

## TP N° 1 : CONTROLE ET ANALYSE DU LAIT CRU

Le prélèvement a été fait pendant la traite à partir du pis de la vache ou de bidon après la traite en utilisant un flacon stérile. L'échantillon est transporté au laboratoire dans une glacière pour être analysé.

### a- Dilution

Près d'un bec bunsen, à partir du flacon, on prélève à l'aide d'une pipette graduée 1ml de ce lait qu'on met dans 9 ml de diluant préalablement préparé, on obtient alors la dilution 1/10. A partir de cette dilution on prend 1ml qu'on introduit dans un autre tube contenant 9 ml de diluant on obtient alors la dilution 1/100....., ainsi de suite jusqu' à la dernière dilution voulue. Une fois les dilutions préparées, on recherche les germes après ensemencement des milieux de cultures. Le diluant utilisé pour le lait et les produits laitiers est l'eau de Ringer.

### b- Ensemencement

- L'ensemencement des milieux solides se fait en profondeur ou en masse c'est- à-dire. Après avoir liquéfier la gélose au bain-marie et à l'aide d'une pipette graduée en 1ml ou 2 ml stérile, prendre 1 ml de dilution du produit, soulever à peine le couvercle de la boîte de pétri et laisser couler le contenu de la pipette dans la boîte puis verser la gélose et faire des mouvements de va et vient pour mélanger le produit avec le milieu de culture. Laisser le mélange se solidifier, ajouter une deuxième couche puis incubé à l'étuve.

- Milieux liquides : on introduit dans le bouillon 1ml du produit ou de sa dilution

Les germes recherchés sont :

**La flore totale** : PCA (Plate Count Agar), Incubation à 30 °C pendant 48 à 72 heures

**Coliformes fécaux** : on utilisant un milieu solide (Gélose lactosé au Désoxycholate 0,1 %), ou sur gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) Incubation à 44 °C pendant 24 heures.

**Recherche des Staphylocoques aureus** (coagulase +) : Les Staphylocoques sont très répandus dans la nature (air, eaux, sol) et vivent souvent à l'état de commensal sur la peau et les muqueuses des animaux et de l'homme, et notamment sur la muqueuse nasale qui paraît être son gîte essentiel.

### Mode opératoire :

Milieu de culture..... Baird Parker (jaune d'œuf + Tellurite de potassium).  
Ensemencement ..... En surface. Incubation à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

**Recherche de la coagulase :** Seuls les Staphylocoques pathogènes déterminent la coagulation des plasmas de lapins, dans un délai de 24 heures. Incubation à 37 °C pendant 4 à 24 heures.

**Lecture :**

Plasma coagulé ..... coagulase +.

Plasma non coagulé ..... coagulase -.

**Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteur** : Introduire dans un tube stérile 20 ml de la dilution mère 10-1 les mettre au bain marie à 80°C pendant 10mn environ, puis refroidir rapidement sous courant d'eau froide. Ensemencer avec 1 ml du lait chauffé un tube contenant la gélose viande foie (VF) plus additifs (alun de fer et sulfite de sodium; ajouter quelques gouttes d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose, incubé à 46°C pendant 24 à 48h. les Clostridium sulfito-réducteurs apparaissent sous forme des colonies, entourés d'un halo noir.

**Recherche streptocoques fécaux (SF)** : sur milieu présumptif de Rothe à 37°C pendant 24 à 48h puis, pour les tests positifs, repiquage sur milieu de confirmation de Litsky à 37°C pendant 24h.

Présence d'un dépôt bleu violacé..... Présence des Streptocoques.

Milieu intact ..... Absence des Streptocoques