



SCIENTIFIQUE

Université Saâd DAHLEB, BLIDA
Faculté des Sciences Agro - Vétérinaires et Biologiques
Département des Sciences Vétérinaires



Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention de :

Diplôme de Docteur Vétérinaire

*Etude Sur La Qualité Bactériologique &
Hygiénique du lait cru dans différentes circuits
de La région de Blida*

Présenté par :

HAOUAM Imene

OULD MAHIEDDINE / Fatima Zohra

Membres du Jury :

Mme BAAZIZ.D	M.A.A	U.S.D.B	Président
Mme DECHICHA.A	M.A.A	U.S.D.B	Examinatrice
Melle TARZAALI.D	M.A.B	U.S.D.B	Examinatrice
Dr ALCHAAR Née FERRAN.I	M.C.B	U.S.D.B	Promotrice

REMERCIEMENTS

Louange à DIEU qui nous a donné le courage nécessaire pour réaliser ce modeste travail.

Ce travail est le résultat de nombreuses collaborations, il nous est agréable d'exprimer nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont aidés à le concrétiser.

*Nous sommes redevables pour ce mémoire à notre promotrice **EL FERRAN.I.** Qui nous a fait le grand honneur d'encadrer ce travail, et de nous avoir prêté temps et énergie pour la correction.*

*Nos sincères remerciements et gratitude s'adresse à M^{me} la présidente **BAAZIZ.D** d'avoir fait l'honneur de présider la séance de notre soutenance tout en lui adressant nos respectueuses considérations.*

*Nous tenons à remercier les examinatrices **DECHICHA.A, TARZALI .D** pour leurs générosités, leurs indulgences et leurs disponibilités à examiner ce travail.*

Les remerciements le plus chaleureux s'adressent à toute l'équipe du laboratoire d'hygiène de Blida, et la laiterie de Beni-Tamou.

Nous témoignons notre gratitude à l'ensemble de l'équipe pédagogique et les enseignants qui durant 5 ans contribuèrent à notre formation.

Nous remercions toute personne, qui nous a aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.

Dédicace

A Mon Père et à Ma Mère

Votre affection ma toujours été d'un grand soutien. Trouvez dans ce travail le fruit de vos Indéfectibles efforts.

A Mes Frères et Sœurs

*Houda, Loubna, Hilmi, Hichem Chouchou, Youyou, Ma belle sœur Souad
Que notre entente caractérise toujours nos relations. Infini attachement.*

A mes deux nièces

Sarah & Rana nchallah je serai la le jour de vos soutenance

***A Ma Binôme & Chère copine* ZOOOOOOOOOLA**

Really we passed a great moment together

A Mes Chère Amis

Smail qui à été toujours présent dans les moments difficiles

Mimi, Amina, Amine, Lynda, Nour, Zinou, Wahid, Abdou, Fouzi, El Hachmi, Hamid,

Wafa, Sousou, Ahlem, Khadija, Habiba, Hanan, Aichouch, Eva, Sarah

Avec qui on a passé des moments forts & inoubliables

A Tous mes camarades de la promotion 2009 / 2010

Sommaire

Liste des tableaux :	I
Liste des figures.:	II
Liste des Graphes :.....	III
Liste des abréviations :	IV

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I : LAIT	1
1.Définition :	1
2.Caractères Physique & Chimique :	1
3.Microbiologie du lait :	2
4.Réception du lait :	2
5. Les Différents types de lait :.....	2
5.1.Laits crus et thermisés	2
5.1.1.Laits crus :.....	3
5.2.Laits traités thermiquement :	4
6.Source de contamination du lait :.....	5
6.1.L'animal :.....	6
6.2.La traite et le matériel de traite :.....	6
Chapitre II : Les dangers liés à la consommation de laits :.....	7
1.Dangers physiques :.....	7
1.1. Les corps étranger :	7
2.Danger chimiques :	8
2.1. Allergie et intolérance alimentaire :.....	8
2.2. Additifs :	9

2.3. Les résidus des médicaments vétérinaires :	9
3. Danger biologique :	9
3.1. Non bactériens :	10
3.2. Bactériens :	10

Chapitre III:Etude statistique des accidents alimentaires d'origine bactérienne :.....12

1. Les accidents alimentaires :.....	12
2. Importance relative des laits et produits laitiers dans les TIAC :.....	12
3 .Etude selon les différentes catégories de produits :.....	12
3.1.Laits de consommation :	13
3.2.Laits déshydratés :	14
3.3. Laits fermentés :	14

**Chapitre IV: Etude des bactéries majeures responsables d'accidents alimentaires par consommation de laits :
.....15**

1 .La microflore pathogène des laits :.....	16
1.1 . Staphylococcus aureus	17
1.2 . Salmonelle:	20
1.3 .Escherichia coli:	25
1.4 .STREPTOCOQUES.....	27

V. Prévention et méthodes de lutte :.....29

1. Méthodes de lutte et prévention suivant les bactéries.....	29
1.1 .Staphylococcus aureus :	29
1.2 .Salmonelles :	30
2.Maîtrise des risques :.....	31
2.1 . Règle des cinq M :	31
2.2 .Méthode H.A.C.C.P. :	33

ETUDES EXPERIMENTALE :.....	34
1 .Objectif de l'étude	34
2 .Matériels :	34
2.1. Appareillages :	34
2.2. Milieux de culture :	34
2.3. Les réactifs :	35
3 .Méthode de prélèvement du lait cru :.....	35
3a. Circuit des cuves des élevages :	35
3b. Circuit de la collecte :	36
3c. Circuit de vente directe (Crémerie) :	36
3.1Transport du lait :	36
4.Analyses Microbiologiques :	36
4.1.Préparation des dilutions :	36
4.2.Recherche de staphylococcus aureus :	36
4.3. Recherche d'Escherichia-coli :	38
4.4 .Recherche de streptocoque de group D :	40
4.5. Recherche de salmonella :	41
5. Résultats	42
Discussion :	50
Conclusion	52
Recommandation	
Annexes	

Liste des tableaux

Partie bibliographie :

Tableau 01 : Caractères physiques du lait de vache (VEISSEYRE, R. 2000).....	1
Tableau 02 : Critères microbiologiques relatif au lait cru.....	2
Tableau 03: Importance du développement bactérien dans du lait cru laisser à température ambiante (MIQUEL) (Ledrer, 1977)	3
Tableau 04 : Evolution du développement bactérien dans du lait cru en fonction de sa température (BOYER) (Ledrer, 1977).....	4
Tableau 05: importance relative des contaminations du lait (Chatelin, 1973).....	6
Tableau06: Fréquence des allergènes alimentaires, appréciée sur 300 cas d'allergies alimentaires en France (Mongeot, 2000).....	8
Tableau 07: Importance relative de différentes catégories d'aliments dans la survenue des TIAC en France en 2001. (Haghebafer, 2002).....	13
Tableau 08: Synthèse des bactéries pathogènes pouvant être présentes dans les laits et les produits laitiers (Bourgeois & al 1996).....	16

Partie expérimentale :

Tableau 01 : Le résultat de l'Analyse microbiologique des prélèvements de lait du circuit de vente directe.....	42
Tableau 02 : Analyse microbiologique du lait de collecte.....	43
Tableau 03 : Analyse microbiologique des prélèvements de lait de la cuve.....	44
Tableau 04 : évolution de la présence des germes au niveau de la cuve.....	45
Tableau 05 : évolution de la présence des germes au niveau du circuit de la collecte.....	46
Tableau 06 : évolution de la présence des germes au niveau du circuit de vente directe...	47

Liste des figures

Partie bibliographique :

- Figure 01** : Importance relative de différentes catégories d'aliments dans la survenue des TIAC en France en 2001. D'après les données du BEH n°: 23/2002 (Haghebaert, 2002... 13
- Figure02** : photographie au microscope de bactérie *Staphylococcus aureus* (Wikipédia)..17
- Figure03** : Salmonelle sur une culture de cellule humain (Wikipédia)..... 21
- Figure04** : *Escherichia Coli* grossissement X 10 000 (Wikipédia).....25
- Figure05** : aspect microscopique de streptocoque (Wikipédia).....27

Partie expérimentale :

- Figure 01** : colonies suspect *Staphylococcus.aureus* 37
- Figure 02** : milieux VBL positif..... 38
- Figure03** : anneau rouge après kovacs sur Schubert.....39
- Figure04** : colonies suspect Salmonelle..... 41

Liste des abréviations

AFNORE : Agence Française de Normalisation

BHBI : Bouillon cœur cerveau.

CCP : Critical Control Point.

D/C : Double Concentration.

ECEH : Escherichia Coli Entero Hémorragique

E. Coli : Escherichia coli

EVA : bouillant Ethyle Violet Azide.

JORA : Journal Officiel de République Algérienne.

HACCP : Hazard Analyses Critical Control Point.

ROTHE : Bouillon glucose à l'acide du sodium.

S. aureus : Staphylococcus aureus

SFB : Bouillon au Sélénite azide de Sodium

TIAC : Toxi-infection Alimentaire Collective

Résumé :

Le lait occupe une place importante dans l'alimentation humaine, vue sa richesse en différents éléments nutritifs et est essentiel pour l'organisme des êtres vivants. En parallèle le lait peut être un milieu favorable pour la multiplication des germes provenant de mauvaise condition d'hygiène sans oublier l'état sanitaire des animaux, cela conduit à une contamination du lait cru qui aura par la suite une répercussion sur sa qualité ainsi que sur la santé humaine.

La présente étude a pour but d'évaluer la contamination du lait cru par les germes pathogènes (Salmonelle, Staphylocoque, Streptocoque, Escherichia). Elle a été faite sur un nombre total de 20 échantillons pour chaque circuit, nos prélèvements ont été réalisés à partir de la laiterie de beni-tamou et les analyse microbiologiques ont été effectuées au niveau de laboratoire d'hygiène de Blida

Les analyses mis en évidence une flore d'altération plus abondante dans le lait cru des différents circuits :

- Circuit de collecte
- Circuit cuve des élevages
- Circuit de vente directe (Crémerie)

Les résultats microbiologiques indiquent une contamination importante de s Streptocoque d'un taux de **(48,38%)** pour le lai collecte, pour le circuit de cuve une présence importante de staphylocoque **(43,33%)** et Echerichia.coli (30%) par contre concernant le lait dans le circuit de vente directe un taux de **(50%)** de Staphylocoque a été évalué.

Cependant ce type de lait est impropre pour la consommation humaine, pour cela des efforts d'hygiène considérables sont donc à entreprendre aussi bien au niveau de l'environnement des animaux, des points de ventes de lait, du transport et du stockage.

Mots clés : lait, bactérie pathogène (Staphylocoque, Streptocoque, Salmonelle, Escherichia coli), hygiène.

Abstract:

Milk takes an important role in human food, for its richness in different nutrient and is essential for the body of living beings. In parallel milk may be a favorable environment for multiplication of germs from poor hygiene conditions not to mention the health of animals, this leads to contamination of raw milk which has a subsequent effect on quality as well as on human health.

This study aims to evaluate the contamination of raw milk by pathogens (Salmonella, Staphylococcus, Streptococcus, and Escherichia). It was made out of a total of 20 samples to each circuits, our samples were taken from the dairy of beni-Tamou and microbiological analysis were carried out at a laboratory of hygiene Blida

The analysis revealed a more abundant flora alteration in the raw milk of different circuits:

Circuit Collection

Circuit tank farms

Circuit direct sales (Creamery)

The microbiological results show significant contamination of Streptococcus s rate (48.38%) for the collection limit for the tank circuit of a significant presence of staphylococcus (43.33%) and E. coli (30%) by cons about milk in the direct sales channel rate (50%) of Staphylococcus has been evaluated.

However this type of milk is unfit for human consumption, so that efforts are considerable health to undertake both in the environment of animals, sale of milk, transports and storage

Keywords: milk, pathogenic bacteria (Staphylococcus, Streptococcus, Salmonella, Escherichia coli), hygiene.

Introduction

Le lait est un milieu propice au développement des micro-organismes qui sont responsables d'altérations du produit mais également dangereux pour la santé humaine (Valerie, 2003)

Aujourd'hui, le consommateur souhaiterait un risque zéro, quoi qu'il fasse et quoi qu'il mange, mais cela est malheureusement impossible.

Les accidents alimentaires liés à la consommation de laits et produits laitiers peuvent être de plusieurs origines : physique, chimique ou biologique. Toutefois on constate une faible importance des accidents alimentaires d'origine physique ou chimique et une prédominance de ceux d'origine biologique. Pour ceci, les bactéries sont le plus souvent mises en cause (90 % des accidents alimentaires tous produits confondus) (Guiraud, 2003). Le présent travail propose de faire le point sur les risques, tout particulièrement d'origine bactérienne, liés à la consommation des laits.

Nous allons dans une première partie définir les laits et inventorier les dangers liés à la consommation.

Nous étudierons, dans une deuxième partie, l'importance des accidents alimentaires d'origine bactérienne et l'implication des laits dans leur survenue.

Nous pourrons ainsi mettre en évidence les principales bactéries concernées afin de les étudier plus spécifiquement dans une troisième partie.

Notre dernière partie sera consacrée à l'étude des mesures de prévention et de lutte qui peuvent être mises en place pour diminuer l'incidence de ces accidents alimentaires



Partie Bibliographique

I. LAIT

1. Définition :

La définition légale du lait a été établie en 1909. Le décret de 1924 précise que la dénomination « lait » employée seule s'applique au lait de vache. Le lait est un aliment de premier ordre. Chez tous les mammifères il assure à lui seul la couverture de tous les besoins alimentaires des nouveau-nés. Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1908, lors du premier congrès international pour la répression des fraudes alimentaires : « 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 pas contenir de colostrum ». Réglementairement le colostrum est le produit de la sécrétion mammaire obtenu au minimum pendant les sept jours qui suivent le part.

Selon les statistiques du ministère de l'agriculture et du développement rural, l'Algérie est le premier consommateur laitier du Maghreb avec un marché annuel, estimé en 2004 à 1.7 milliards de litres dont 93% sont importées (Poudre du lait) avec un taux de croissance de 8% et une consommation moyenne de l'ordre de 100 à 110 l/habitant/an. Cette consommation augmente encore régulièrement et devrait au moins 115 l par habitant par an en 2010.

2. Caractères Physiques & Chimiques :

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne.

Tableau 01 : Caractères physiques du lait de vache (VEISSEYRE, R. 2000)

PH à 20°C	6,5 à 6,6
Acidité à 15° C	16 à 18 °D
Densité à 15°C	1,030 à 1,034
Point de congélation	- 0,55°C

3. Microbiologie du lait :

La législation algérienne préconise un ensemble de critères (décret N° 35 du JORA du 27 mai 1998) représentés dans le tableau ci –dessous :

Tableau 02 : Critères microbiologiques relatif au lait cru.

Lait cru	Germes
<i>Germes aérobies à 30C°</i>	10 ⁵
<i>Coliformes fécaux</i>	10 ³
<i>Streptocoques fécaux</i>	Abs/0 .1ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence
<i>Clostridium sulfito-réducteurs à 60C°</i>	50

4. Réception du lait :

La collecte du lait reste relativement faible pour des raisons qui tiennent aux avantages qui confère le recours à la poudre de lait importé dont la facture d'importation de lait est estimée au cours de l'an 2004 à 60 millions de dollars.

Pour pallier à ce déficit, le ministère de l'Agriculture veut faire de 2005 l'année de la bataille du lait en encourageant l'importation de mini laiteries dans les daïras.

5. Les Différents types de lait :

Il existe différents types de lait selon l'espèce dont il provient (lait de vache, brebis, chèvre...), mais aussi selon les traitements qui sont appliqués. Tous les laits peuvent être traités pour maîtriser leur quantité en matière grasse. On distingue ainsi pour le lait de vache :

- Lait entier ($\geq 3,5$ g MG/100 g de lait).
- Lait demi écrémé (1,5 à 1,8 g MG/ 100 g de lait).
- Lait écrémé ($\leq 0,3$ g MG/ 100 g de lait)

Le lait est utilisé sous de nombreuses formes et est la matière première de nombreux produits laitiers (Guiraud, 2003), Nous distinguons aussi :

5.1. Laits crus et thermisés

5.1.1 Laits crus :

Le lait cru est « produit par la sécrétion de la glande mammaire d'une ou de plusieurs vaches, d'une seule exploitation de production, et est non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement d'effet équivalent». Ce lait n'a donc subi aucun traitement excepté la réfrigération. Il contient une flore microbienne originelle. Ce n'est donc pas un produit stérile mais il contient peu de bactéries lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions et sur un animal sain : moins de 103 germes /ml. Ces micro-organismes sont essentiellement saprophytes du pis ou des canaux galactophores de l'animal.

Le lait cru peut toutefois contenir des germes pathogènes pour l'homme lorsqu'il provient d'un animal malade, souffrant d'une infection généralisée ou de mammite. Différentes bactéries peuvent alors être présentes : streptocoques, staphylocoques, salmonelles, *Listeria*... Une microflore de contamination peut s'ajouter à la microflore originelle. La contamination peut se faire à partir de différentes sources : environnement (air, eau, litière), alimentation, traite, manipulateur, vecteurs (insectes), (Guiraud, 2003).

Le lait est un bon milieu de culture. Les données de MIQUEL du tableau (03) montrent la rapidité du développement bactérien dans du lait cru laissé à température ambiante :

Tableau 03 : Importance du développement bactérien dans du lait cru laissé à température ambiante (MIQUEL) (Ledrer, 1977).

Temps après la traite en heures	Nombre de bactéries par ml
2	9000
3	21750
4	36250
9	60000
27	5000000

D'autres chiffres permettent de montrer l'importance de la température de conservation du lait cru (tableau 04)

Tableau 04 : Evolution du développement bactérien dans du lait cru en fonction de sa température (BOYER) (Ledrer, 1977).

Nombre de germes par ml de lait cru	Lait cru à 6°C	Lait cru à 18°C	Lait cru à 22°C
Au moment de la traite	6500	6500	6500
8 heures après la traite	12000	--	310000
24 heures après la traite	87000	5000000	11000000

Afin de limiter le développement bactérien dans le lait cru, une réfrigération, la plus rapide possible, doit donc être effectuée (dans l'heure suivant la traite), afin d'abaisser la température du lait à 10°C au maximum. La durée de conservation du lait cru est courte car le développement microbien est possible en quelques jours. Il possède en outre un grave danger potentiel : celui de la transmission de germes pathogènes.

5.1.2. Laits thermisés :

Le lait thermisé a subi un traitement de thermisation, c'est-à-dire « le chauffage du lait cru pendant au moins 15 secondes à une température comprise entre 57°C et 68°C.

Un tel traitement entraîne la destruction d'une importante partie de la microflore psychrophile (réduction de la charge microbienne), mais pas celle des spores. Diverses formes végétatives de bactéries pathogènes sont également détruites. La conservation du lait thermisé reste courte mais est prolongée par rapport au lait cru non thermisé. Il nécessite cependant le maintien à une température inférieure à 10°C (Guiraud, 2003).

5.2. Laits traités thermiquement :

Les traitements thermiques visent à éliminer d'éventuels germes pathogènes et à allonger la durée de conservation des laits (Guiraud, 2003). Il existe différents traitements thermiques applicables au lait cru.

5.2.1. Le lait pasteurisé :

Le lait pasteurisé est chauffé à une température inférieure à 100°C, puis refroidi rapidement. Il se conserve 7 jours au réfrigérateur avant ouverture. (Guiraud, 2003).

5.2.2. Le lait stérilisé :

Le lait stérilisé est chauffé entre 100 et 115°C. Il se conserve 150 jours avant ouverture. (Guiraud, 2003).

5.2.3. Le lait stérilisé UHT :

Le lait stérilisé UHT (Ultra Haute Température) est soumis à une température très élevée (140°C) pendant un temps très court (2 secondes). Ce traitement garantit une destruction totale des germes du lait, tout en respectant au mieux son goût et ses qualités nutritionnelles. Il se conserve à température ambiante pendant 180 jours. (Guiraud, 2003).

5.2.4. Laits déshydratés :

Les laits déshydratés sont obtenus par élimination de l'eau du lait, ou de matière premières d'origine laitière. Ces laits sont obtenus à partir de laits préalablement pasteurisé (Jouve & al, 1996).

Les laits déshydratés ne sont pas stériles, mais ils sont stabilisés du fait de la déshydratation. Il peut donc subsister des bactéries sporulées ou non, aérobies ou anaérobies, mésophiles ou thermophiles (Guiraud, 2003). Des salmonelles et des staphylocoques peuvent être présents dans des poudres de lait (Bourgeois & al, 1996), le taux d'humidité augmente, ces laits peuvent être dégradés par les bactéries. Il est toutefois à noter que les problèmes sanitaires liés aux laits déshydratés sont rares (Guiraud, 2003).

6. Sources de contamination du lait :

La contamination du lait peut avoir des origines divers dont :

6.1. L'animal :

L'animal constitue la principale source de contamination du lait à la production aussi bien pour les bactéries (infections mammaires, autres infections et portage sain) que pour les résidus d'antibiotiques.

6.2. La traite et le matériel de traite :

En plus de la contamination d'origine intra mammaire, le lait peut être contaminé lors de la traite par le matériel utilisé.

Les principes des sources de contamination du lait sont rapportés dans le tableau (05)

Tableau 05: importance relative des contaminations du lait (Chatelin, 1973).

Sources de contamination	Taux de germes (UFC /ml)
Intérieur de la mamelle	1 à 5
Animal (surtout la mamelle)	20 à 200
Etable	1 à 10
Matériel de traite manuelle	50 à 500
Matériel de traite mécanique	1000 0000

II. LES DANGERS LIÉS A LA CONSOMMATION DU LAIT :

On sait que le lait constitue un bon vecteur pour des maladies d'origine bactérienne et on suppose que la contamination du lait puisse avoir un effet considérable sur la santé publique parce que les conditions chimiques et physiques du lait, mais aussi les conditions environnementales (climat chaud), favorisent une multiplication rapide des germes et Les analyses microbiologiques montraient un degré élevé de contamination du lait avec les *Entérobacteriaceae*. *Staphylococcus aureus*. Cette contamination, souvent d'origine secondaire, supposée être causée par un déficit en hygiène générale, surtout sur le plan matériel de transport et par la conservation dans des conditions favorisant la multiplication des germes.

Ces dangers sont de nature chimique, physique ou biologique. Nous les présenterons par ordre d'importance croissante.

1. Dangers physiques

1.1. Les corps étrangers :

Des corps étrangers peuvent être incorporés accidentellement dans les aliments. L'aliment n'est pas forcément rendu impropre à la consommation mais leur découverte par le consommateur est un motif de refus. De la production à la consommation, des corps étrangers sont susceptibles de contaminer la chaîne alimentaire à toutes les étapes (bijoux, mégots de cigarettes, cheveux, poils, ongles, insectes...). De ce fait, les industriels sont très attentifs et mettent en place divers procédés pour lutter contre ce risque, notamment par la mise en place de filtres, de plan de lutte contre les nuisibles, de mesures d'hygiène du personnel (Bolnot, & al, 2004).

Ce risque reste cependant faible dans la filière lait, au contraire de produits tels que les steaks hachés où le risque lié à des morceaux de lames doit être beaucoup plus pris en compte.

2. Dangers chimiques

2.1. Additifs :

Un additif est défini selon l'Union Européenne comme : « toute substance habituellement non consommée comme aliment en soi et habituellement non utilisée comme ingrédient caractéristique dans l'alimentation, possédant ou non une valeur nutritive, et dont l'adjonction intentionnelle aux denrées alimentaires, dans un but technologique au stade de leur fabrication, transformation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage, a pour effet qu'elle devient elle-même ou que ses dérivés deviennent, directement ou indirectement, un composant de ces denrées alimentaires » (Mongeot, 2000).

2.2. Les résidus des médicaments vétérinaires :

Les risques liés à la consommation de résidus de substances médicamenteuses sont : allergiques (antibiotiques), cancérogènes et mutagènes, tératogènes (certains antiparasitaires). Des risques de perturbation de l'écologie microbienne digestive sont également cités (Bolnot., & al...).

Afin de lutter contre ces risques, l'éleveur doit respecter les délais d'attente propres à chaque médicament (Dupin, & al, 1992). Le délai d'attente est défini comme : « le délai à observer entre la dernière administration du médicament à l'animal dans les conditions normales d'emploi et l'obtention des denrées alimentaires provenant de cet animal, afin de garantir qu'elles ne contiennent pas de résidus ... » (Article L 5141-6 du Code de la Santé Publique).

Ces deux dangers chimiques peuvent provoquer :

*Allergie et intolérance alimentaire :

L'allergie est un phénomène se produisant en deux phases : une phase de sensibilisation lors de l'ingestion pour la première fois de l'allergène, puis, lors d'une nouvelle ingestion, les cellules de l'organisme libèrent des substances anti-inflammatoires entraînant l'apparition des symptômes (Lapie, 2001).

Le lait fait partie des allergènes les plus incriminés chez l'enfant. Le seul traitement possible de l'allergie alimentaire est l'éviction totale de l'aliment mis en cause et donc ici du lait et de ses dérivés (Moll, 2000).

Les allergies alimentaires sont de plus en plus fréquentes : elles progressent de 50 à 100 % tous les dix ans. Le lait est en quatrième position des allergènes alimentaires, derrière les œufs, le poisson et les arachides (tableau 06).

Tableau06 : Fréquence des allergènes alimentaires, appréciée sur 300 cas d'allergies alimentaires en France (Mongeot, 2000).

Aliment allergène	Fréquence (%)
Œuf	13
Arachides	11,3
Poissons	11,3
Lait	9,3
Céleri	9,3
Crustacés	9,3
Fruit exotiques	4,3

Il est à noter que les allergies alimentaires liées au lait de vache régressent fréquemment au fur et à mesure que l'individu grandit. Ce risque diminue donc en fonction de l'âge des individus (Mongeot, 2000).

3. Dangers biologiques

Les dangers biologiques sont les plus importants des trois catégories de dangers (chimique, physique, biologique). Nous allons distinguer les bactériens et les non bactériens.

3.1. Non bactériens :

3.1.1 : Protozoaires :

Ce risque peut toutefois être considéré comme exceptionnel, *Toxoplasma gondii* est un protozoaire agent de toxoplasmose retrouvé surtout dans le lait de chèvres.

3.1.2. Mycotoxines :

Une mycotoxine est un métabolite toxique, élaboré par une moisissure qui se développe sur un aliment. L'ingestion de cet aliment, si la quantité de toxine est suffisante, provoque une intoxication du consommateur (Bourgeois & al, 1996).

3.1.2. Virus :

Les virus pouvant être responsables d'accidents alimentaires dans les laits sont :

- **Entérovirus :**

Ce sont des virus de contamination fécale pouvant se retrouver dans le lait. La contamination peut se faire de manière indirecte (mains sales, eaux usées, objets souillés) ou par voie aérienne (sécrétions rhino-pharyngées). Les symptômes sont ceux d'une grippe intestinale (fièvre, céphalées et diarrhée) (Guiraud, 2003).

- **Paramyxovirus :**

La transmission peut se faire par le lait cru. La maladie engendrée par ce virus est les oreillons, elle atteint principalement les enfants à partir de deux ans.

(Eck & al, 1996).

Les risques de contamination virale surviennent suite à des défauts d'hygiène. L'application des règles de base de l'hygiène alimentaire et la pratique de la pasteurisation du lait permettent de diminuer fortement les risques.

3.2. Bactériens :

Les bactéries sont responsables de 90 % des accidents alimentaires (tous produits confondus). Le risque bactérien est donc le plus important à considérer en matière de fréquence (Moll & al, 2000).

La présence de bactéries dans les aliments n'ayant subi aucun traitement antimicrobien est normal. Ces micro-organismes correspondent à la microflore originelle qui est généralement constituée de germes commensaux saprophytes, il convient donc de distinguer les bactéries commensales, non pathogènes, des bactéries potentiellement pathogènes (Guiraud, 2003).

Toutes les bactéries responsables d'accidents alimentaires et donc pathogènes sont hétérotrophes, nécessitant la présence d'un substrat organique. Ces micro-organismes peuvent être classés en trois catégories :

- Les saprophytes qui vivent librement dans la nature
(Exemple : *Listeria monocytogènes*).
- Les commensales de l'homme et de l'animal (Exemple : *Staphylococcus aureus*).
- Les parasites qui possèdent un pouvoir pathogène propre (Exemple : *salmonelles*)
(Guiraud, 2003).

Le danger peut résider dans la présence de la bactérie elle-même ou dans la production par celle-ci de toxines dans l'aliment, L'aliment peut jouer deux rôles différents en présence de ces bactéries :

- Un rôle passif : il est alors un simple vecteur de l'agent pathogène.
- Un rôle actif : il devient le siège de la multiplication de la bactérie et/ou de la production de toxines.

III. IMPORTANCE DES ACCIDENTS ALIMENTAIRES D'ORIGINE BACTERIENNE :

1. Les accidents alimentaires :

Un accident alimentaire peut être de deux types :

- Il ne touche qu'un seul individu.
- Il touche plusieurs individus simultanément : on parle alors de Toxi-infection Alimentaire Collective (TIAC). Les TIAC sont définies comme la survenue d'au moins deux cas groupés, d'une symptomatologie similaire, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire (Haghebaert, 2002).

En ce qui concerne les accidents alimentaires d'origine bactérienne, on peut distinguer les toxi-infections telles que les salmonelloses, les infections telles la listériose et les intoxications comme celle due à la toxine de *Staphylococcus aureus*. Dans le premier cas, l'accident alimentaire est lié au pouvoir pathogène propre de la bactérie et à la libération de toxines dans l'organisme du consommateur. Dans le second cas, c'est uniquement le pouvoir pathogène direct de la bactérie qui entraîne la survenue des troubles. Dans le dernier cas, seule la toxine produite par la bactérie est responsable des symptômes observés chez le patient (Lapie, 2001).

2. Importance relative des laits et produits laitiers dans les TIAC :

Sont présentées les données concernant les TIAC des années 1999 à 2001 en France.

Tableau 07 : Importance relative de différentes catégories d'aliments dans la survenue des TIAC en France en 2001. (Haghebafer, 2002).

Aliment concerné	Nombre de TIAC	Pourcentage
Ovoproduits	119	21,3
Laits et produits laitiers	41	7,3
Produit Carné	102	18,2
Produit de la pêche	58	10,4
Eau de boisson	7	1,3
Autres aliments	71	12,7
Aliments non retrouvés	161	28,8
Total	559	100

*Autres aliments : aliments d'origine non animale ou mixtes.

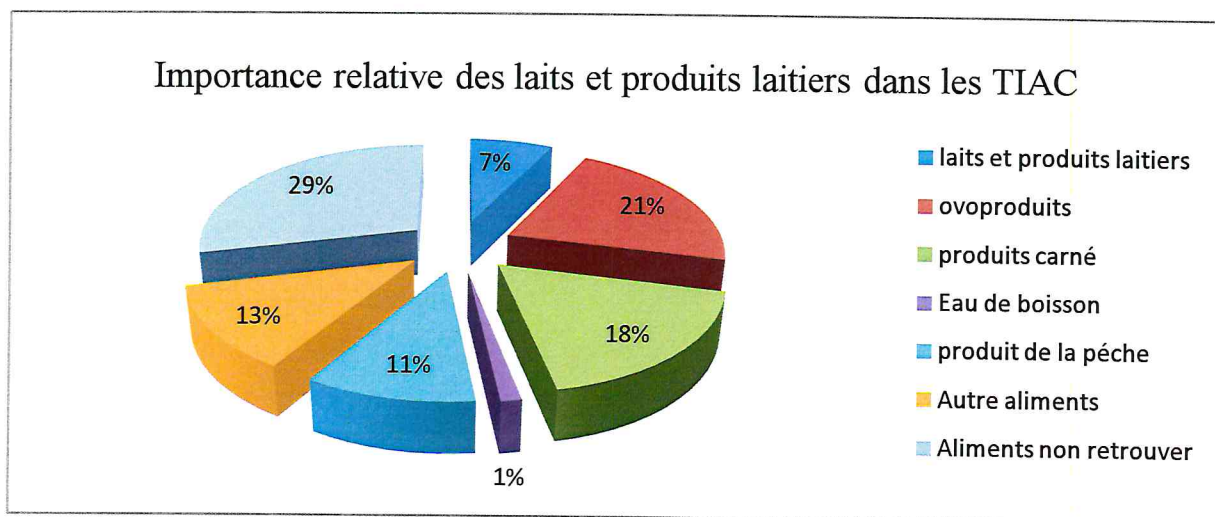


Figure 01 : Importance relative de différentes catégories d'aliments dans la survenue des TIAC en France en 2001. D'après les données du BEH n°: 23/2002 (Haghebafer, 2002).

3. Etude selon les différentes catégories des produits :

3.1. Laits pasteurisés:

Les risques de survenue de TIAC avec cette catégorie de laits sont très faibles car les laits pasteurisés sont les plus consommés, voire des laits stérilisés (UHT) qui ne présentent pas de risque, les micro-organismes pathogènes ayant été détruits par le traitement thermique.

des laits stérilisés (UHT) qui ne présentent pas de risque, les micro-organismes pathogènes ayant été détruits par le traitement thermique. Le seul risque avec les laits de consommation concerne les laits crus, consommés de façon marginale. Mais le risque est très faible car notamment le lait est souvent bouilli avant consommation (Jouve, 1996).

3.2. Laits déshydratés :

La déshydratation des laits engendre une augmentation de leur stabilité, la réduction de la quantité d'eau disponible empêche le développement d'agents pathogènes. Malgré cette stabilisation, ce ne sont pas des produits stériles. Les procédés de fabrication ne correspondent qu'à une sur pasteurisation et les produits peuvent être recontaminés par la suite. Ainsi les bactéries sont détruites mais les toxines ne sont pas inactivées. Les laits déshydratés restent donc des aliments sensibles.

Cependant très peu d'accidents alimentaires associés à ces produits ont été constatés durant ces quinze dernières années, notamment grâce aux progrès en matière d'hygiène. Le principal risque résulte de leur utilisation sans traitement thermique préalable, et le fait que le nombre de ces produits sont destinés à une catégorie de la population à risque : les enfants. Les principaux agents pathogènes à redouter sont :

- *Les salmonelles* qui peuvent coloniser les installations de production, en particulier les installations de séchage et leur environnement.
- *Staphylococcus aureus* et son entérotoxine thermorésistante (plus rare) qui peuvent contaminer les laits déshydratés suite à des manipulations peu hygiéniques des produits.

3.3. Laits fermentés :

Le traitement thermique appliqué aux laits fermentés au cours de leur fabrication entraîne la destruction des micro-organismes pathogènes. De plus, l'acidité des produits finis ($\text{pH} < 4,5$) empêche le développement des bactéries ou les fait rapidement disparaître en cas de contamination. Ces produits ne présentent donc pas de risque pour le consommateur si les procédés de fabrication sont respectés (Jouve, 1996).

IV. ETUDE DES BACTERIES MAJEURES RESPONSABLES D'ACCIDENTS ALIMENTAIRES PAR CONSOMMATION DE LAIT

Nous rappelons dans une première partie les différentes bactéries pouvant être présentes dans les laits. Nous étudierons dans les quatre parties suivantes les quatre principales bactéries responsables d'accidents alimentaires par consommation de lait.

(Staphylococcus aureus et les salmonelles. Streptococcus D –group, Escherichia coli)

1. La microflore pathogène des laits :

Tableau 08 : Synthèse des bactéries pathogènes pouvant être présentes dans les laits et les produits laitiers. (Bourgeois & al, 1996).

Bactérie	Produits concernés	Source de Contamination	Méthodes de prévention	Fréquence	Gravité
<i>S.aureus</i>	lait cru, produits manipulés	Manipulateur, Animal	Limiter les manipulations	Grande	Vomissement mais pas grave
<i>Salmonelle</i>	Lait cru,	Animal	Règles d'hygiène pasteurisation, chaîne du froid	Grande	Peut être mortelle/ population sensible
<i>E. coli</i>	Produits laitiers crus ou recontaminé après pasteurisation	Animal (mammite, fèces)	Hygiène du personnel, respect de la chaîne du froid	?	Diarrhée, vomissement fièvre
Streptocoque	Produits laitiers	Contamination humaine	Hygiène du personnel, respect de la chaîne du froid	Occasionnelle, rare	Maux de gorge, gastro-entérite

1.1. *Staphylococcus aureus*

1.1.1. Identification et classification :

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Micrococcaceae* Ce sont des bactéries :

- Coques à Gram positif de 0,5 à 2,5 micromètres de diamètre.
- Non sporulées.
- Immobiles, souvent groupées en amas irréguliers (Guiraud, 2003, Orlandini ,1999).
- Catalase positive, oxydase négative.
- Aéro-anaérobies facultatives, mais se multipliant plus facilement en aérobiose (Orlandini, 1999).
- Colonies lisses fréquemment pigmentées (Guiraud ,2003).
- *Staphylococcus aureus* est à coagulase positive, (Orlandini , 1999, Sutral,1998).

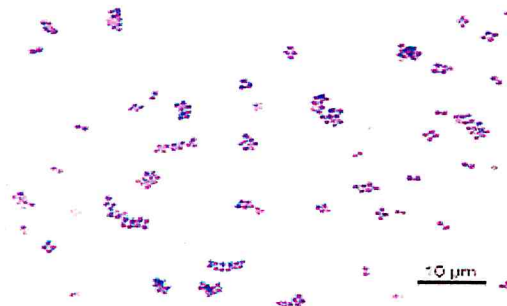


Figure 02 photographies au microscope de bactérie *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus

1.1.2. Caractéristiques :

Staphylococcus aureus est sensible à :

- La chaleur : destruction par la pasteurisation. Cependant certains composants des aliments peuvent protéger *Staphylococcus aureus* de la chaleur (lipides, protéines, sucres, sels) (Bourgeois, 1996, Orlandini, 1999).
- Une microflore compétitive : son développement est alors inhibé.
- L'acidité : pH < 4 pour la croissance et pH < 5 pour la toxigenèse.

Staphylococcus aureus est résistante à :

- Le NaCl : il peut se développer en présence d'une concentration en NaCl jusqu'à 10 % (Sutral, 1998).
- La congélation. (Orlandini, 1999, Sutral, 1998).

1.1.3. Pouvoir pathogène :

- **Chez l'animal** les staphylocoques sont responsables fréquemment d'infections pyogènes chez différentes espèces (bovins, ovins, chien et poule) et entraînent des pertes économiques importantes (Fleurette, 1989), à titre d'exemple *Staphylococcus aureus* est considéré comme l'agent pathogène des mammites en élevage bovins laitiers (Pederson, & al, 1981).
- **Chez l'homme** les infections staphylococciques peuvent être localisées ou diffusées par voie sanguine en prenant un caractère septicémique. Les toxi-infections alimentaires sont dues à l'ingestion d'entérotoxine (A, E).

1.1.4. Données épidémiologiques :

Staphylococcus aureus est une bactérie ubiquiste, commensale de la peau des animaux et de l'homme. Elle peut également se retrouver sur les vêtements ainsi que dans l'environnement (Guiraud, 2003, Orlandini, 1999). Ses deux principaux réservoirs sont l'homme et les animaux à sang chaud. Un portage sain existe, aussi bien chez l'homme que les animaux. Pour l'homme, les fosses nasales sont considérées comme le site de portage le plus fréquent, mais la bactérie peut également être localisée au niveau de la peau, du cuir chevelu, de la gorge, de l'intestin. La contamination de la peau de l'homme se fait donc surtout par le nez et l'intestin. L'importance du portage chez les animaux est moins bien connue. Il se situe au niveau de la peau des mamelles et des trayons. Des mammites à *Staphylococcus aureus* entraînent une contamination importante du lait (Sutral & al, 1998).

Lors de suspicion de TIAC due à *Staphylococcus aureus*, il convient de mettre en évidence la présence de toxines. Ceci peut se faire à l'aide de méthodes immunologiques permettant d'identifier les sérotypes (Orlandini, 1999).

1.1.5. Pathogénie :

Ce n'est pas la bactérie qui a un effet pathogène sur l'homme mais la toxine qu'elle produit. Le consommateur se contamine en ingérant la toxine préformée dans l'aliment (Orlandini, 1999). Seules les espèces de staphylocoques capables de produire des entérotoxines sont considérées comme pathogènes pour l'homme. Il est plus juste de parler d'intoxication que de toxi-infection puisque seule la toxine est responsable de la symptomatologie (Bougeois & al, 1996).

A son arrivée dans l'estomac, la toxine stimule les récepteurs intestinaux et gastriques qui transmettent alors le stimulus au centre émétique du cerveau, par l'intermédiaire du nerf vague. Ceci entraîne l'apparition de vomissements. Cette entérotoxine peut donc être considérée comme une neurotoxine. (Guiraud, 2003., Orlandini, 1999, Sutral, 1998 & al...).

Ainsi la dose de toxine à ingérer pour provoquer une symptomatologie varie de 1 à 500 nanogrammes par kilogramme de poids corporel (Sutral & al 1998).

Les symptômes cliniques reposent sur le caractère émétisant de la toxine. Voici les symptômes observés, par ordre de fréquence décroissante :

- Vomissements spectaculaires qui ne cessent qu'à l'élimination totale de la toxine.
- Nausées.
- Diarrhée aqueuse et douleurs abdominales.
- Vertiges et céphalées.

1.1.6. Mode de contamination des laits :

La contamination par *Staphylococcus aureus* se produit lors de la préparation de l'aliment. La source principale est l'homme.

1.1.6.1. L'homme :

Staphylococcus aureus est commensal de la peau de l'homme. Celui-ci peut donc contaminer tout aliment lors de manipulations (Guiraud, 2003). L'homme peut être porteur sain de la bactérie, ce qui est de ce fait difficile à détecter. Il peut aussi être victime d'une infection staphylococcique ouverte (plaies infectées, sinusites, angines...).

La contamination peut survenir :

- Au cours de la fabrication du produit, par manipulation directe ou par l'intermédiaire d'aérosols respiratoires.
- Lors de la préparation domestique du produit (Orlandini, 1999, Sutral, 1998, & al...). Cela implique des mesures d'hygiène corporelles strictes (se laver les mains régulièrement).

L'homme n'est pas la source unique de contamination des aliments par *Staphylococcus aureus*. L'animal ou l'environnement peuvent également être des sources de contamination.

1.1.6.2. Animal :

L'animal peut être source de contamination lors de mammite clinique, contaminant le lait et donc par la suite les produits laitiers. Plus insidieusement, des mammites subcliniques, donc indétectables d'un point de vue symptomatologique, peuvent contaminer le lait. L'animal peut également être porteur latent au niveau cutané. Cette contamination est caractérisée de primaire. (Orlandini, 1999, Sutral, 1998, & al...)

1.1.6.3. Environnement :

La contamination peut se faire par l'air ambiant, les expectorations, le matériel ou les insectes. Cependant l'aliment contaminé doit offrir des conditions favorables à la croissance et à la toxinogénèse pour que l'accident alimentaire se produise. Il faut, pour cela, que le produit soit maintenu à une température favorable à la multiplication de *S. aureus* et à la production de toxine (3 à 4 heures à température ambiante par exemple).

1.2. Salmonelle

1.2.1 Identification et classification :

Les salmonelles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (Sutral, 1998). Cette famille regroupe de nombreuses espèces dont la plupart sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux (Guiraud, 2003).

Ces bactéries présentent les caractéristiques suivantes :

- Bacilles à Gram négatif de 2 à 3 micromètres sur 0,6 à 0,8 micromètres (Sutral, 1998).

- Non sporulées (Orlandini, 1999).
- Mobiles grâce à une ciliature (rarement immobiles)



Figure03 Salmonelle sur une culture de cellule humaine .

- Culture possible sur milieux ordinaires.
- Aéro-anaérobies facultatives.
- Fermentation du glucose, avec ou non production de gaz.
- Nitrate et nitrite-réductase positive.
- Oxydase négative, catalase positive (Moll & al, 2002). D'un point de vue biochimique, les caractéristiques des salmonelles sont les suivantes :
- Absence d'uréase et de tryptophane désaminase.
- Absence de production d'indole et d'acétoïne.
- Absence de fermentation du lactose, du saccharose, de l'inositol,
- Production d'H₂S à partir de thiosulfate.
- Croissance fréquente sur le milieu au citrate de SIMMONS.

Ces caractéristiques biochimiques permettent une vérification de l'appartenance au genre *Salmonella* lors de prélèvement d'échantillons (utilisation de galerie API).

1.2.2. Caractéristiques :

Le développement des salmonelles est optimal à 37°C, mais il est possible entre 6 et 46°C. La croissance est très ralentie en dessous de 10°C.

Elles peuvent se développer dans des milieux de pH compris entre 5 et 9, avec un optimum à 7. Leur survie reste assurée à des pH inférieurs ou supérieurs (Sutral, 1998).

Les *salmonelles* sont sensibles à :

- La chaleur, dont la pasteurisation, qui permet leur destruction dans le lait.
- L'acide acétique : un pH inférieur à 3,6 permet l'élimination des salmonelles.
- Elles sont également inhibées par la microflore lactique.

Les *salmonelles* sont résistantes à :

- La réfrigération : les températures de réfrigération ($\leq 5^{\circ}\text{C}$) bloquent, sauf exception, la croissance des salmonelles mais permettent leur survie.
- La congélation : elle provoque une réduction du nombre de salmonelles sans pour autant en assurer leur disparition (Bourgeois, 1996).
- Les teneurs de sels élevées : elles peuvent ainsi contaminer des saumures elles sont peu sensibles aux nitrites (Orlandini, 1999).

1.2.3. Données épidémiologiques :

Les salmonelles sont des bactéries intestinales des animaux vertébrés. Leur réservoir est très large. Il s'étend à tout le monde animal. Elles ont deux caractéristiques expliquant leur large distribution.

- La diversité des animaux susceptibles de les héberger (mammifères, oiseaux, reptiles, insectes).
- Leur grande capacité de survie dans l'environnement (Moll, 2002, & al...).

La grande majorité des salmonelles présentes dans l'environnement ou dans les aliments destinés à l'homme proviennent d'une contamination fécale (Sutral, 1998). Le réservoir des salmonelles est essentiellement l'animal. L'homme n'est qu'un maillon de la chaîne contaminant. Les salmonelles se répartissent dans l'environnement à partir de ces réservoirs. Ce sont les aliments, principalement ceux d'origine animale, qui assurent la liaison entre le vaste réservoir animal et l'homme, même si des cas de contamination directe peuvent être constatés (Bourgeois, 1996).

Différents rapports peuvent se développer entre cette bactérie ubiquitaire et son hôte :

- Un portage sain, limité uniquement au tube digestif. L'excrétion est intermittente avec des Quantités de salmonelles excrétées variant de 10 à plus de 107 par gramme de fèces.

- Un portage sain avec passage de quelques bactéries dans l'organisme, mais sans déclencher de symptomatologie. Les salmonelles se retrouvent dans les monocytes et les macrophages où elles survivent et se multiplient.
- Une maladie, avec des symptômes diarrhéiques et une hyperthermie, lorsque le système immunitaire de l'hôte est déficient ou dépassé. La maladie survient lors de l'ingestion d'une grande quantité de salmonelles (10^5 à 10^8) ou lors d'une importante multiplication des bactéries dans le tube digestif (cas d'une faible contamination initiale). Dans ce dernier cas l'expression clinique de la maladie peut survenir beaucoup de temps après l'ingestion de l'aliment contaminé (Sutral, 1998).

1.2.4. Clinique :

La symptomatologie est variable selon les souches, la dose ingérée et la sensibilité de l'individu (Sutral, 1998). Tous les sérotypes de *Salmonella enteritica* peuvent engendrer, chez les consommateurs, un syndrome de gastro-entérite aiguë fébrile si la teneur en cellules viables dans l'aliment ingéré est suffisamment élevée. La durée d'incubation est en moyenne de 17 heures (entre 10 et 24 heures). Elle dépend de la quantité de salmonelles ingérée, de la sensibilité de l'individu et du sérovar (Orlandini, 1999). Les symptômes persistent pendant 3 à 5 jours en moyenne chez l'adulte en condition physique normale, mais la maladie peut être grave, voire mortelle, chez des individus affaiblis : personnes âgées, nourrissons, femmes enceintes, patients immunodéprimés. Le taux de mortalité est d'environ 2 pour 1000 et touche les jeunes et les personnes âgées (Moll, & al, 2002).

Dans la plupart des cas l'évolution est spontanément favorable, avec une disparition de la fièvre en 2-3 jours et de la diarrhée en une semaine (Orlandini, 2002). En résumé, cette maladie se caractérise par une forte morbidité et une faible mortalité (Bourgeois, 1996).

Pour déclencher une TIAC il faut absorber un nombre de bactéries viables (dose infectante) suffisamment important. Cette dose infectante est variable selon les souches de salmonelles et la sensibilité des individus.

1.2.5. Mode de contamination des laits :

1.2.5.1. Animal :

Les principales sources de salmonelles dans les élevages laitiers bovins sont les déjections des animaux (Fabre, 2000). Les bovins peuvent être atteints de salmonellose clinique avec de la diarrhée et de l'hyperthermie (*Salmonella thyphimurium* et *Dublin*). Il existe également de nombreux porteurs sains, qui constituent une source de contamination beaucoup plus insidieuse. Ces portages sains sont très souvent observés chez les bovins après un épisode clinique (Moll, 2002, & al...).

1.2.5.2. Manipulateur :

La contamination peut provenir d'un manipulateur malade ou porteur sain. Après infection et guérison, une proportion variable de malades reste porteuse de la bactérie au niveau de l'intestin. Ces individus constituent donc une source de contamination des produits (Guiraud, 2003).

1.2.5.3. Environnement :

L'hygiène du logement joue un rôle important dans la contamination : une litière humide ou l'absence de vide sanitaire favorise la contamination du lait par les salmonelles. La litière doit rester propre ; il convient d'éliminer régulièrement les fumiers et les lisiers, qui peuvent être porteurs de salmonelles (Fabre, 2000).

1.2.5.4. Eau :

La contamination par le biais de l'eau reste exceptionnelle dans les pays développés (Orlandini, 1999). La contamination se réalise soit par l'abreuvement des animaux, soit par l'eau utilisée lors des opérations d'hygiène de la traite (Fabre, 2000).

Cela peut se produire à la faveur de :

- Défauts d'hygiène (Orlandini, 1999, Sutral, 1998).

Rupture de la chaîne du froid : même entre 5 et 10°C, où la croissance est très lente, la multiplication des bactéries peut être significative en fonction du temps (Guiraud, 2003).

- Contamination croisée (Orlandini, 1999, & al...).

1.3. Escherichia coli

Également appelé colibacille ou *E. coli*, est une bactérie intestinale des mammifères très commune chez l'être humain. Découverte en 1885 par Théodore Escherichia, dans des selles de nourrissons, 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 septicémies. Le syndrome hémolytique et urémique.

E. coli est un bacille gram négatif radio résistant de la famille des *Entérobacteriaceae*. C'est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux).

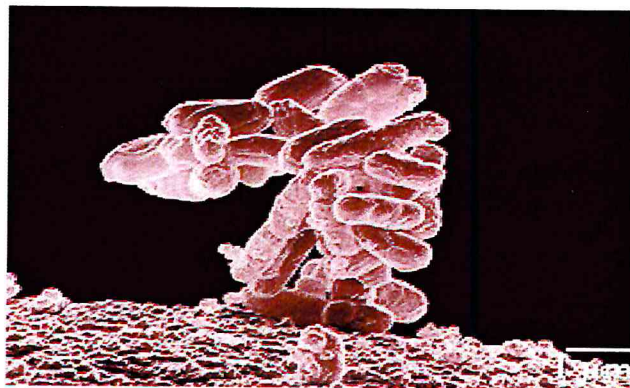


Figure 04 Escherichia Coli grossissement X 10 000

1.3.1. Critères d'identification d'*E. Coli* :

C'est une bactérie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle fermente le glucose par, Ne possède pas d'uréase, Production d'indole à partir du tryptophane ; Ne produit pas d' H₂S ; Pas de test ONPG car lactose +, TDA-, Uréase-, Indole +++, VP-, RM +, Mobilité pérित्रiche très réduite, voire immobile.

1.3.2. Escherichia coli Entérohémorragique (ECEH) :

Escherichia coli est une bactérie fréquente du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. La plupart des souches d'*E. Coli* sont sans danger. Certaines souches, cependant, comme les souches entérohémorragiques (ECEH), peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires (TIA) graves. La transmission à l'homme se fait par la

consommation du lait cru contaminés. ECEH fabrique des toxines, connues sous le nom de verotoxines ou de toxines de type Shiga en raison de leur ressemblance avec les toxines élaborées par *Shigella dysenteriae*. ECEH se multiplie dans une fourchette de température de 7°C à 50°C, la température optimale étant de 37°C. Certaines souches de ECEH peuvent se développer dans des aliments acides, jusqu'à pH 4,4, ainsi que dans des aliments dont l'activité de l'eau est au minimum de 0,95. La cuisson détruit ECEH quand toutes les parties de l'aliment atteignent au moins 70°C

1.3.3. Maladies provoquées par ECEH :

Les symptômes des maladies provoqués par ECEH sont notamment des crampes abdominales et des diarrhées susceptibles d'évoluer vers des diarrhées sanglantes (Colite hémorragique). La fièvre et les vomissements peuvent également s'observer. La période d'incubation est de 3 à 8 jours, avec une médiane de 3 à 4 jours. Dans la plupart des cas la guérison s'obtient dans les 10 jours, mais chez un petit nombre de patients (en particulier le jeune enfant et la personne âgée), l'infection peut conduire à une affection mortelle comme le syndrome hémolytique-urémique. Celui-ci est caractérisé par une défaillance rénale aiguë, une anémie hémolytique et une thrombopénie. Il peut être à l'origine de complications neurologiques (telles que convulsions, accidents cérébro-vasculaires et coma) dans 25% des cas de syndrome hémolytique-urémique, et de séquelles rénales chroniques, bénignes en général, chez 50% des survivants.

1.3.4. Contamination Du Lait Par *ESCHERICHIA COLI* :

La flore coliforme est banale dans le lait cru. Dans les élevages, les déjections des bovins Constituent le principal réservoir de ces bactéries, en particulier de l'espèce *E. coli*. Les Laits produits dans de bonnes conditions d'hygiène et correctement réfrigérés contiennent Généralement moins de 50 coliformes/ml (Sommellier et Heuchel, 1999). Les principaux vecteurs sont la peau des trayons, souillée par les fèces, et le matériel de traite mal conçu et de ce fait se nettoyant mal, que les bactéries coliformes peuvent coloniser entre les traites. En dehors de la source fécale, la contamination du lait peut être due à l'excrétion mammaire en cas d'infection à *E. coli*, ou à une contamination de l'eau utilisée pour les différentes opérations de nettoyage (Jtap., & al, 2004).

1.4. STREPTOCOQUES

1.4.1. Identification et caractère morphologique :

Il s'agit de cocci à gram positif de forme sphérique ou ovoïde, représenté en chaînette plus ou moins longue sous forme individuelle ou en diplocoque, non sporulée, aéro- anaérobie facultative.

La capsulation est un caractère irrégulier des souches du groupe A et surtout de groupe C qui forment des capsules dans la phase exponentielle de croissance.

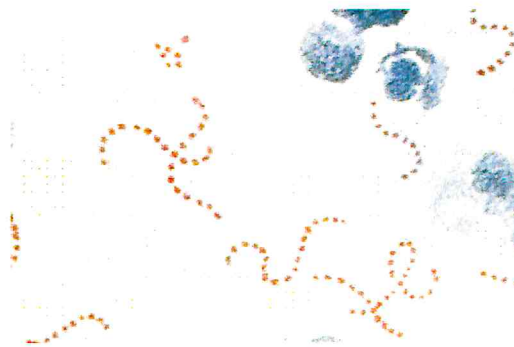


Figure05 : aspect microscopique de streptocoque

La famille des *Streptococcaceae* comprend sept genres. Parmi eux, *Streptococcus* et *Enterococcus* regroupent la plupart des espèces responsables d'infections humaines. Les caractéristiques communes à toutes ces espèces sont les suivantes : coques à Gram positif, non sporulés, immobiles, dépourvus de catalase et d'oxydase, ne réduisant pas les nitrates et résistants aux aminosides.

1.4.2. Classification :

Leur classification se fonde sur plusieurs critères :

- d'après leur pouvoir hémolytique.
- d'après leur équipement antigénique.
- d'après leurs caractères biochimiques.

On classe actuellement les streptocoques en "ensembles" et "sous-ensembles" :

- les streptocoques pyogènes.

- **les streptocoques du groupe D.**
- les streptocoques oraux.
- les streptocoques non classés.

1.4.2.1. Les Streptocoques du groupe D

Les streptocoques fécaux de groupe D sont des grams positifs, en chaînette, catalase négatif Ce groupe est caractérisé par la présence de l'antigène de groupe D qui n'est pas un polyside mais qui est constitué par l'acide teichoïque de la paroi. Cet antigène D est également présent chez les entérocoques mais des études génétiques ont conduit à séparer le genre *Enterococcus* des streptocoques. Dans le groupe D des streptocoques, il reste *S. bovis*, *S. equinus* et *S. alactolyticus* qui sont des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. *S. bovis* est l'espèce la plus fréquemment isolée chez l'homme, elle est responsable d'infections localisées, de septicémies et d'endocardites.

1.4.2.1.1 Caractères de culture :

Les streptocoques du groupe D cultivent sur des milieux ordinaires et même en présence de substances inhibitrices comme la bile. Leur croissance est encore possible à 45°C mais contrairement aux entérocoques, ils ne se développent pas en milieu hypersalé. En milieu liquide, ils produisent un trouble homogène du bouillon. Les streptocoques du groupe D cultivent sur des milieux ordinaires et même en présence de substances inhibitrices comme la bile.

1.4.1.1. 2 Caractères biochimique :

Les streptocoques du groupe D sont, comme tous les streptocoques, dépourvus de catalase. Ils hydrolysent l'esculine (un glucoside extrait du marron d'Inde). Un milieu sélectif contenant bile et esculine permet un dépistage rapide. D'autres caractères biochimiques sont utiles pour distinguer les différentes espèces, (résistance au tellurite, fermentation du mannitol, du raffinose, du sorbitol ...).

V. PREVENTION ET METHODES DE LUTTE :

L'amélioration de la sécurité sanitaire des laits et produits laitiers passe avant tout par des approches d'analyse de risques à chacun des échelons de la filière laitière (« de la fourche à la fourchette », de « l'étable à la table »).

1. Méthodes de lutte et prévention suivant les bactéries :

1.1. *Staphylococcus aureus* :

Compte tenu de la grande résistance de la toxine, il est inutile d'effectuer une pasteurisation du lait. Il convient donc d'agir en amont, c'est-à-dire d'éviter la présence de la toxine.

Les mesures de prévention ont pour but de limiter la contamination des produits par *S. aureus*, mais aussi, si contamination il y a, d'éviter son développement et la production de toxines. Pour cela il convient d'intervenir à toutes les étapes de la filière.

- **A la ferme**

- Traitement et prévention des mammites à *S. aureus* : hygiène de la traite, trempage des trayons dans une solution bactéricide après chaque traite, traitement antibiotique intra-mammaire de tous les animaux au tarissement). Cela permet d'éviter une contamination primaire des produits laitiers.
- Conservation du lait en tank réfrigéré (0 à 4°C).

- **Collecte du lait**

- Utilisation de camions à citerne réfrigérée.
- Stockage du lait en cuve réfrigérée à l'usine, avec thermisation (si possible) du lait en attente de transformation.

- **Transformation**

- Contrôles bactériologiques réguliers du lait.
- Température basse dans les ateliers.
- Limiter au maximum le nombre de manipulations du produit

- Réfrigération des produits finis (Bourgeois & al, 1996).

- **Distribution**

- Réfrigération des produits durant le transport, le stockage et la vente : respect de la chaîne du froid.
- Respect des mesures d'hygiène générales.

- **Chez le consommateur**

- Transport des produits sensibles en sac isotherme du magasin au domicile.
- Réfrigération immédiate des aliments.
- Eviter le contact entre les aliments crus et les autres aliments (Bourgeois & al, 1996).
- Traitement thermique du lait cru avant consommation : ébullition.

Les accidents alimentaires dus à *Staphylococcus aureus* étant de courte durée et d'évolution clinique rapidement favorable, de nombreux cas isolés ou familiaux ne sont pas pris en charge médicalement et ne sont pas déclarés. Ceci entraîne une importante sous-évaluation de l'importance de ces accidents. Ces accidents alimentaires ne sont pas graves mais sont fréquents. Il convient donc de lutter pour faire diminuer cette fréquence, d'autant que les méthodes de prévention sont simples : le respect des bonnes pratiques d'hygiène suffit.

1.2 *Salmonelles* :

Compte tenu du caractère ubiquiste et de la grande distribution des salmonelles dans l'environnement, il serait illusoire de vouloir éradiquer ces bactéries du réservoir représenté par les animaux (Moll, 2002). Cependant la lutte contre la salmonellose dans les élevages est un facteur de prévention important. Ceci est surtout vrai dans la filière volaille Un moyen de lutte possible est la pasteurisation puisque les salmonelles y sont sensibles, mais cela est impossible pour la production de fromages au lait cru (Debry & al, 2001).

La prévention des risques se fait également chez les consommateurs qu'il faut informer des règles d'hygiène simples. Les quelques règles principales à respecter sont les suivantes :

- L'hygiène du personnel : se laver correctement les mains pour éviter une

contamination interhumaine ou du manipulateur à l'aliment.

- Le respect de la chaîne du froid.
- Le respect des barèmes de cuisson et le maintien aux températures hors multiplication.
- La séparation des denrées crues et cuites. (Bourgeois & al, 1996).
- L'application de mesures de nettoyage et désinfection adaptées
- La mise en place d'un plan de lutte efficace contre les rongeurs qui sont souvent porteurs de salmonelles et contre les insectes qui peuvent être des véhicules passifs de ces bactéries (Lederer, 1978).

2. Maîtrise des risques :

La qualité au sens large est une préoccupation fondamentale pour l'industrie agro-alimentaire. L'hygiène est une composante indispensable pour atteindre cet objectif de qualité au sein de la filière laits et produits laitiers. La mise en place de mesures d'hygiène efficaces nécessite une démarche volontaire de l'entreprise et une sensibilisation de son personnel. L'hygiène coûte cher mais est rentable pour les entreprises au vu des conséquences que peuvent avoir les « crises sanitaires » notamment sur le plan médiatique (Guiraud, 2003).

2.1. Règle des cinq M :

Il convient, pour la fabrication de tous les produits laitiers, de maîtriser la règle des cinq M, laquelle concerne les cinq sources possibles de contamination (Jouvel, 1996).

2.1.1. Matières premières :

Le lait doit être d'une bonne qualité microbiologique. Pour cela il convient d'agir à plusieurs niveaux :

- L'animal : toute vache soumise à la traite doit être saine, ne pas présenter de mammite. Pour cela le test du premier jet doit être réalisé systématiquement avant la traite de chaque animal (Cagnin, 1993).
- La traite : il faut nettoyer convenablement les trayons de l'animal à traire. L'éleveur se doit d'avoir une bonne hygiène des mains.

- L'environnement : entretien des locaux, système d'alimentation sans production de poussières.
- L'entretien de la machine à traire, le nettoyage et la désinfection de tout matériel permettant la fabrication des produits laitiers.

2.1.2. Matériels :

Tout matériel utilisé doit être correctement lavé et désinfecté après chaque utilisation.

2.1.3. Méthodes de production :

Un respect scrupuleux des procédés de fabrication doit être appliqué, avec notamment le respect de la marche en avant.

2.1.4. Main d'œuvre :

L'hygiène du personnel, avec notamment le lavage régulier des mains, est indispensable.

2.1.5. Milieu :

Cela regroupe la contamination possible par l'air, l'eau, le sol, les insectes et rongeurs.

Les contrôles microbiologiques sont indispensables à tous les stades, tant au niveau de la fabrication que du produit fini (Guiraud, 2003, Jouvel, 2003).

2.2. Méthode H.A.C.C.P. :

L'H.A.C.C.P. (Hazard Analysis Critical Control Point) est une méthode permettant la maîtrise des risques, plus particulièrement des risques microbiologiques. Cette méthode a été définie par l'ICMSF (International Commission on Microbiological Specification of Foods). Cette démarche qualité permet de responsabiliser le producteur sans pour autant se substituer à la réglementation. La méthode H.A.C.C.P. repose sur trois principes essentiels :

- L'identification et l'analyse des dangers : identification des dangers liés à la production de l'aliment, à tous les stades de sa fabrication. Evaluation de la probabilité de survenue de ces dangers et identification des mesures préventives nécessaires.
- La maîtrise des points critiques (Critical Control Point) : les points critiques correspondent aux étapes de l'élaboration du produit où la contamination, l'activité

microbienne ou la survie microbienne peuvent se produire. Il convient de les identifier et de mettre en place des critères opérationnels (valeurs limites, tolérances). Des mesures correctives doivent être mises en place lorsqu'un CCP n'est pas maîtrisé.

- La vérification de l'efficacité du système par la surveillance des points d'exécution (Guiraud, 2003., Lapie., Maillet-Verite, 2002).
- Pour satisfaire à ces principes, une équipe H.A.C.C.P. doit être constituée ; elle doit réunir les personnes impliquées dans la qualité au sein de l'entreprise. Cette équipe doit travailler successivement sur :
 - La description du produit.
 - L'identification de son utilisation : modalités normales ou non.
 - La description des procédés de fabrication du produit et sa vérification sur le site.
 - L'analyse des dangers, l'évaluation et la formalisation des mesures préventives à mettre en place.
 - L'identification des points critiques.
 - L'établissement des valeurs cibles et des tolérances.
 - L'élaboration des opérations de surveillance et des mesures correctives ainsi que leur enregistrement.
 - La vérification du système ainsi établi et la mise en place de la documentation correspondante (Guiraud, 2003).

La méthode H.A.C.C.P. est lourde à mettre en place. De nombreuses entreprises ont recours à des structures de conseil externes. Pour les petites entreprises il semble difficile de se lancer dans une telle démarche, longue et coûteuse. C'est pourquoi des guides de bonnes pratiques d'hygiène ont été créés afin de donner des lignes directrices à ces petites entreprises.



Partie Expérimentale

ETUDES EXPERIMENTALE :

1. Objectif de l'étude

L'objectif du présent travail est l'étude de l'évolution de la flore pathogène du lait cru dans ses différents circuits, en allant de la cuve d'élevage jusqu'au circuit de vente. Pour cela les prélèvements d'échantillons ont été faits au niveau de la laiterie de Beni-Tamou.

Pour cette étude 20 échantillons ont été prélevés pour chaque circuit, l'analyse bactériologique a été faite au niveau du laboratoire d'hygiène de Blida. A une période de 3 mois (15Mars - 15Mai).

2. Matériels :

2.1. Appareillages :

- Incubateur à 37°C
- Bain Marie

2.2. Milieux de culture :

- Bouillon lactose au Vert Brillant muni d'une cloche de Durhan VBL.
- Milieux de Giolitti Cantonii.
- Gélose Chapman.
- Gélose Hektoen.
- Eau Physiologique.
- Tryptone Sel Eau TSE.
- Milieu Urée d'indole.
- Sérum humain.
- Milieux Eva en tube.
- Schubert en tube.
- BHIB.

- Esculine.
- Rothe.
- Bouillon au Sélénite Acide de Sodium et Cystéine SFB D/C+ Cystéine.

I.2.3. Les réactifs :

- Additifs tellurite de Potassium.
- Additif Héktoen.
- Huile de Kovacs.
- Additif Sélénite de Sodium.

3. Méthode de prélèvement du lait cru :

La présente étude a porté sur 20 échantillons pour chaque circuit prélevés de lait cru issu:

- circuit des cuves de chaque élevage.
- circuit de collecte de la laiterie de Beni-Tamou.
- circuit de vente directe.

Origine des prélèvements	Nombre
Circuit des cuves chaque élevages	20
Circuit de collecte	20
Circuit de vente directe	20
Total	60

3. a. Circuit des cuves des élevages :

Les prélèvements étaient réalisés au niveau des cuves des différents élevages du lait cru qui est distribuée à la laiterie.

3. b. Circuit de la collecte :

Les prélèvements réalisés à partir des citernes des collecteurs avant la pasteurisation ou la transformation.

3. c. Circuit de vente directe (Crémerie) :

Les prélèvements sont réalisés du lait qui est destiné à la consommation directe et la transformation en petit lait, lait caillé et en beurre.

3.1 .Transport du lait :

Le lait est prélevé dans des flacons 60 ml étiquetés et numérotés portant la localité et la date de prélèvement, le transport de ces prélèvements est assuré dans une glacière munie de poche de glaces.

4. Analyses Microbiologiques :

4.1. Préparation des dilutions :

25ml de l'échantillon à analyser sont introduits aseptiquement dans un flacon de 225ml de diluant TSE et sont homogénéisés par la suite, cette suspension constitue alors la solution mère qui correspond donc à la dilution 1/10.

1ml de la solution mère est introduite ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre gradué et stérile dans un tube à vis contenant au préalable 9ml d'eau physiologique, cette dilution est de l'ordre de 1/100 et de même façon on obtient la dilution 1/1000

Ces dilutions sont préparées pour le lait de chaque circuit cité au préalable.

4.2. Recherche de *staphylococcus aureus* : norme

Dans le cas du lait et des produit laitiers la recherche de *staphylococcus aureus*, se fait par enrichissement sur milieu de Giolitti Cantonii, les tubes virés vers le noir sont présumés positifs, par la suite un test de confirmation est fait par isolement sur gélose Chapman, afin de s'assurer de leur présence.

4.2.1.-Préparation du milieu d'enrichissement :

Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu de Giolitti Cantonii pour y ajouter environ 15ml d'une solution de tellurite de potassium, soit une ampoule et demi ; Mélanger soigneusement le milieu et additif. Le milieu est alors prêt à l'emploi.

a -Ensemencement :

A partir des dilutions décimales retenues, porter aseptiquement 1ml par dilution d'un tube à un autre tube à vis stérile. Ajouter par la suite environ 15ml du milieu d'enrichissement de Giolitti Cantonii. Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

b -Incubation : L'incubation se fait à 37°C pendant 18-24h.

c -Lecture : Les tubes ayant virés au noir seront présumés positifs.

Test de confirmation :

Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman préalablement fondus, coulée en boîte de pétri et bien séchée.

A l'aide d'une pipette pasteur, les boîtes de Chapman ainsi ensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24-48h, après ce délai repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune et pourvues d'une catalase et d'une coagulase.

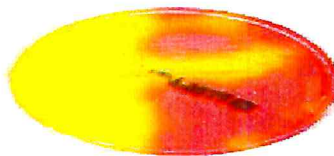


Figure01 : colonies suspect *Staphylococcus.aureus*

4.2.2 -Expression des résultats :

Si à une dilution le tube a noirci au bout de 24h d'incubation, mais à la l'isolement sur Chapman il n'y a pas de colonies caractéristiques, ce tube est considéré comme négatif. Si par contre, à une des dilutions le tube a noirci au bout de 24h d'inoculation et à l'isolement il y a des colonies caractéristiques, il faut tenir compte de la dilution en question car le nombre réel de *staphylococcus aureus* correspond à l'inverse de la dilution.

Des tests biochimiques rapides sont effectués sur 2 à 3 colonies de chaque boîte pour s'assurer qu'il s'agit bien de colonies de *staphylococcus aureus* à savoir :

- une épreuve à la catalase (à l'aide de l'eau oxygénée)
- une épreuve à la coagulase (à l'aide de sérum humain)

4.3. Recherche d'*Escherichia-coli* :

Les coliformes se distinguant des autres entérobactéries par leur aptitude à fermenter le lactose, leur détection consiste à incuber l'échantillon à 37°C pendant 24h à 48h dans le VBL muni d'une cloche de Durham.

Une production de gaz et un virage de l'indicateur de PH confirment la présence des coliformes.

4.3.1 Mode opératoire :

Dans les denrées alimentaires les coliformes sont dénombrés en milieu liquide par la technique NPP (nombre le plus probable), à l'aide de bouillon VBL réparti à raison de 10ml dans les tubes munis d'une cloche de Durham. La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux.
- Le test de confirmation : réservé à la recherche d'*Escherichia coli*

a-Test de présomption :

Une série de 9 tubes contenant le milieu sélectif (VBL) à raison d'un tube par dilution sont préparés à partir des dilutions décimales, 1ml de solution est porté aseptiquement dans chaque tube correspond à une dilution donnée. Le gaz présent est chassé éventuellement dans les cloches de Durham et le milieu et l'inoculum sont bien mélangés.

b-Incubation : se fait à 37°C pendant 24 à 48h.

c-Lecture : Sont considérés comme positifs, les tubes présentant un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).



Figure02 : milieux VBL positif

Test de confirmation :

Les tubes de VBL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans un tube de milieu Schubert muni d'une cloche.

a-Incubation : à 37°C pendant 24h.

Lecture : Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux dans les tubes de Schubert.
- Un anneau rouge en surface témoin de la production d'indole par *E. coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs dans le tube de Schubert.



Figure03 : anneau rouge après kovacs sur Schubert

4.4. Recherche de streptocoque de group D :

Une série de tubes contenant le milieu sélectif (ROTHER) à raison d'un tube par dilution sont préparés à partir des dilutions décimales, 1ml de solution est porté aseptiquement dans chaque tube correspondant à une dilution donnée. Le milieu et l'inoculum sont bien mélangés.

-Incubation : à 37°C pendant 24h.

-Lecture :

Sont considérés comme positifs les tubes présentant, Un trouble microbien accompagné d'un pastis au fond du tube. Les tubes de (ROTHER) trouvés positifs feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans un tube de milieu sélectif EVA, le milieu et l'inoculum sont bien mélangés.

-Lecture : Les tubes sont considérés comme positifs présentant :

- Un trouble microbien accompagné d'un pastis au fond de tube.

Test de confirmation :

Pour confirmer la présence des *streptocoques de groupe D* ; les tubes de EVA trouvés positifs feront l'objet d'un piquage central dans le milieu sélectif Esculine ;

-Incubation : à 37°C pendant 24 h.

-Lecture : Les résultats positifs qui confirment le *streptocoque group D* présentant : le changement de la couleur du milieu esculine de vert vers le noir.



Milieux esculine



Milieux esculine positif

4.5. Recherche de salmonella :

Dans le présent travail, la norme AFNOR V08-052 relative à la méthode de routine pour la recherche des salmonelles a été choisie. Cette méthode est largement utilisée dans les laboratoires d'hygiène alimentaire

J1 : Pré-enrichissement :

À l'aide d'une pipette graduée stérile prélever 25 ml de lait et l'introduire dans un flacon contenant 225 ml d'EPT (Eau peptone tamponnée). Mélanger et numéroter les flacons et incubé à 37°C pendant 18-24h

J2 : Enrichissement :

Prélever à l'aide d'une pipette graduée stérile 2ml de milieu de pré-enrichissement et les mettre dans un tube de bouillon Sélénite Cystéine (SFB+disque Cyst), Numérototer les tubes qui seront incubés à 37°C pendant 18-24h



Tube SFB virée vers l'orange

J3 : Isolement sélectif :

Après incubation, si le milieu vire vers l'orange, prélever à l'aide d'une anse de platine stérile une goutte à partir du bouillon sélectif.

Au bord d'une boîte Hektoen numérotée, déposer la goutte et ensemercer d'une façon à permettre le développement de colonies bien distinctes.

- Toute les boites ainsiensemencées, seront incubées à 37°C pendant 24h.

J4 : Lecture

Après incubation, examiner les boites afin de rechercher la présence de colonies typiques des salmonella.

Les colonies suspectes sont lactose négatif, vert ou bleu avec ou sans centre noir.

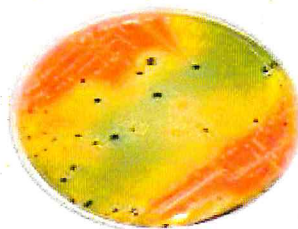


Figure04: colonies suspect *Salmonelle*

2. Résultats des analyses microbiologiques :

Tableau01 : Résultat de l'analyse microbiologique du lait de vente directe (Crémerie):

N° d'échantillon	<i>E. coli</i>	<i>Streptocoque</i>	<i>Staphylocoque</i>	<i>Salmonelle</i>
01	Présence	Présence	Présence	Absence
02	Absence	Absence	Présence	Absence
03	Présence	Présence	Présence	Absence
04	Présence	Présence	Absence	Absence
05	Absence	Présence	Absence	Absence
06	Absence	Absence	Présence	Absence
07	Absence	Absence	Présence	Absence
08	Absence	Absence	Présence	Absence
09	Absence	Absence	Absence	Absence
10	Absence	Absence	Absence	Absence
11	Présence	Absence	Absence	Absence
12	Absence	Absence	Présence	Absence
13	Absence	Présence	Présence	Absence
14	Absence	Présence	Présence	Absence
15	Présence	Absence	Présence	Absence
16	Présence	Absence	Absence	Absence
17	Présence	Absence	Présence	Absence
18	Absence	Absence	Présence	Absence
19	Présence	Absence	Présence	Absence
20	Absence	Absence	Présence	Absence

Le résultat de l'Analyse microbiologique Prélèvements de lait du circuit de vente directe sur 20 échantillons montre que (13) échantillons sont contaminés par les Staphylocoques, alors que le résultat d'E. Coli était positif sur (08) échantillons par rapports au Streptocoque qui n'étaient présents que sur (06) échantillons analysés, avec une absence totale des salmonelles

Tableau 2. Résultat de l'analyse microbiologique du lait de collecte :

N° d'échantillon	<i>E. coli</i>	<i>Streptocoque</i>	<i>Staphylocoque</i>	<i>Salmonelle</i>
01	Absence	Présence	Absence	Absence
02	Absence	Présence	Absence	Absence
03	Présence	Absence	Présence	Absence
04	Absence	Présence	Présence	Absence
05	Présence	Présence	Présence	Absence
06	Présence	Absence	Absence	Absence
07	Absence	Présence	Absence	Absence
08	Absence	Absence	Absence	Absence
09	Absence	Présence	Présence	Absence
10	Absence	Présence	Présence	Absence
11	Présence	Présence	Absence	Absence
12	Présence	Absence	Absence	Absence
13	Absence	Présence	Absence	Absence
14	Absence	Présence	Présence	Absence
15	Absence	Présence	Absence	Absence
16	Absence	Présence	Absence	Absence
17	Absence	Présence	Présence	Absence
18	Présence	Présence	Présence	Absence
19	Absence	Absence	Présence	Absence
20	Absence	Présence	Présence	Absence

L'analyse microbiologique des prélèvements de lait de la collecte a révélé que 15 échantillons sont contaminés par les Streptocoque, alors que les *E. coli* se retrouvent respectivement positif sur (06) échantillons par apports au Staphylocoque qui sont présents sur (10) échantillons analysés et une absence totale des salmonelles

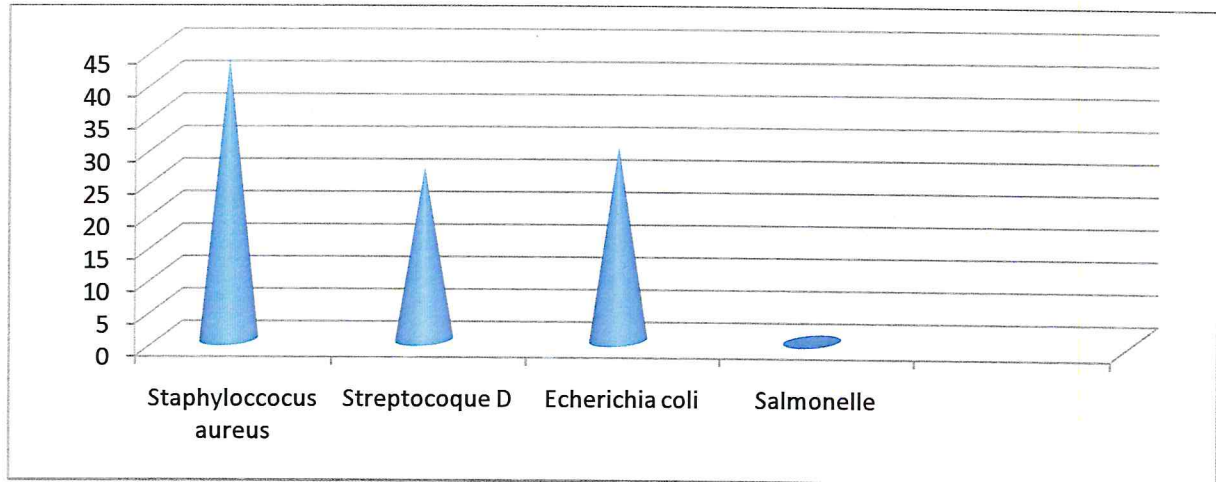
Tableau 03 : Analyse microbiologique des prélèvements de lait de la cuve :

N° d échantillon	<i>E. coli</i>	<i>Streptocoque</i>	<i>Staphylocoque</i>	<i>Salmonelle</i>
01	Présence	Présence	Présence	Absence
02	Présence	Présence	Présence	Absence
03	Absence	Absence	Présence	Absence
04	Absence	Absence	Absence	Absence
05	Absence	Absence	Absence	Absence
06	Présence	Absence	Absence	Absence
07	Absence	Absence	Présence	Absence
08	Absence	Absence	Présence	Absence
09	Absence	Absence	Présence	Absence
10	Absence	Absence	Présence	Absence
11	Présence	Présence	Absence	Absence
12	Présence	Présence	Absence	Absence
13	Absence	Absence	Absence	Absence
14	Absence	Absence	Présence	Absence
15	Absence	Absence	Présence	Absence
16	Absence	Absence	Présence	Absence
17	Présence	Présence	Absence	Absence
18	Présence	Présence	Présence	Absence
19	Présence	Présence	Présence	Absence
20	Présence	Présence	Présence	Absence

Les résultats montrent que 13 échantillons sont contaminés par les Staphylocoques, alors que les *E. coli* se retrouvent respectivement positifs sur (09) échantillons par rapports au Streptocoques qui sont présents sur (08) échantillons analysés et une absence totale des salmonelles.

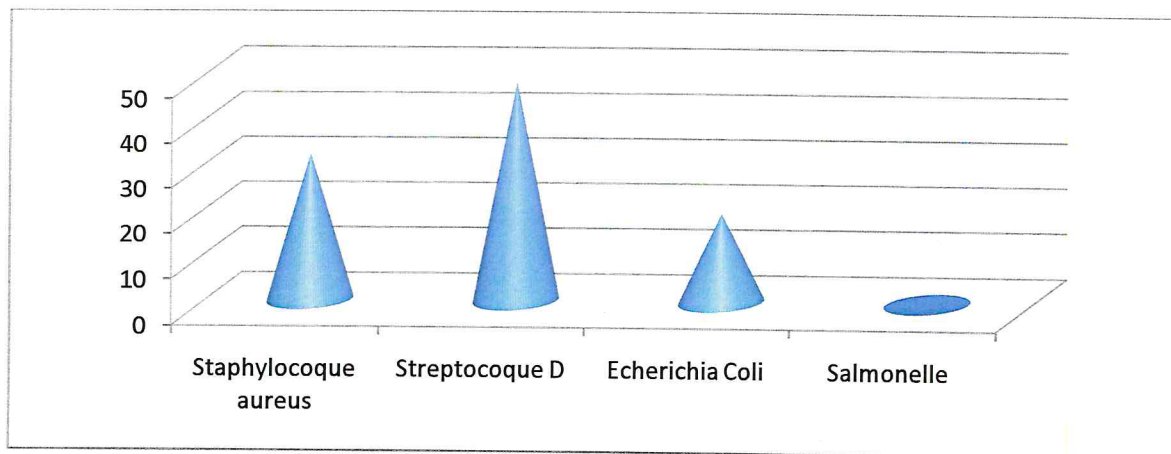
2. Pourcentages des différents micro-organismes dans le lait cru

Graphe 01 : Pourcentage de la présence des germes au niveau de la cuve

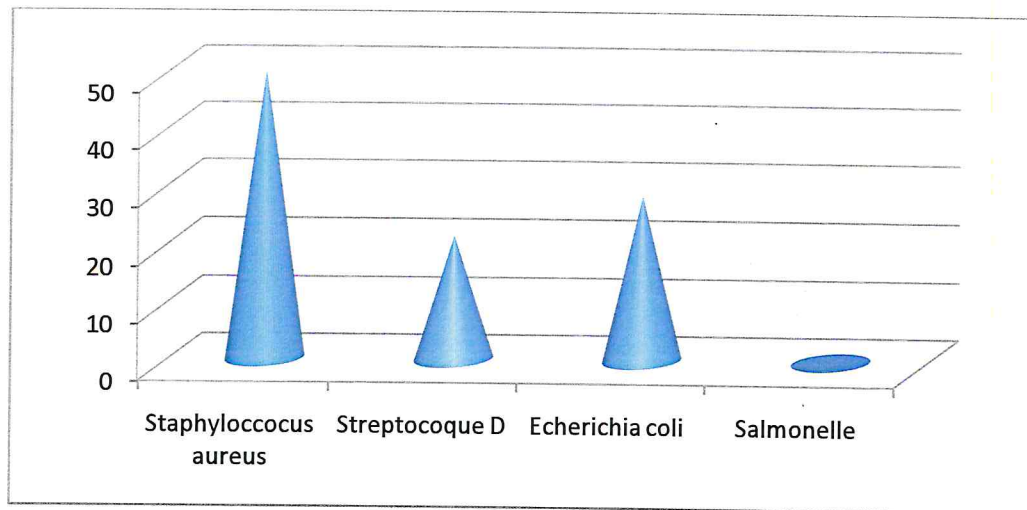


Le graphe (01) révèle une présence importante de staphylocoques dans les cuves des différents élevages d'un taux de **(43,33%)** plus élevés comparé à E. coli **(30%)** et Streptocoques **(26,68%)**.

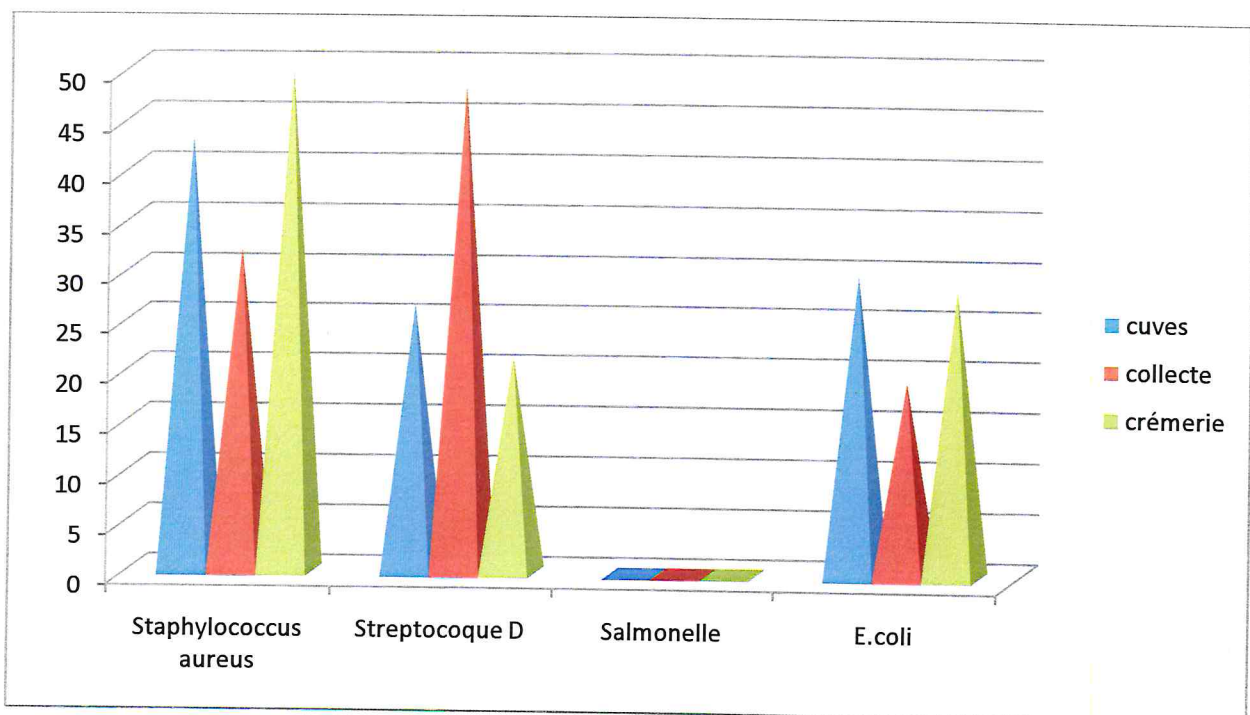
Graphe 02 : Pourcentage de la présence des germes au niveau du circuit de la collecte



Graphe (02) montre que le taux des streptocoques est le plus élevé avec un pourcentage de **(48,38%)**, suivi de staphylocoques **(32,25%)** puis E. coli **(19,35%)**.

Graphe 03 : Pourcentages de la présence des germes au niveau du circuit de vente directe

Le Graphe (03) montre un taux de (50%) pour les staphylocoques, (21,42%) pour les streptocoques, et (28,5%) pour Escherichia coli. Ce résultat démontré aussi sur le graphe 03

Graphe 04 : Evolution des germes pathogène dans les différents circuits

Discussion :

Les Streptocoques :

D'après le Graphe (04) le pourcentage des échantillons positif est le plus élevé, (**48,38%**), les résultats de BOUMEDINE en 2003 qui était de (**1,36%**) dans l'ouest algérien ainsi que BEROUALKA en 2003 (**0,03%**).

Les résultats obtenus dans les différents laits de la collecte montrent une mauvaise gestion d'élevage (condition d'hygiène) de ces exploitations ce qui explique le taux élevé des streptocoques. Cela a été prouvé lors de notre visite aux étables d'élevage, (voir Annexe II)

Notre présente étude montre que les Streptocoques D ont un taux beaucoup plus élevé au niveau de la collecte d'un pourcentage (**48,38%**) par rapport à la vente directe (crèmerie) (**21,42%**) et circuit des cuves des différents élevages (**26,66%**).

Pour VEISSEYE (1975), les streptocoques fécaux résistent à une température de 88°C pendant 10 minutes. La présence de streptocoques fécaux est un signe d'une contamination exogène lors de la traite, de la transformation, ou alors après la pasteurisation si celle-ci a été efficace. C'est également ce qui a été prouvé par (REINBOLD, 1983).

-Le nombre des Streptocoques D dans le cas du lait cru réfrigérer doit, en outre, rester limité parce qu'on présume que ces streptocoques proviennent directement ou indirectement d'une contamination fécale et peuvent éventuellement jouer un rôle dans les intoxications alimentaires (Waes, 1973).

Staphylocoque :

La présence de *Staphylococcus aureus* a été mise en évidence dans 13 échantillons positifs, soit un pourcentage de (**50%**) au niveau de circuit de crèmerie, sachant que les *Staphylococcus aureus* peuvent être à l'origine de production d'entérotoxine thermostable néfaste.

Ces taux sont inférieurs avec ceux présentés par BAAZIZ en 2006 (**58%**), les *Staphylococcus aureus* sont généralement d'origine des mammites sub-cliniques ou à cause d'un défaut d'hygiène ce qui était généralement observé au cour de notre étude.

Nos résultats concordent avec ceux présentés par (ORLANDINI, 1999), que l'animal peut être source de contamination lors de mammite clinique ou sub-clinique ou peut être un porteur latent au niveau cutané et selon (GUIRAUD, 2003), les staphylocoques est commensal de la peau de l'homme lors des traite manuelle

Le Graphe (04) montre le taux des bactéries pathogène sur les 3 circuits

- pour les *staphylococcus aureus* la contamination du lait cru est élevée par rapport aux autres bactéries surtout dans le circuit crèmerie (vente directe) qui représente un pourcentage de (50%)

- Lors de la préparation du produit au niveau de crèmerie

Staphylococcus aureus est commensal de la peau de l'homme. Celui-ci peut donc contaminer tout aliment lors de manipulations

Et de (43,33%) à la cuve des fermes, La contamination peut se faire par l'air ambiant, manque hygiène de la traite et les tanks de stockages (voire annexe II)

- Des mammites à *Staphylococcus aureus* entraînent une contamination importante du lait

Et de (32,25%) à la collecte *Staphylococcus aureus* est une bactérie ubiquiste, commensale de la peau de l'homme. Elle peut également se retrouver sur les vêtements ainsi que dans l'environnement,

-manque d'hygiène lors de stockage dans les citernes mal réfrigérées.

-manque d'hygiène des camions et du matériel utilisée pour la collecte du lait

E .Coli :

Nos résultats concorde avec ceux présentés par (ARIMI & al, 2000) (34%), légèrement inférieure avec (PISSANG TCHANGAI, 1992) (76 ,67%)

pour coliformes thermotolérant (E. Coli) ont un pourcentage beaucoup plus élevé dans les laits des cuves (30%) et de la crèmerie (vente directe) (28,25%) par rapport au circuit de la collecte (19,35%) cependant *Escherichia Coli* constitue le meilleur indicateur d'une contamination fécale et sa présence constitue un bon indice de la mauvaise pratique d'hygiène ou de stabulation car les micro-organismes faisant le fumier et les matières en décomposition... (Voir photos Annexe II)

Conclusion :

L'origine des contaminations par les bactéries pathogènes varie en fonction de la nature du produit ainsi que de son mode de production et de transformation. La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine :

Endogène, et elle fait alors suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut être d'origine

Exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eau, personnel).

Actuellement la maîtrise de ces bactéries pathogènes dans le lait cru et les produits dérivés du lait cru (lait fermenté l'ben, lait caillé, fromage à base de lait cru) nécessite la mise en place de système de contrôle et de surveillance qui doit être renforcé par une réglementation très stricte.

Le dénombrement des coliformes dans le lait permet la mise en évidence d'une pollution fécale et donc la possibilité d'une contamination par les entérobactéries pathogène. Les coliformes absorbés en quantité massive (1 million à 1 milliard de germes) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux. Certaines espèces telle que *Escherichia coli* dont certaine souche sont entéro-pathogène peuvent être responsable de grave toxi-infection (F.A.O 1995)

Salmonelle :

-l'absence total des salmonelles est un bon indice de l'état sanitaire des vaches et de personnel et les manipulateurs du lait car les salmonelles sont des hôtes de tube digestifs des animaux et de l'homme par ses mains, ses expectorations, ses vêtements souillées.

Recommandation

Le lait est un milieu propice au développement des micro-organismes qui sont responsables d'altérations du produit mais également dangereux pour la santé humaine.

Pour limiter les dangers bactériens et améliorer la qualité du lait qui est destiné à la consommation humaine nous proposons les recommandations suivantes :

- Conservation du lait à une température inférieure à 4°C pour arrêter la multiplication du germe
- Des analyses microbiologiques obligatoires pour les laits des crémeries
- Contrôle régulier du lait pour évaluer le niveau de la contamination
- Un contrôle sanitaire des cheptels laitiers effectués par un vétérinaire est obligatoire
- Hygiène d'étable : l'étable où sont logés les vaches, et les locaux annexes doivent être à tout moment convenablement nettoyés, nets et en bon état
- Respecter l'hygiène du matériel de traite dans ce cas un plan de nettoyage, de désinfection de la machine à traire doit être rigoureux.
- Respecter l'hygiène du matériel de stockage, transports, conservations
- Utiliser une eau potable pour les opérations de traite (lavage de la mamelle et du matériel de traite)
- Consommer de préférence de lait après un traitement thermique (ébullition)
- Nettoyage et désinfection régulière des locaux et du matériel
- Hygiène de personnel (état de santé) et formation sur les règles d'hygiène
- Limiter le nombre de manipulation du produit
- Mise en place d'un protocole de type H.A.C.C.P et respect de guide de bonne pratique d'hygiène

Les références bibliographiques

- ◇ **ARIMI, SM., Koroti, E., Kang'ethe, EK., Omore, A, O, Mc., Dermott, JJ., Macharia, J.K., Nduhin, J.G., Githna, AM. (2000).** (Risk of infection from E .coli O157: h7.through informally marketed.raw milk in Kenya).paper prepared for oral presentation at the 3rd all Africa conference or animal, Agriculture,
- ◇ **BOLNOT, F.H., QUINTARD, J-C. (2004).** La sécurité sanitaire des aliments, parlons-en.
- ◇ **BOURGEOIS, C.M., MESCLE, J.F., ZUCCA, J. (1996).** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Tome 1. Editions Tec et Docs, Paris, 672 p.
- ◇ **CAGNIN, C. (1993).** La microflore bactérienne psychrotrophe des laits et produits laitiers. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 80 p + annexes.
- ◇ **DEBRY, G. (2001).** Lait, nutrition et santé. Editions Tec et Docs, Paris, 566 p.
- ◇ **DGCCRF.** (page consultée le 1/3/2004) La surveillance de la contamination par *Listeria monocytogenes* des aliments à la distribution de 1997 à 2001.
- ◇ **DUDEZ, P. (2002).** Transformer les produits laitiers frais à la ferme. Editions Educagri, Dijon, 237 p.
- ◇ **DUPIN, H., CUQ, J.L., MALEWIAK, M.I., LEYNAUD-ROUAND, C., BERTHIER, A-M. (1992).** Alimentation et nutrition humaines. ESF Editeur, Paris. 1530 p.
- ◇ **ECK, A., GILLIS, J.C. (1997).** Le fromage, 3èmeédition. Editions Tec et Docs, Paris, 891 p.
- ◇ **FABRE, J-M., SANS, P. (2000).** Le nouveau paysage de la qualité du lait en France, Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, Juin/Juillet/Août 2000, Numéro 8, P 29 à 33.
- ◇ **FREDERICCI-MATHIEU, C. (2000).** Résidus dans le lait et sécurité alimentaire : quels risques ? quels moyens de maîtrise ? Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, avril/mai 2000, numéro 7, p19 à 22.
- ◇ **GAUCHARD, F., BAISABOIS, A., ESPIE, E . (2002).** Salmonelle d'origine bovins et santé publique. Bulletins des groupements techniques vétérinaire, Juillet / Septembre 2002.

- ◇ **GELINAS, P. (1995).** Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments. Edition Edisem, Sainte Hyacinthe(Québec), 207 p.
- ◇ **GUIRAUD, J-P. (2003).** Microbiologie alimentaire; Edition Dunod; Paris; 651 p.
- ◇ **HEUCHEL, V., MARLY, J., MEFFE, N. (2003).** La contamination du lait de vache par les salmonelles. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, janvier/février 2003, numéro 18, p 53 à 57.
- ◇ **J.O.R.F 11-01** Arrêté du 30 décembre 1993, modifié par Arrêté du 2 mars 1995, Arrêté du 2 août 1996 et Arrêté du 10 février 1997, relatif aux conditions d'installation, d'équipement et de fonctionnement des centres de collecte ou de standardisation du lait et des établissements de traitement et de transformation du lait et des produits à base de lait.
- ◇ **JOUVE, J-L. (1996).** La qualité microbiologique des aliments, Maîtrise et critères, 2ème édition. Edition Polytechnical, Paris, p 372-444.
- ✕ ◇ **Jtap. (2004).** caractérisation moléculaire des Escherichia Coli du séro groupe O111 .institut pasteur.
- ◇ **LAPIE, P. (2001).** L'hygiène alimentaire source de santé. Editions Fourcher, Paris, 127 p.
- ◇ **LAPIE, P., MAILLET-VERITE, V. (2002).** Sciences appliquées : Alimentation-Hygiène. Edition Delagrave, Paris, 95 p.
- ◇ **LAURENTIE, M., SANDERS, P. (2002).** Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, avril/mai/juin 2002, numéro 15, p 51 à 55.
- ◇ **LEDERER, J. (1977).** Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire, Tome II. Hygiène des aliments. 2ème édition. Edition Maloine, Paris, 310 p.
- ◇ **LEDERER, J. (1978).** Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. Tome IV. Les intoxications alimentaires. 2ème édition. Edition Maloine, Paris, 214 p.
- ◇ **LEPOUTRE, D., PETIT, C. (2000).** Maîtrise des résidus dans le lait : le rôle du vétérinaire praticien. Bulletin des groupements techniques vétérinaires, juin/juillet/août 2000, numéro 8, p 47 à 51.
- ◇ **MARTIN, B. Co. (2001).** L'homme et ses aliments : initiation à la science des aliments, 2ème Édition. Les presses de l'Université Laval, Saint Nicolas (Québec), 370 p.
- ◇ **MOLL, M., MOLL, N. (2000).** Précis des risques alimentaires, Editons Tec et Docs, Paris, 378 p.

- ◇ **MOLL, M., MOLL, N. (2002).** Sécurité alimentaire du consommateur ; 2ème édition. Edition Tec et Doc, Paris, 442 p.
- ◇ **MONGEOT, J. (2000).** L'angoisse dans nos assiettes : la vérité sur notre alimentation. Edition Plon, Paris, 259 p.
- ◇ **Options Méditerranéennes, Sér. B / n°14, 1995.** Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000.
- ◇ **ORLANDINI. (1999).** Les bactéries pathogènes à l'origine d'accidents alimentaires en France : rappels généraux et méthodes de détection rapide. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 185 p.
- ◇ **PISSANG. TCHANGAI, D. (1992).** (contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits et produits laitiers commercialisés au Togo).thèse d'état docteur vétérinaire univ, cheikh Anta Diop de Dakar.
- ◇ **REINBDLD, GW. (1983).** Indicators organisms in dairy products, Food technology, june (1983).
- ◇ **SCHELCHER, F., ANDREOLETTI, O., FOUCRAS, G., MEYER, G., VALARCHER, J-F., CABANIE, P. (2001).** La listériose des ruminants: tableaux cliniques et diagnostic de laboratoire. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, mai/août, numéro 11, p 29 à 35.
- ◇ **SUTRAL. FEDERIGHI, M., JOUVE, J.L. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica, Paris, 308 p.
- ◇ **VEISSEYRE, R. (1975).** Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait Ille édit. Paris: La Maison Rustique, 714 p.

Liste des sites web :

- ◇ [www. L'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.com](http://www.L'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.com).
- ◇ http://www.finances.gouv.fr/DGCCRF/04_dossiers/consommation/controles_alimentaires/actions/listeria0802.htm
- ◇ www.wikipédia.com

ANNEXE I

CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES

TABLEAU I

CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS

PRODUITS	n	c	m
1. Lait cru :			
— germes aérobie à 30° C	1	—	10 ⁶
— coliformes fécaux	1	—	10 ⁶
— streptocoques fécaux	1	—	abs/0,1ml
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	1	—	50
— antibiotiques	1	—	absence
2. Lait pasteurisé conditionné :			
— germes aérobie à 30° C	1	—	3.10 ⁴
— coliformes :			
* sortie usine	1	—	1
* à la vente	1	—	10
— coliformes fécaux			
* sortie usine	1	—	absence
* à la vente	1	—	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	1
— phosphatase	1	—	négatif
3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :			
— germes aérobie à 30° C	5	2	< 10/0,1 ml
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	négatif
— test chaleur	5	0	négatif
4. Lait concentré non sucré :			
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	negatif
— test chaleur	5	0	négatif
5. Lait concentré sucré :			
— germes aérobie à 30° C	5	2	10 ⁴
— coliformes	5	0	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	0	absence
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
6. Lait déshydraté conditionné (1) :			
— germes aérobie à 30° C	5	2	5.10 ⁴
— coliformes	5	2	5
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	2	50
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
— antibiotiques	1	0	absence

ANNEXE I

Composition des Milieu de culture

- Eau physiologique :

- Clore de sodium..... 8.5g.
- Eau distillé.....100ml.

PH = 8.9.

- Gélose Chapman :

La composition des milieux est de type g/l

- peptone 11
- Extrait de viande 1
- Chlorure de sodium 75
- Mannitol 10
- Agar 15
- Rouge de Phénol 0,0025

pH=7,4-7,5

- Gélose Hektoen :

Composition : en g/l

- Protéose Peptoné 12
- Extrait de levure 3
- Chlorure de sodium 5
- Thiosulfate de Sodium 5
- Sels biliaires 9
- Citrate de fer ammoniacal 1,5
- Salicine 2
- Lactose 12

- Saccharose 12
- Fuchsine acide 0,1
- Bleu de Bromothymol 0,065
- Agar 14

pH=7,5

- **Milieu bouillon glucose à l'azide de sodium (ROTHER)**

- Hydrolysate trypsique de caséine.
- peptone bactériologique de caséine.
- Glucose.
- Chlorure de sodium.
- Phosphate diplotastique.
- Phosphate monopotassique.
- Azide de Sodium.

PH = 6.8-7.

- **Bouillon Ethyle-violet-azide (E.V.A-Litsky)**

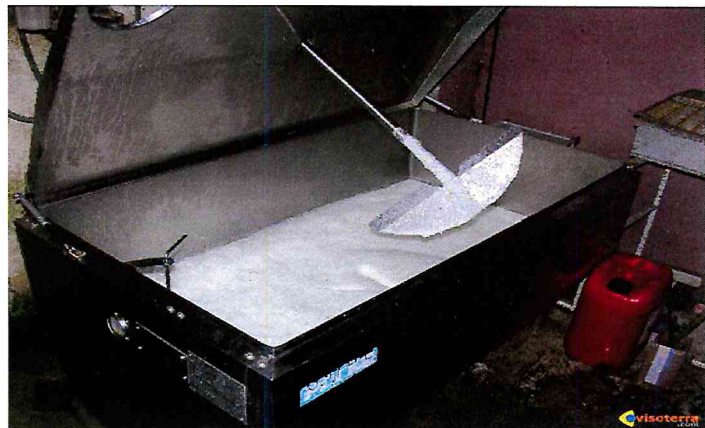
- Peptone.
- Glucose.
- Chlorure de Sodium.
- Phosphate de diplotastique.
- Azohydrate de Sodium.
- Ethyle violet.

PH = 6.8-7.

ANNEXE II



Manque d'hygiène de l'étable



Manque d'hygiène de stockage du lait