, montre que 32.5 % des échantillons révèlent la présence de formol.La présence de formol rendre le lait non conforme.

Le formol dans le lait peut être à l'origine du transport de ce dernier de la nature à l'animal par la consommation. Selon la littérature, la consommation d'herbe fraîchement coupé traité au formol et renfermant 490 mg/kg de formaldéhyde libre résiduel conduit à une concentration de 1,2 mg/kg de lait. De plus, l'administration à la vache laitière d'ensilage humide et traité en vue de sa conservation, renfermant après traitement 650 mg de formaldéhyde par kilogramme de fourrage, entraîne un faible transfert dans le lait évalué à 1 % de la dose ingérée, soit 2,5 mg/kg de lait **[72]**.

III.1.5. Mesure de la densité

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.5.

Tableau III.5. Densité du lait cru

Echantillons	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
Densité	1.033	1.037	1.029	1.030	1.036	1.033	1.033	1.034	1.030	1.033
Echantillons	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
Densité	1.026	1.029	1.030	1.026	1.033	1.022	1.026	1.030	1.030	1.025
Echantillons	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
Densité	1.031	1.028	1.034	1.028	1.034	1.025	1.025	1.028	1.023	1.026
Echantillons	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
Densité	1.030	1.030	1.029	1.029	1.033	1.030	1.035	1.035	1.036	1.034
Moyenne	1.030									

La densité du lait mesurée variée entre 1.022 et 1.037 avec une moyenne de 1.030. On note ici que 22.5 % des échantillons ont une densité inferieure à la norme Algérienne (1.028-1.034) et 12.5% des échantillons ont une densité supérieure à la norme.

Les valeurs moyennes de la densité sont très faibles que celles du lait étudié par Mathieu(6,5-6,63).La densité n'est pas constante. Elle dépend de la richessedu lait en éléments dissouts et en suspension, et de la teneur en matière sèche, en matière grasse, de l'augmentation de la température et des disponibilités alimentaires. La densité est liée aussi au phénomène de mouillage pendant la saison de basse production**[68]**.

III.1.6. Mesure de la matière grasse

Les principaux résultats relatifs aux mesures de la matière grasse sont donnés dans le tableau III.6.

Tableau III.6. Les valeurs de la matière grasse dans lait cru

Echantillons	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
M.G %	2.1	15	0.9	1.9	2.9	17	1.6	1.9	10	2.8
Echantillons	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
M.G %	6	4.6	4.1	5.1	1.2	9.6	4.2	4.7	6.2	4.2
Echantillons	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
M.G %	3	3.2	3.2	3.1	2.2	6.9	5.2	3.7	6.6	5.1
Echantillons	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
M.G %	2.7	3	3.5	2.7	2.2	5.1	2	2.7	1.7	4.3
Moyenne %	4.45									

Pour la matière grasse, les valeurs varient entre 0.9 - 17 %, avec une moyenne de 4.45%. Onnote que22.5 % des échantillons sont inferieuraux normes (2.4 – 5.5)%**[25]**. La variabilité de la teneur en matière grasse dépend de facteurs tels que les conditions climatiques, le stade de lactation et l'alimentation.

III.1.7. Mesure de la matière sèche dégraissée (matière non grasse)

Les résultats des mesures de la **M**atière **S**èche **D**égraissée (**M.S.D)** sont présentés dans le tableau III.7.

Tableau III.7. Valeurs de M.S.D de lait cru

Echantillons	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
M.S.D (g/l)	9.92	10.6	8.25	10.03	10.5	9.41	9.6	9.78	8.7	9.78
Echantillons	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
M.S.D (g/l)	8.4	9.05	9.9	8.63	9.31	7.64	8.4	9.27	9.65	8.0
Echantillons	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
M.S.D (g/l)	9.13	8.46	9.3	8.57	9.73	8.49	8.04	8.67	7.80	8.42
Echantillons	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
M.S.D (g/l)	8.95	9.06	8.89	8.57	9.68	9.32	10.1	10.2	10.25	8.56
Moyenne (g/l)	9.35									

Les valeurs trouvées varient entre 0.8 et 10.6 g/l avec une moyenne de 9.35 g/l. M.S.Dest aussi liée aux plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques, l'alimentation, le stade de lactation. Ainsi, elle diminue durant le mois suivant le vêlage, puis augmente suite à l'accroissement de taux de matière grasse **[66]**.

La mesure de MSD permet le calcul de la matière sèche totale.

III.1.8. Extrait sec ou matière sèche totale

Les résultats des calculs de la matière sèche totale (MST) sont regroupés dans le tableau III.8.

Tableau III.8. Valeurs de MST

Echantillons	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
Extrait sec %	12.02	25.6	9.15	11.93	13.4	26.6	11.2	11.6	18.7	11.88
Echantillons	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
Extrait sec %	14.4	13.65	14	13.73	10.51	17.24	12.6	13.97	15.85	12.3
Echantillons	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
Extrait sec %	12.13	11.66	12.5	11.67	11.92	15.39	13.24	12.37	14.4	13.52
Echantillons	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
Extrait sec %	11.65	12.06	12.39	11.27	11.88	14.42	12.1	12.9	11.95	12.86
Moyenne	13.24 %									

Les échantillons du lait analysés possèdent des valeurs de MST varient entre 9.15 % et 17.24 % avec une moyenne de 13.24 %.On note72.5 %des échantillons ont des valeurs de

l'extrait sec inclues dans l'intervalle des normes compris entre11.4 % et 13.7 %.Les valeurs de l'extrait sec dépendent aux les conditions climatiques aussi que de l'alimentation **[68]**.

III.1.9. Teneur en lactose

Les résultats sont représentés dans le tableau III.9.

Tableau III.9. Teneur en lactose

Echantillons	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
Lactose (g/l)	54	58	45	55	57	51	52	53	47	53
Echantillons	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
Lactose (g/l)	46	49	48	47	51	41	46	50	52	43
Echantillons	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
Lactose (g/l)	50	46	51	47	53	46	44	47	42	46
Echantillons	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
Lactose (g/l)	49	49	48	47	53	51	55	56	56	55
Moyennes	49.7									

Le lactose est le substrat de la fermentation lactique des bactérieslactiques**[68]**. C'est le principal sucre dans le lait, c'est un sucre caractéristique du lait. Il est responsable de son goût sucré et de sa concentration élevée de la saveur douce et agréable du lait frais.Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre**[9]**.

Le tableau III.9**,** montre que les valeurs de la teneur en lactose varient entre 42g/l et 57g/l,avec une moyenne de49.7 g/l. donc nous notons un pourcentage de 42.5 %des échantillons dépassant la norme qui est de 40-50 g/l.

III.1.10.Teneur en protéine

Les principaux résultats sont récapitulés dans le tableau III.10.

Tableau III.10. Teneur en protéines

Echantillon	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
Protéines %	3.6	3.8	3.0	3.6	3.8	3.4	3.5	3.5	3.1	3.5
Echantillon	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
Protéines %	3.0	3.3	3.2	3.1	3.4	2.7	3.0	3.3	3.5	2.9
Echantillon	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
Protéines %	3.3	3.0	3.4	3.4	3.5	3.0	2.9	3.1	2.8	3.0
Echantillon	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
Protéines %	3.2	3.3	3.2	3.1	3.6	3.3	2.8	3.1	2.9	3.2
Moyenne %	3.23 %									

Les résultats obtenus montrent quematière protéique varie entre 2.8% et 3.8% avec une moyenne de 3.23 %. Nous notons ici que tous les échantillons répondent à la norme qui est de 2.9 % - 5%.**[25]** La teneur en protéines diminue souvent lorsque le taux d'urée dans le lait augmente.

III.1.11.Point de congélation

Le tableau III.11regroupe les principaux résultats de la détermination du point de congélation.

Tableau III.11. Les valeurs de point de congélation dans le lait cru

Echantillon	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
FP °C	-0.592	-0.674	-0.507	-0.637	-0.640	-0.592	-0.604	-0.619	-0.538	-0.625
Echantillon	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
FP °C	-0.548	-0.586	-0.571	-0.559	-0.581	-0.515	-0.586	-0.604	-0.540	-0.509
Echantillon	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
FP °C	-0.583	-0.535	-0.593	-0.542	-0.617	-0.554	-0.518	-0.553	-0.508	-0.544
Echantillon	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
FP °C	-0.566	-0.575	-0.567	-0.540	-0.614	-0.608	-0.645	-0.655	-0.650	-0.604
Moyenne	-0.54 °C									

Les résultats donnent une moyenne de -0.54 °C d'une variation de -0.675 et -0.507.Le point de congélation dépend principalement des variations saisonnières, de la race et la région

de production. Il est à noter que l'acidification du lait ou l'addition de sels minéraux abaissent le point de congélation **[67]**.

III.1.12. Seles minéraux

Les résultats des mesures de la valeur des els sels minéraux déterminées pour les 40 échantillons du lait cru étudiés sont regroupés dans le tableau III.12.

Tableau III.12. Valeurs des Seles minéraux

Echantillon	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
SL mg /l	0.7	0.8	0.6	0.8	0.8	0.7	0.7	0.8	0.7	0.8
Echantillon	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
SLmg/l	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.6	0.7	0.7	0.7	0.6
Echantillon	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
SL mg/l	0.7	0.6	0.7	0.7	0.7	0.6	0.6	0.7	0.6	0.6
Echantillon	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
SL mg/l	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.7
Moyenne	0.71									

Les échantillons du lait étudiés possèdent une teneur en sels minéraux qui tourne au tour de0.7mg/l.La composition minérale est variable selon les espèces, les races, le moment de lactation et les facteurs de zootechniques. D'après YAGIL 1985 ; le taux de sels minéraux du lait varie dans une large gamme de mesure, selon l'apport alimentaire. **[67]**.

III.1.13. Présence de l'eau

Ce test a pour objectif de déterminer la quantité d'eau ajoutée dans le lait par les éleveurs pour avoir une grande quantité de lait et donc gagner plus d'argent.

Les résultats de cette analyse montrent que tous échantillons testés révèlent une absence totale d'addition de l'eau. C'est-à-dire le lait testé est à 100% naturel.

III.1.14. Test d'antibiotique

Les résultats du test d'antibiotique sont représentés sur la figure III.2 où nous remarquons que si la bandelette contient deux tris le test est considéré positifs et l'échantillon contient des résidus d'antibiotique. Dans le cas où la bandelette contient trois tris (voir figure III.2) le test est négatif et l'échantillon du lait est exempt d'antibiotique.

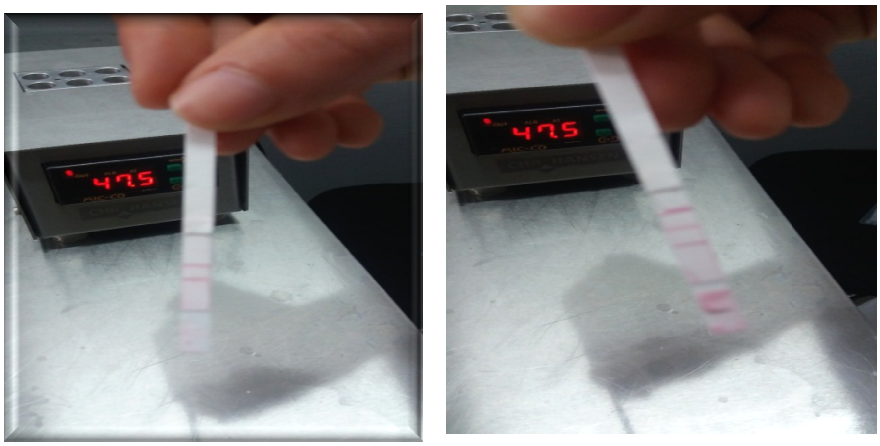


Figure III.2. Test d'antibiotique

2- Résultat positif3- Résultat négatif

Les principaux résultats relatifs eu test d'antibiotique sont donnés sur le tableau III.14.

Tableau III.14. Résultats du test d'antibiotique

Echantillons	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**A1**
ATB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Echantillons	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**
ATB	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Echantillons	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**
ATB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Echantillons	**AB7**	**AB8**	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
ATB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

L'analyse des résultats donnés sur le tableau III.14, nous a permis d'enregistrer 80 % des échantillons négatifs c'est-à-dire des échantillons exempts des résidus d'antibiotiques (Beta lactamine et tétracycline). Par contre, nous avons noté 20 % qui donnent des résultats positifs donc ces derniers possèdent les résidus des antibiotiques.

III.2. Analyses bactériologiques

La flore mésophile aérobie nous renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait cru, elle est considérée comme le facteur déterminant la durée de conservation du lait frais.C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques. Dans notre étude, nous avons procédé à la détermination de FAMT dans les 40 échantillons du lait et aussi dans les échantillons du beurre et du yaourt.

III.2.1.Dénombrement de FAMT dans le lait

Les résultats obtenus pour FAMT sont représentés dans le tableau III.15.

Tableau III.15. Résultats de FAMT des échantillons de lait

Echantillon	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**	**B6**	**B7**	**B8**
FAMT	$2{,}2.10^6$	4.10^5	$0{,}9.10^5$	$3{,}27.10^6$	$2{,}7.10^5$	$3{,}54.10^6$	$2{,}9.10^6$	$1{,}09.10^6$
Echantillon	**B9**	**A1**	**A2**	**A3**	**A4**	**A5**	**A6**	**A7**
FAMT	$3{,}4.10^5$	3.10^5	$5{,}45.10^5$	$2{,}5.10^5$	$7{,}9.10^6$	$1{,}54.10^5$	$1{,}63.10^7$	$2{,}02.10^7$
Echantillon	**A8**	**A9**	**A10**	**S1**	**S2**	**S3**	**S4**	**S5**
FAMT	$4{,}5.10^5$	$1{,}16.10^7$	$2{,}02.10^7$	$1{,}03.10^6$	$1{,}28.10^7$	$3{,}22.10^7$	$1{,}34.10^6$	$1{,}09.10^6$
Echantillon	**AB1**	**AB2**	**AB3**	**AB4**	**AB5**	**AB6**	**AB7**	**AB8**
FAMT	$1{,}54.10^6$	$1{,}08.\ 10^6$	$3{,}63.10^6$	$6{,}18.10^5$	$4{,}18.10^6$	$2{,}83.10^7$	$2{,}45.10^5$	$1{,}9.10^6$
Echantillon	**AB9**	**AB10**	**BR1**	**BR2**	**BR3**	**BR4**	**BR5**	**BR6**
FAMT	$1{,}82.10^6$	$1{,}37.10^7$	$2{,}18.10^6$	$4{,}18.10^6$	$2{,}2.10^6$	$5{,}6.10^5$	$2{,}9.10^5$	$1{,}32.10^5$
Moyenne	$2{,}6.\ 10^7$							

L'énumération de FAMT pour les 40échantillons de lait cru a montré qu'il y a une contamination importante du lait cru analyser. En effet, nous avons relevé que 65% des échantillons analysés ont une flore totale qui se situe entre $0{,}9.\ 10^5$ et $3{,}22.\ 10^7$ UFC/ml. Par contre on note seulement 35% des échantillons ayant une flore totale inférieur à 10^6 UFC/ml.Ces seuils de contaminations en flore totale dépassent la norme fixée à 10^6UFC/ml. Ils sont également supérieurs aux charges maximales tolérées par les deux réglementations française et américaine qui sont respectivement de $5.\ 10^5$ UFC/ml et $3.\ 10^5$ UFC/ml **[73]**. Ceci s'explique par un grand degré de contamination cumulé de la production à l'arrivée du lait au consommateur.

Ainsi, nos échantillons sont de mauvaise qualité au vu des normes algériennes qui fixent le seuil de contamination à 10^5 UFC/ml et ce malgré les basses températures enregistrées au cours de la période de la réalisation de cette étude.

Cette mauvaise qualité est purement la résultante d'une situation de négligence des plus simple règles d'hygiène dans certaines exploitations tel que : le lavage du pis avant et après la traite. Aussi, la traite manuelle augmente les possibilités de contamination du lait, en accroissant la surface de contact entre le lait et les micro-organismes du milieu ambiant, surtout lorsque ce dernier est souillé.**[73]**

III.2.2. FAMT des échantillons du yaourt

Les résultats d'analyse de FAMT réalisée pour dix échantillons de yaourt sont représentés dans le tableau III.16.

Tableau III.16. Résultats de FAMT du yaourt

Echantillon	**Y1**	**Y2**	**Y3**	**Y4**	**Y5**
FAMT	$3.18\ 10^4$	$4.5\ 10^4$	$1.18\ 10^4$	$1.8\ 10^4$	$3.45\ 10^4$
Echantillon	**Y6**	**Y7**	**Y8**	**Y9**	**Y10**
FAMT	$2.3\ 10^4$	$5.05\ 10^4$	$1.9\ 10^4$	$3.6\ 10^4$	$1.1\ 10^4$
Moyenne	$3.16\ 10^4$				

Les échantillons du yaourt examinés contiennent une charge variable de la FAMT située entre $1.1\ 10^4$ et 5.0510^4 UFC/ml avec une moyenne de l'ordre de $3.16\ 10^4$ UFC/ml. En effet, on constate de tous les échantillons du yaourt analysés possèdent une flore totale ne dépassant pas la norme qui est $5\ 10^4$ UFC/ml.

Ces résultats signifiés que les échantillons du yaourt ont été fabriqués en suivant les bons pratiques de fabrication et d'hygiène. Par ailleurs, l peut trouver sa justification par le fait que les échantillons du yaourt ont été achetés directement après leur fabrication (les deux premiers jours).

III.2.3. FAMT des échantillons du beurre

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.17.

Tableau III.17. Résultats du FAMT du beurre

Echantillon	**B1**	**B2**	**B3**	**B4**	**B5**
FAMT	$1.1\ 10^5$	$2.4\ 10^5$	$1.9\ 10^5$	$7.4\ 10^5$	$1.27\ 10^6$
Echantillon	**B6**	**B7**	**B8**	**B9**	**B10**
FAMT	$1.81\ 10^5$	$6.7\ 10^5$	$4.8\ 10^5$	$0.59\ 10^5$	$2.9\ 10^5$
Moyenne	$3.08\ 10^5$				

Le dénombrement de FAMT pour les 10 échantillons du beurre de vache a montré qu'il y a également une contamination du beurre analysé. On note que 90% des échantillons analysés ont une flore totale dépassant la norme algérienne (10^5 UFC/ml). Par contre, il y a 40% des échantillons ayant une flore totale dépassant les charges maximales tolérées par les deux réglementations française et américaine qui sont respectivement de $5\ 10^5$ UFC/mlet $3\ 10^5$ UFC/ml.

Ces résultats montrent que l'utilisation des méthodes traditionnelles pour la fabrication du beurre de vache ainsi que le non-respect des conditions d'hygiène augmentent la possibilité de contamination de ce genre de produits**[73]**.

III.3. Recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers

III.3.1.Méthode de diffusion sur gélose

III.3.1.1. Contrôle de la sensibilité des souches

Il faut rappeler que nous avons procédé au premier lieu au contrôle de la sensibilité des souches choisies envers quelques antibiotiques. Les souches utilisées sont connues pour leurs sensibilités à certaines familles d'antibiotiques qui sont données dans le tableauIII.18.

Tableau III.1.18. Familles d'antibiotiques détectées par les bactéries étudiées

Microorganisme testé	**Antibiotique recherché**	**Familles**
B.subtilis	Streptomycine	Aminosides
B.Stearothermophilus	Pénicilline G	Pénicilline
E. coli	Amoxicilline	Bétalactamine
Staphylocoques	Oxacilline Amoxicilline	Bétalactamine Bétalactamine

La figure III.3 représente un exemple des résultats du contrôle de la sensibilité des souches choisie. La comparaison des diamètres des zones d'inhibition obtenus avec ceux du tableau de référence (tableau III.19) nous a permis de juger toutes les souches sensibles à tous les antibiotiques testés. Donc ces souches ont été utilisées comme souches détectrices des résidus d'antibiotiques pour la suite du travail.

Tableau III.19. Références pour la lecture de l'antibiogramme**[75]**

Antibiotiques	**Souche sensible (S) si D (mm) est**	**Souche résistante (R) si D (mm) est**
Pénicilline G (Bétalactamine)	**≥ 29**	**< 29**
Oxacilline(Bétalactamine)	**≥ 23**	**≤16**
Streptomycine (aminoside)	**≥15**	**≤13**
Chlorotétracycline (tétracycline)	**≥24**	**≤19**

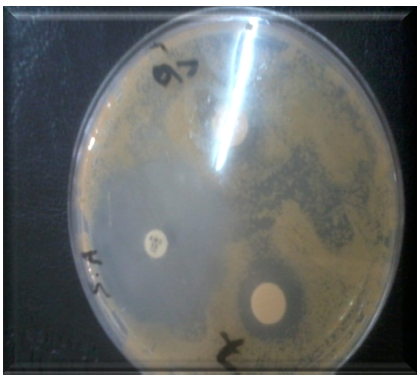


Figure III.3.Résultats du contrôle de la sensibilité des souches

III.3.1.2. Test de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le lait

Après incubation, la présence d'antibiotiques se manifestepar la formation des zones d'inhibition autour de l'échantillon testé comme le montre la figure III.4.



Figure III.4. Résultats du test de recherche des résidus d'antibiotiques

Sur les 40 échantillons de lait testés avec les quatre souches de *B. stearothermophilus, B. subtilis, E. coli et Staphylocoques*8 échantillons se sont révélés positifs, soit un taux de 20% contre 80 % des échantillons montrant un résultat négatif comme représenté sur la figure III.4.

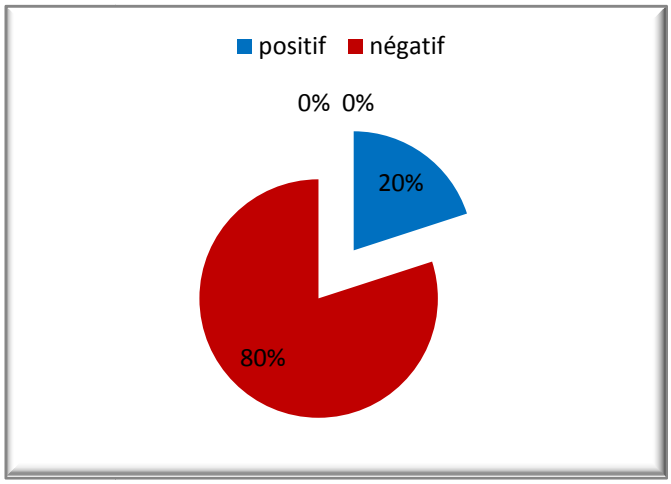


Figure III.5. Résultat du pourcentage des échantillons négatifs et positifs des 40 échantillons de laits cru

Sur les 40 échantillons testés aux résidus d'antibiotiques (voir Tableau III.20) :

1. aucun échantillon n'a donné un résultat positif pour les résidus d'aminosides, les zones d'inibitions mesurées sont inferieures à 13 mm des colonies de *B. subtilis.*

2. six (6) échantillons ont présentés une zone d'inhibition annulaire de *B.stearothermophilus* avec un diamètre maximal de24 mm. Ces échantillons ont été par conséquent considérés comme positifs pour les résidus de pénicilline .
3. seuls deux (2) échantillons se sont révélés positifs pour les résidus de Bêtalactamines (oxacilline) et ceci par l'apparition d'une zone circulaire de 17 mm des colonies de *Staphylocoques.*
4. Acun échantillon n'a donné un résultat positif pour les résidus Amoxicilline, les zones d'inibition sont inferieures à 10 mmdes colonies de *E.Coli.*

Tableau III.20. Nombre des échantillons positifs pour chaque espèce

Espèce	**Nombre positif**
B.*subtilis*	0
B.*stéarothermophilus*	6
Staphylocoques	2
E. coli	0

La distribution des résultats positifs selon chaque région est représentéesur la figure III.5.

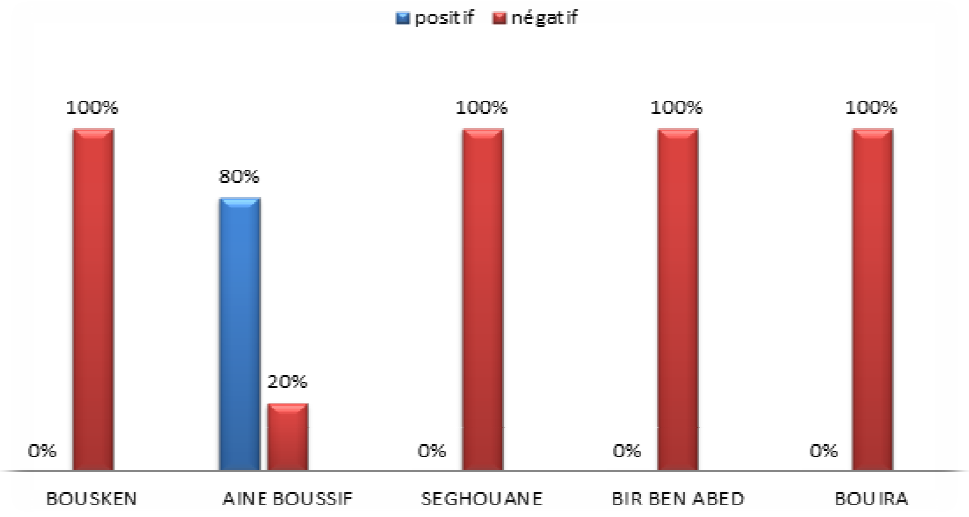


Figure III.6. Résultats des échantillons positifs et négatifs par région

A partir des résultats donnés sur la figure III.5, on peut dire que seuls les échantillons provenant de la région d'Ain Boussif qui ont révélés la présence des résidus d'antibiotiques avec un taux de positivité de 80%. Les échantillons des quatre autres régions (Bousken, Saghouane, Bireben Abed et Bouira) ont montrés un taux de négativité de 100%.

III.3.1.3. Test de la recherche des résidus d'antibiotiques dans le beurre de vache et le yaourt

Les résultats du test de la cherche des résidus d'antibiotiques réalisé par la méthode de diffusion sur gélose dans les différents échantillons du beurre de vache ainsi que les 10 échantillons du yaourt sont représentés dans la figure III.7.

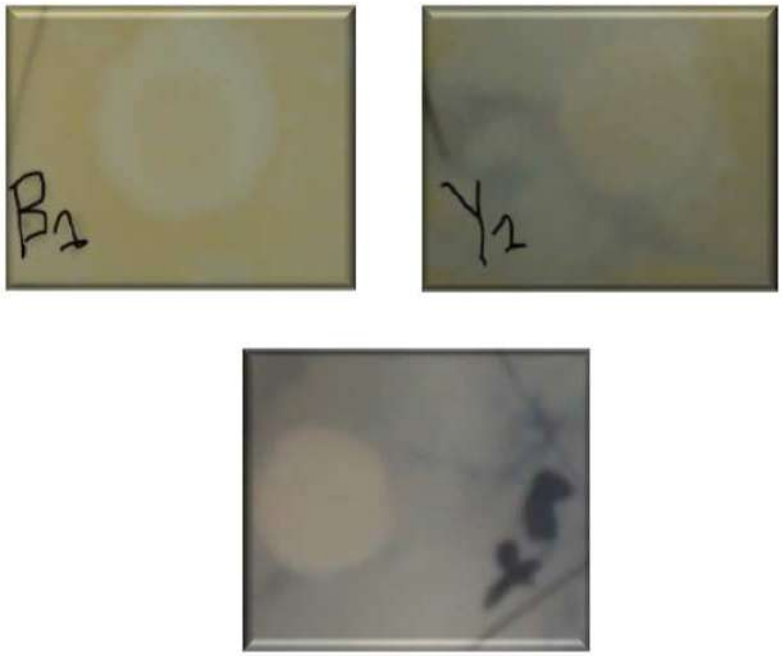


Figure III.7. Zones d'inhibition obtenues pour les échantillons positifs du beurre et du yaourt.

Sur les 10 échantillons de beurre de vache testés, nous avons relevé 4 échantillons positifs, soit un taux de 40%, alors que 6 échantillons sont trouvés négatifs, soit un taux de 60%. De même pour les 10 échantillons du yaourt, nous avons enregistré 20% d'échantillons positifs contre 80% négatifs (voir Figure III.8).

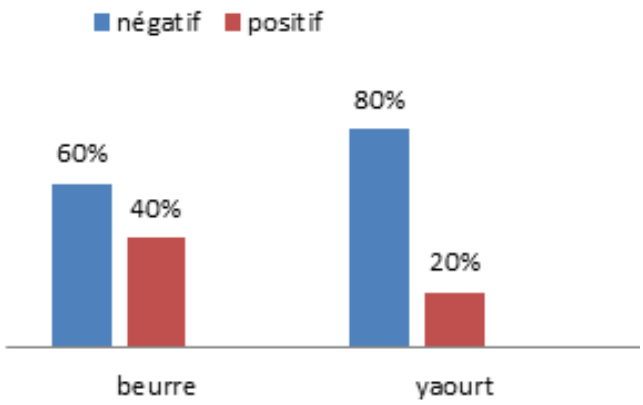


Figure III.8. Résultats des échantillons positifs et négatifs pour le beurre et le yaout

III.3.1.4. Possibilité d'identification des antibiotiques recherchés au niveau deséchantillons positifs

La répartition des échantillons trouvés positifs aux différents antibiotiques est donnée dans le tableau III.21.

Tableau III.21. Répartition des échantillons positifs par rapport aux antibiotiques recherchés

Familles	**Bétalactamine**	**Aminoacides**	**Tétracycline**	**Bétalactamine**	**Bétalactamine**
Antibiotique	Amoxicilline	Streptomycine	Chlorotétracycline	Oxacilline	Pénicilline G
Lait					
Nombre	00	00	5	2	1
Pourcentage	00 %	00 %	12.5 %	5 %	2.5 %
Beurre					
Nombre	00	00	3	1	0
Pourcentage	00 %	00 %	30 %	10 %	00 %
Yaourt					
Nombre	00	00	00	2	00
Pourcentage	00 %	00 %	00 %	20 %	00 %

III.3.1.5. Conclusion

Les valeurs positives enregistrés pour les échantillons du lait cru analysés peut être lié aux facteurs suivants :

- ✓ Eleveurs qui ne connaissent pas ou ne respectent pas les règles d'utilisation des antibiotiques chez les animaux.
- ✓ Administration par voie galactophore d'un ou de plusieurs antibiotiques; ces traitements représentent la première cause de résidus d'antibiotique dans le lait.
- ✓ Usage massif et incontrôlé des préparations pharmaceutiques intra-mammaires pour le traitement et la prévention des mammites bovines, qui représentent également un des principales causes de contamination du lait par des résidus d'antibiotiques.
- ✓ Le non-respect du délai d'attente.

Conclusion générale

A travers cette étude, on s'était proposé à la caractérisation physicochimique et microbiologique du lait cru de vache et quelques produits laitiers à savoir le beurre de vache et le yaourt commercial. Ainsi, 40 échantillons de lait cru, 10 échantillons du beurre de vache et 10 échantillons de yaourt ont fait l'objet d'une étude physico-chimique. Nous avons également fait une étude microbiologiqueportant sur 4 souches.

Dans la première partie de cette étude, nous nous sommes intéressés à la caractérisation physicochimique de 40 échantillons de lait cru provenant de quatre régions de la wilaya de Médéa, et la cinquième région de la wilaya de Bouira. Les résultats des analyses physicochimiques sont généralement, compris dans des intervalles proches des normes internationales retenues pour ce produit, avec un pH proche de la neutralité (6.71), une moyenne de densité de 1.030 et une acidité titrable moyenne de 16.6°D. De plus tous les échantillons sont trouvés riches en lactose avec des teneurs comprises entre 42 g/l et 58 g/l dont 42.5%d'entre eux dépassent la norme. Toutefois, une contamination avec le formol est détectée chez 32.5% des échantillons analysés.

D'une autre part, le dénombrement de FAMT pour les 40 échantillons de lait cru a montré qu'il y a une contamination flagrante des laits crus analysés. En effet, 65% des échantillons analysés, ont une flore totale dépassant la norme fixée à 10^6UFC/ml. Quant aux échantillons des produits laitiers testés, un taux de contamination de 40% est enregistré pour les 10 échantillons de beurre de vache testés, alors que tous les 10 échantillons du yaourt analysés possèdent une flore totale en accord avec la norme de $5 .10^4$ UFC/ml.

Dans la deuxième partie, la caractérisation microbiologique réalisée par la méthode de diffusion sur gélose portant sur quatre souches (*B.Stearothermophilus, B. subtilis, E.Coli* et *staphylococcus)* comme micro-organismes test, a permis d'obtenir les résultats suivants:

- ✓ 20 % des échantillons du lait cru donnent un résultat positif dont 2.5 % sont attribués aux résidus de la pénicilline G, 5 % aux résidus d'oxacilline et 12.5% sont contaminés par les résidus de chlorotétracycline.

- ✓ 40 % des échantillons de beurre ont été avérés positifs dont 30% sont attribués aux résidus de chlorotétracycline et 10% aux résidus de d'oxacilline.
- 20 % des échantillons de yaourt donnent un résultat positif attribués tous aux résidus d'oxacilline.

En fin, il faut signaler que ce travail est loin d'être achevé, et il serait intéressant depoursuivre cette recherche en utilisant d'autres moyens surtout pour le dépistage des résidus d'antibiotiques comme les kits rapides de détection : Delvotest®, Copan test……ainsi que les méthodes physiques de confirmation comme HPLC.

Références bibliographie

[1] : Alais C. (1975). Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.

[2] : Deforges J, Derens E, Rosset R. et Serrand M. (1999). Maitrise de la chaine du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc, Paris.

[3]: Codex Alimentarius. (1999). Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999. Pp: 1-4.

[4]: Larousse agricole, 2002, 767p. http://www.larousse.fr/archives/agricole

Date de consultation:02.05.2016

[5]: Mme. Benhedane QUALITE MICROBIOLOGIQUE DU LAIT CRU DESTINE A LA FABRICATION D'UN TYPE DE CAMEMBERT DANS UNE UNITE DE L'EST ALGERIEN

[6] : Roudaut H. et Lefrancq E. (2005). Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.

[7] : Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008). Biochimie alimentaire, Dunod 6emeédition. Paris. PP: 86-88.

[8] : Mathieu J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.

[9] : Goursaud J, (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

[10] : Boutonnier JL. (2008). Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320), Paris.

[11] : Madji A. (2009). Séminaire sur les fromages AOP ET IGP.INAT. Tunisie.

[12] : Goy D, Häni JP, Wechsler D. et Jakob E. (2005). Valeur de la teneur en caséine du lait de fromagerie. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Gruyère N°27f.

[13] : Cayot P. et Lorient D. (1998).Structures et Techno fonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.

[14] : Marchin S. (2007). Dynamique de la micelle de caséines : caractérisation structurale. Thèse INRA/ Agrocampus Rennes.

[15] : Ramet J.P. (1985). La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection FAO Alimentation et nutrition n°48.

[16]: Luquet F. M. (1985). Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

[17] : Gordon B. et Loisel W. (1991). Dosage des protéines. Dans : Multon J.L., Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agronomiques. Vol 4, 2éme édition, Tec& Doc, Lavoisier, Paris.

[18] : Alais C. (1975). Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.

[19] : Alais, C. 1984. Science du lait - principes des techniques laitières. Paris, Editions Sepaic. 4c éd. 814 page.

[20] : FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.

[21] : Blanc B. (1982). Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale. International dairy journal, 62. PP:350-395

[22] : Pougheon S. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

[23] : Miranda G. et Gripon J-C. (1986). Origin, nature and technological significance of proteolysis in milk.International dairy journal, n°66. PP:1-18.

[24] : Debry G. (2001). Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

[25] :pdf

Appréciation de la qualité physico-chimique du lait frais en rapport avec les pratiques d'élevage dans les élevages autour de la ville de Kaolack au Sénégal. Page 44.

[26] : Seydi M. (2004). Caractéristiques du lait cru. EISMV, laboratoire HIDAOA, 12p
[]Alais C. (1984). Sciences du lait: principes des techniques laitiers, 4ème édition
Paris : Edition SEPAIC , 814p.

[27] : Boivert C. (1980). Contribution à l'étude de la contamination du lait : mise en évidence de virus dans le lait cru par microscope électronique. Thèse : Med. Vét., Toulouse, 66.

[**28**]: Amarglio S. (1986). Contrôle de la qualité des produits laitiers : analyse physique et chimique, 3ème édition Paris : AFNOR ; ITSV, 1030p.

[29] : Ndiaye M. (1991). Contribution à l'étude comparée de la qualité microbiologique des laits crus, caillés et lait en poudre commercialisés dans la région de Dakar. Thèse : Méd. Vét. Dakar, 17.

[30] :SAHRA 24MEMOIRE
Greaume M.O.A. (1975). Le lait : ce qu'il doit être, comment l'obtenir. Thèse :
Méd. Vét. Toulouse, 90. Lhoste F. (2009). Limites de l'application de la méthode de conservation du
[31] : Gripon JC., Desmazeaud MJ., Le Bars D. et Bergère JL. (1975). Étude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. Influence de la présure commerciale. Le Lait 55.pp: 502-516

[32] : Institut de l'élevage. (2009). Traite des vaches laitière. Matériel. Installation. Entretient. 1ere Edition France Agricole. Produire mieux. pp :55-506.

[33] : 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.

[34]: Robinson R.K. (2002). Dairy microbiology handbook.The microbiology of milk and milk products.Third edition.Edition John Wiley and sons, INC.New York.780p.

[35]: Adda J., Gripon J. C. etVassel L. (1982).The chemistry of flavor and texture generation in cheese. Food chemestry .pp : 9,115 - 129.

[36] : Cuq J.L. (2007). Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.

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

[38]: Guiraud J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. pp : 136-139.
[39]: Varnam A.H. et Sutherland P. (2001). Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series.An Aspen Publication. New York. pp: 35-37.

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

[41] : Leyral G. et Vierling É. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4e édition Biosciences et techniques. 87p.

[42]: Jakob E., Winkler H. et Haldemann J. (2009). Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Nº 77. F. pp :5-31.

[43]Cremo. (2003). Problèmes de qualité du lait ? – Causes possibles et mesures à prendre. brochure 1ere édition Paris. 3p

[44]: site web :http://www.fao.org/docrep/t4280f/T4280F09.htmail

Date de consultation:27.05.2016

[45]: Site web : Le Lait ,2007 http://www.wikipedia.fr.org,Date de consultation 29.4.2016

[46] :site web (2004). Le lait Cours de nutrition université de Nantes http://www.uvp5.univ-paris5.fr, Date de consultation :27.05.2016

[47] : Enjalbert. F (2002)Qualité nutritionnelle et diététique du lait en alimentation humaine

Revue : Bulletin des GVT, n°15, Avril-Mai-Juin, 2002, p. 57-58.

[48] :BOULTIF.L.(2009).Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le lait par chromatographie liquide haute performance(HPLC).Thèse de magistère en médecine vétérinaire de l'université Mantouri de costantine.p30-33,p39,40,42,44

[49]: Victoria Samanidou, S.N., Multi-residue methods for confirmatory determination of

antibiotics in milk. Journal of Separation Science, 2008.31(11): p. 2068-2090.

[50]: Bogialli, S., et al., Simple confirmatory assay for analyzing residues of

aminoglycoside antibiotics in bovine milk: hot water extraction followed by liquid

Chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 2005.

1067(1-2): p. 93-100.

[51]: Rubies, A., et al., Validation of a method for the analysis of quinolones residues in

Bovine muscle by liquid chromatography with electrospray ionisation tandem mass

Spectrometry detection. Talanta, 2007. 72(1): p. 269-276.

[52]: Schenck, F.J. and P.S. Callery, Chromatographic methods of analysis of antibioticsin milk. Journal of Chromatography A, 1998. 812(1-2): p. 99-109.

[53]: STOLTZ .R.(2008).Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale :Evaluation et maitrise de ce danger. Thèse de doctorat en Médecine-Pharmacie de l'université Claude-Bernard-Lyon I. p14, p25, 55, p57, 59.

[54] : Dziedzic E.Les résidus de médicaments vétérinaires anthelminthiques

Thèse de Doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 1988, n°99, 192p

[55] : Labie C.Actualités et réalités du problème des résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale 2nd Entretien de Bourgelat, ENVL, 21-23 octobre 1982, Edition du Point vétérinaire,(2), p149-160

[56] : Fabre. J.M, Bouquet. O, Petit. C (2006)Extrait du livre : Comprendre et prévenir les risques de résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale, p. 25-47.

www.editions.educagri.fr/publication/extrait.pdf, Date de consultation:09.05.2016

[57] : pdf : (1993)

Arrêté interministériel (ministère de l'économie, ministère de l'agriculture et ministère de la santé et de la population) du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.pdf N°69,32 éme année.

[58] : BOULTIF.L.(2009).Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le lait par chromatographie liquide haute performance(HPLC).Thèse de magistère en médecine vétérinaire de l'université Mantouri de costantine.p30-33,p39,40,42,44.

[59] :pdf: (2005)

Dossier de reconduction de la validation AFNOR du test Beta-star

Valérie GAUDIN – AFSSA Fougères 15 Juin 2005

http://www.afnor-validation.org/rapports-synthese/pdf

Date de consultation le 24/04/2016

[**60] :** SCIPPO M.L., MAGHUIN.REGISTRER G., Résidus et contaminants des denrées alimentaires : méthodes biologiques de dépistage, Méd. Vêt, (2006), pages 150-125-130.

[61]: VALERIE G., REGINE F.: protocol STAR, Screening Test for Antibiotic Residues.

[62]: Site web:

http://sante-medecine.commentcamarche.net/faq/32797-bacillus-subtilis definition

Date de consultation:25.04.2016.

[63]: Site web: http://yh35.voila.net/bacteries/bacillus.htm

Date de consultation:25.04.2016

[64]: Sites web : http://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli:date de consultation:25.04.2016

[65]: Site web: http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/staphylococcus-aureusfra.php.

Date de consultation:25.04.2016

[66]:DEBOUZ A, GUERGUER L, HAMID OUDJANA A.Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de Ghardaïa.Page 3.

[67]: Meriem-Hind Ben-Mahdi.Mise en Évidence De Résidus d'Antibiotiques Dans le Lait de vache Produit Dans l'Algérois. Page 3.

[68]: Hicham LABIOUI (1), Laarousi ELMOUALDI (1),Abderrahim BENZAKOUR, Mohamed EL YACHIOUI (1),ETUDE PHYSICOCHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DE LAITS CRUS. Page 08

[69]: Ghazi .K. (2011) .Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie). Page 195 ;(196).

[70]: Melle CHETHOUNA Fatma. Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologiques du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le Lait camelin cru.Page 34.

[71]:pdf
Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale. Document édité avec collaboration de l'OMS, Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques

[72] : Antoine PUIGSERVER, Evaluation des risques liés à l'utilisation du formaldéhyde en alimentation animale, afssa, 2004, 27-31, avenue du Général Leclerc BP 19, 94701 Maisons-Alfort cedex

[73] :COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE