

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE SAAD DAHLEB – BLIDA



FACULTE DE MEDECINE - DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Docteur en pharmacie

Intitulé :

**Recherche et identification des germes pathogènes
et étude de la qualité hygiénique des produits
laitiers artisanaux**

Le : 14 juillet 2022

Présenté par :

- Amara Nour elhouda
- Benrebha Naouel

Encadré par :

- Dr Merzougui.H Maitre assistante en hydro-bromatologie

Jury d'évaluation :

- Présidente du jury : Dr Benamara.M Maitre assistante en microbiologie
- Examinatrice : Dr Semmar.I Maitre assistante en hydro-bromatologie

Année universitaire :

2021 – 2022

Remerciement

*Nous remercions tout d'abord **ALLAH** Le Tout Puissant pour nous avoir accordé la santé, l'énergie et l'opiniâtreté nécessaire à la réalisation de ce modeste travail.*

*Nous remercions très singulièrement notre promotrice **Dr Merzougui Hana**, Maitre assistante en hydro-bromatologie, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de cette étude. Tout au long de la réalisation de ce mémoire, nous avons pu apprécier son enthousiasme, son savoir-faire, sa pédagogie et son sens de communication.*

*On voudrait exprimer notre gratitude aux examinatrices de ce mémoire **Dr I. Semmar** Maitre assistante en hydro-bromatologie et **Dr M. Benamara** Maitre assistante en Microbiologie pour avoir bien accepté la lourde tâche de lire l'intégralité de ce manuscrit et de participer au jury de notre soutenance. Aussi de nous avoir accordé de leurs temps.*

On remercie vivement tous les membres de l'équipe du Laboratoire d'hygiène Blida.

*On tient particulièrement à remercier **Mr Teffahi Djamel** pour nos discussions scientifiques assidues et pour toutes les informations utiles qu'on a eues.*

*Un grand merci à **Mme I. Halouane**, responsable du laboratoire de contrôle qualité et répression des fraudes Blida de nous avoir accordé l'accès à son laboratoire de microbiologie pour effectuer une partie de nos analyses. On voudrait exprimer notre gratitude aux ingénieures de laboratoire pour nos avoir donné la permission d'utiliser tout le matériel dont nous avons besoin ainsi que pour l'ambiance chaleureuse assurée au laboratoire.*

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements aux responsables et équipe des laboratoires d'hygiène de Blida et de Tipaza pour les réactifs qu'ils nous ont fournis.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos parents, nos amis, nos camarades ainsi que tous ceux qui nous ont toujours soutenues et encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail, en pensant sérieusement et sincèrement à tous ceux qui m'ont
poussée à le réaliser :

A ma chère mère **Leila**, ma raison de réussite, l'exemple parfait de la femme idéale, le
symbole de l'amour, la tendresse, la patience et le sacrifice, qui m'a toujours orienté vers le
meilleur ;

A mon cher père **Ali**, j'aurais souhaité votre présence en ce moment pour partager ma joie,

Vous êtes toujours présent dans mon esprit et dans mon cœur, que dieu ait son âme ;

A mes tantes et mon oncle **Moustapha**, pour sa patience, son amour, son soutien et son
encouragement ;

A mon très cher frère **Mouhamed** et sa femme **Radia**, d'avoir toujours soutenu mes choix,
m'avoir permis d'atteindre mes objectifs et pour la confiance ;

Mes grandes sœurs **Malika** et **Fatiha**, la source de ma force, des exemples de persévérance,
de courage et de générosité ;

Et les petites sœurs **Amira** et **Souad**, merci d'être toujours à mes côtés, je les souhaite une
vie pleine de bonheur et de réussite inshallah ;

A mon fiancé **Oussama**, pour son soutien moral, et de m'avoir encouragé dans toutes les
démarches ;

A ma chère amie et binôme **Nour**, pour sa patience et sa compréhension tout au long de
cette étude ;

Mes grandes parents ma tante mes oncles et à tous qui ont contribué, de près ou de loin
pour la réalisation de ce projet, je vous dis merci.

Naouel





Dédicace

A la mémoire de ma grand-mère paternelle, Que Dieu ait son âme.

Je dédie ce travail à mes chers grands parents ;

A mes parents, avec tous mes sentiments de respect, d'amour, de gratitude et de reconnaissance pour tous les sacrifices déployés pour m'élever dignement et assurer mon éducation dans les meilleures conditions. Puisse Dieu vous accorder santé et longue vie ;

A mon cher frère, à mes très chères sœurs **Safa** et **Hadil**, A ma meilleure amie **Aicha**, Merci

pour votre amour et votre soutien inconditionnel ;

A tous les membres de ma famille, petits et grands, veuillez trouver ce modeste travail

l'expression de mon amour ;

A mon binôme **Naouel**, je te remercie pour ta collaboration tout au long de cette étude.

A toute personne qui a contribué à la réussite de ce travail.

Nour



Table des matières

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux	III
Liste des abréviations	IV
Glossaire	V

INTRODUCTION

Partie théorique

Chapitre I : Généralité sur les produits laitiers

I.1. Définition du lait	1
I.2. Composition du lait	2
I.3. Caractères organoleptiques du lait	5
I.4. Caractères physico-chimiques du lait.....	6
I.5. Les produits laitiers artisanaux.....	9

Chapitre II : Caractéristiques microbiologiques des produits laitiers

II.1. Flore lactique ou originelle	12
II.2. Flore de contamination	13
II.2.1. Flore d'altération.	13
II.2.2. Flore pathogène	14
II.2.3. Flore psychrotrophe	21

Chapitre III : Pouvoir pathogène et risques infectieux liés aux produits laitiers

III.1. Sources de contamination des produits laitiers	23
III.2. Types d'infections	24
III.2.1. Infections bactériennes	24
III.2.2. Infections parasitaires.....	27

III.2.3. Champignons pathogènes	27
---------------------------------------	----

Chapitre IV : Techniques d'analyse en microbiologie alimentaire

IV.1. Fiche de renseignement	28
IV.2. Prélèvement	28
IV.3. Transport et conservation	29
IV.4. Techniques de numération en microbiologie	29
IV.5. Recherche et dénombrement des germes	31

Partie pratique

1. Présentation de l'étude.....	35
1.1. Objectifs	35
1.2. Lieux de stage	35
2. Matériels et méthodes	36
2.1. Prélèvement	36
2.2. Transport et conservation.....	37
2.3. Matériels	37
2.4. Méthodes d'analyses	40
3. Résultats	67
4. Discussion.....	77

CONCLUSION

Plan d'annexes

Annexes

Références bibliographiques

Résumé

Liste des figures

	Titres	Pages
Figure 1 :	<i>Escherichia coli</i> x1000 en coloration de Gram	15
Figure 2 :	<i>Salmonella. spp</i> sur microscope électronique	16
Figure 3 :	<i>Staphylococcus aureus</i> sous microscope électronique	17
Figure 4 :	<i>Listeria monocytogenes</i> sous microscope électronique	18
Figure 5 :	<i>Brucella abortus</i> sous microscope électronique	19
Figure 6 :	La fiche de renseignement	28
Figure 7 :	Technique d'ensemencement en stries parallèles	30
Figure 8 :	Technique d'ensemencement par la méthode de quadrants	30
Figure 9 :	Technique d'ensemencement en profondeur	31
Figure 10 :	Préparation des dilutions décimales d'après la solution mère	41
Figure 11 :	Bouillon VBL pour le dénombrement des coliformes (Test de présomption).	43
Figure 12 :	Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.	45
Figure 13 :	Recherche d' <i>Escherichia coli</i> sur milieu urée indole.	46
Figure 14 :	Recherche et dénombrement de <i>Staphylocoque</i> à coagulase positive.	48
Figure 15 :	Aspect de colonies de <i>Staphylocoque</i> à coagulase positive sur milieu complet.	48
Figure 16 :	Test de confirmation par la réaction de la catalase.	49
Figure 17 :	Test de confirmation par la recherche de la coagulase.	50

Liste des figures

Figure 18 :	Ensemencement des Staphylocoque à coagulase positive dans le milieu chapman.	53
Figure 19 :	Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> .	53
Figure 20 :	Pré-enrichissement, enrichissement et isolement de <i>Salmonella.spp</i>	56
Figure 21 :	Confirmation biochimique de salmonelle sur milieu TSI.	58
Figure 22 :	Organigramme résumant le mode opératoire de la recherche des salmonelles.	61
Figure 23 :	Technique de recherche des Salmonelles.	63
Figure 24 :	Recherche de <i>Listeria monocytogenes</i> sur milieu Palcam.	65
Figure 25 :	Représentation schématique du mode opératoire pour la recherche de <i>Listeria</i> .	66
Figure 26 :	Aspect des colonies des coliformes totaux sur milieu VRBL.	69
Figure 27 :	Confirmation des coliformes totaux sur milieu VBL (test de présomption).	69
Figure 28 :	Culture de <i>Staphylocoque</i> à coagulase positive sur milieu BP.	71
Figure 29 :	Colonie de coliforme sur milieu VRBL.	73
Figure 30 :	Test de l'urée indole.	73
Figure 31 :	Recherche de <i>Staphylocoque</i> à coagulase positive sur milieu GC.	74
Figure 32 :	Absence de colonies de <i>Staphylocoque</i> à coagulase positive sur mileu chapamn.	75
Figure 33 :	Absence de salmonelle sur milieu SFB.	76

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition vitaminique moyenne du lait.	4
Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques du lait.	9
Tableau 3 : Flore originelle du lait cru de vache.	12
Tableau 4 : Plan d'échantillonnage.	37
Tableau 5 : Critères microbiologiques relatifs au lait fermenté.	67
Tableau 6 : Résultats de dénombrement des coliformes totaux.	70
Tableau 7 : Résultats de dénombrement des coliformes thermo-tolérants.	70
Tableau 8 : Résultats de dénombrement des staphylocoques à coagulase positive.	71
Tableau 9 : Résultats de la recherche de <i>Salmonella.spp.</i>	72
Tableau 10 : Résultats de dénombrement des coliformes totaux.	73
Tableau 11 : Résultats de dénombrement des coliformes thermo-tolérants.	74
Tableau 12 : Résultats de dénombrement des staphylocoques à coagulase positive.	75
Tableau 13 : Résultats de la recherche de <i>Salmonella.spp.</i>	76

Liste des abréviations

°D :	Degré Dornic
EPEI :	Eau Peptonnée Exempte d'Indole
FAO :	Food and Agriculture Organization
FIL :	Fédération Internationale de Laiterie
GC :	Giolitti Cantonii
ISO :	Organisation Internationale de Normalisation
JORA :	Journal Officiel de la République Algérienne
NF :	Norme Française
PH :	Potentiel Hydrogène
SFB :	Sélénite F Brothe
SM :	Solution Mère
TIAC :	Toxi-Infection Alimentaire Collective
TIA :	Toxi-Infection Alimentaire
TSE :	Tryptone Sel Eau
UFC :	Unité Formant Colonie
VRBL :	Milieu Lactosée Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre
VBL :	Bouillon Lactosé bilié au Vert Brillant

Glossaire

Barattage : transformation de la crème du lait en beurre dans la baratte, par séparation de la matière grasse et du babeurre.

Colostrum :

C'est un liquide épais, crémeux et jaunâtre que produit le sein maternel avant la montée du lait et qui continue généralement jusqu'à trois jours après l'accouchement. Très riche du point de vue nutritionnel, et précieux pour augmenter les défenses immunitaires du nouveau-né, le colostrum est totalement suffisant comme premier aliment, dans l'attente du "vrai lait".

Incinération : action de réduire en cendre, de détruire par le feu.

Mésophile : Organisme dont la croissance est optimale sous une température comprise entre 20 à 45 °C.

Mouillage : Opération frauduleuse qui consiste à ajouter de l'eau au lait ou au vin.

Rhéologique : la rhéologie est l'étude de l'écoulement de liquides ou des matériaux visqueux.

Standardisation lipidique :

La standardisation est une opération physique permettant d'amener le lait à une concentration donnée en matière grasse ou en protéine. Ces ajustements permettent de pallier les variations de composition naturelles inhérentes à la race des vaches ou liées à leur alimentation ou aux saisons.

INTRODUCTION

INRODUCTION

L'Algérie est un pays de tradition laitière, le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, ils apportent la plus grosse part de protéines d'origine animale. En regard de son contenu en énergie métabolisable. Le lait présente une forte concentration en nutriments, mais il n'a pas seulement un intérêt alimentaire, il occupe une place centrale dans l'imaginaire des algériens. Ce n'est d'ailleurs pas par hasard qu'il est offert comme signe de bienvenue, traduisant, ainsi par l'acte notre tradition d'hospitalité.

Le lait cru est un produit hautement nutritif. Sa production doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'il peut présenter pour la santé humaine. Très vite, l'homme a compris que le lait peut constituer une partie importante de son alimentation mais lorsqu'il a voulu le conserver il s'est heurté à sa fragilité. En effet, de part sa richesse en nutriments, il constitue un milieu propice et favorable pour le développement de nombreux microorganismes qui peuvent l'altérer et le déstabiliser. Le développement microbien dans le lait change son aspect pour se transformer en gel possédant des caractéristiques organoleptiques diverses avec des taux élevés en lactose, lipides et en protéines faisant de lui un aliment nutritif, riche en énergie. [1]

La qualité du lait produit traditionnellement est souvent moyenne du fait des conditions de traite peu hygiéniques, de récipients sales ou encore de l'eau utilisée souvent non traitée. Le manque de connaissance sur la manipulation des produits laitiers, l'inexistence de réseaux électriques et de systèmes de réfrigération peuvent être également des facteurs influant sur la qualité des produits. Mais, certains micro-organismes sont importants car ils sont en partie responsables de la saveur et de la texture des produits laitiers. D'autres peuvent être pathogènes et produire des toxines contaminant les produits laitiers. Ceux-ci deviennent alors vecteurs de maladies pour l'homme et l'animal. Ils peuvent être également responsables du mauvais goût et du mauvais aspect des produits laitiers ; Les agents pathogènes pour l'homme sont habituellement classés en deux catégories: ceux causant une infection alimentaire (l'aliment sert de vecteur de microbes vers les êtres humains) et ceux causant une intoxication alimentaire (ce sont soit des toxines secrétées par les microorganismes dans les aliments, soit des toxines contaminant les aliments par d'autres voies). [2]

INRODUCTION

En juillet 2021 selon la presse : « Plus de 100 personnes, dont 90% sont des enfants, ont été exposées à une intoxication alimentaire suite à la consommation de petit lait acheté chez les commerçants bien connus situés dans la cité AADL de la commune d'ouled yaïch dans la ville de Blida... »

Afin d'élucider les causes de ce genre de toxi-infection alimentaire, et dans une optique de contrôle de la qualité des produits laitiers artisanaux vendus dans la région de Blida, nous avons réalisé ce travail, dont l'objectif principal était la mise en évidence de la qualité hygiénique et la recherche et l'identification des germes pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires dans les produits laitiers artisanaux commercialisés au niveau de différentes communes de la wilaya de Blida.

Partie théorique

CHAPITRE I :
Généralité sur les produits laitiers

I.1. Définition du lait :

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes) .Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h. [3]

Le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique longue conservation. [4]

1.1.1. Définition légale française :

C'est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière ou vache laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum.

NB : Elle ne doit pas être surmenée car l'hormone principale qui régule la lactation est la prolactine qui dépend de l'humeur : une vache de bonne humeur donne un lait de bonne qualité. [5]

1.1.2. Définition de la FIL:

« La dénomination lait est réservée exclusivement aux produits de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ni soustraction » [6]

I.2. Composition du lait :

Le lait contient des nutriments essentiels et est une source importante d'énergie alimentaire, de protéines de haute qualité et de matières grasses. Le lait peut apporter une contribution significative aux besoins nutritionnels recommandés en calcium, magnésium, sélénium, riboflavine, vitamine B12 et acide pantothénique. Le lait et les produits laitiers sont des aliments nutritifs et leur consommation permet de diversifier les régimes à base de plantes. Le lait d'origine animal peut jouer un rôle important dans l'alimentation des enfants dans les populations ne bénéficiant que d'un très faible apport en lipides et ayant un accès limité aux autres aliments d'origine animale. [7]

Selon COULON, la composition chimique du lait et ses caractéristiques organoleptiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs. Ces principaux facteurs de variation sont bien connus, ils sont liés soit à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire ...) soit au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation). Cependant, si les effets propres de ces facteurs ont été largement étudiés, leurs répercussions pratiques sont parfois plus difficiles à interpréter. [8]

Le lait est un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent :

- La phase aqueuse, qui contient l'eau (87% du lait) et les produits solubles pouvant donner naissance au lactosérum (lactose, sels, protéines solubles, composés azotés non protéiques, vitamines hydrosolubles et enzymes).
- La suspension colloïdale micellaire (2.6%), qui peut donner naissance au caillé obtenu par la coagulation des caséines suite à l'action de microorganismes ou d'enzymes.
- L'émulsion (4.2%), qui peut donner naissance à la crème, une couche de globules gras rassemblés à la surface du lait par effet de gravité. [9]

I.2.1. L'eau :

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. Elle représente environ 80% du lait [10]. Son caractère lui permet de former une solution vraie avec les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines. [11]

I.2.2. La matière grasse :

La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe, dans la phase dispersante qu'est le lait écrémé [12]. La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre. Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K. [13]

I.2.3. Protéines :

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes et elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers. [14]

I.2.4. Les glucides :

Les glucides représentent 38% de la matière sèche du lait. Quantitativement, ils sont les constituants les plus importants après l'eau [15]. Le sucre principal du lait est le lactose. C'est le constituant majeur de la matière sèche du lait [16]. C'est un sucre extrêmement rare présent à une dose de 47 à 52 g.kg⁻¹, c'est le constituant le plus rapidement attaqué par action microbienne mais il joue un rôle important, lié notamment à sa fermentescibilité qui intervient lors de l'élaboration de divers produits laitiers. [17]

I.2.5. Les vitamines :

Selon VIGNOLA, les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser. [18]

On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C uniquement dans le lait de chamelle) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K). [4]

Tableau 1 : Composition vitaminique moyenne du lait. [14]

Vitamines	Teneur moyenne de 100ml
Vitamine A (+carotènes)	40 µg
Vitamine D	2.4 µg
Vitamine E	100 µg
Vitamine K	5 µg
Vitamine C (acide ascorbique)	2 mg
Vitamine B1 (thiamine)	45 µg
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0.45µg
Niacine et niacinamide	90µg
Acide pantothénique	350µg
Acide folique	5.5µg
Vitamine H (biotine)	3.5µg

I.2.6. Les minéraux :

La quantité des minéraux contenus dans le lait après incinération varie de 0,60 à 0,90%. Ils prennent plusieurs formes ; ce sont le plus souvent des sels, des bases, des acides. A cette liste s'ajoutent certains éléments comme le soufre dans les protéines et les oligo-éléments suivants, qui sont présents à de faible concentration ou à l'état de trace : manganèse, bore, fluor, silicium, molybdène, cobalt, baryum, titane, lithium, et probablement certains autres. [14]

Le lait de chèvre semble être plus riche en Calcium, Phosphore, Magnésium, Potassium et Chlore que le lait de vache mais moins riche en Sodium. [19]

I.2.7. Les enzymes :

Les enzymes sont des substances organiques de nature protéique, produites par des cellules ou des organismes vivants, ils jouent le rôle de catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile. [20]

I.3. Caractères organoleptiques du lait :

I.3.1. La couleur :

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène qui provient de β -carotène. [21]

REUMONT, Explique que dans le lait, deux composants essentiels, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir la lumière blanche. [22]

L'opacité du lait est due à sa teneur en particules suspendues de matières grasses, de coloration (teneur en carotène) de la matière grasse. [23]

I.3.2. L'odeur :

Selon VIERLING, l'odeur est caractéristique du lait du fait de la matière grasse qu'il contient qui fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, de l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend

alors une forte odeur), ou à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette). [24]

I.3.3. La saveur :

La saveur du lait normal frais est agréable, celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est en parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire. [25]

I.3.4. La viscosité :

RHEOTEST a montré que la viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. [26]

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. [21]

I.4. Caractères physico-chimiques du lait :

I.4.1. La masse volumique :

La masse volumique d'un liquide est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de ce liquide divisée par son volume. Elle est habituellement notée ρ et s'exprime en Kg/m^3 dans le système métrique. Comme la masse volumique dépend étroitement de la température, il est nécessaire de préciser à quelle température (T) elle est déterminée. La masse volumique du lait entier à 20 °C est en moyenne de 1030 Kg/m^3 . [27]

Les valeurs moyennes concernant le lait de vache se situent entre 1.028 et 1.032 g.ml⁻¹. [28]

I.4.2. La densité :

La densité d'un liquide est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume d'eau

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. [29]

Elle varie en fonction de la saison, du stade physiologique et de la race. La densité est sous la dépendance de deux facteurs principaux : la teneur en matière sèche et celle de la matière grasse, elle diminue avec l'augmentation du taux butyreux. L'addition d'eau diminue la densité. [18]

I.4.3. Le point d'ébullition :

D'après AMIOT et all, on définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100.5°C. [14]

I.4.4. Le point de congélation :

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. [30]

Sa mesure est utilisée pour déceler le mouillage, si le point de congélation est supérieur à - 0.53°C on suspectera une addition d'eau. [31]

I.4.5. L'acidité du lait :

L'acidité titrable indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement. [32]

C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes.

On exprime couramment l'acidité d'un lait en degrés Dornic ; ce dernier étant le nombre du dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer 10 millilitres de lait en présence de phénolphtaléine.

Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités titrables différentes et inversement. C'est à dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration. [33]

I.4.6. PH :

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait, les différents laits ont une réaction ionique voisine de la neutralité. Le pH est compris entre 6,4 et 6,8. C'est la conséquence de la présence de la caséine et des anions phosphorique et citrique. Le pH n'est pas une valeur constante, il peut varier au cours du cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation. Cependant, l'amplitude des variations est faible dans une même espèce. Le colostrum a un pH plus bas, du fait de la teneur élevée en protéines. [34]

Le pH du lait change d'une espèce à l'autre, étant donnée les différences de la composition chimique, notamment en caséines et en phosphates.

Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques du lait

Caractère physico-chimique	Normes dans le lait
Densité à 20 °C	1,028 – 1,033
Densité de matière grasse	0,94 – 0,96
Acidité Dornic °D	15°D - 17°D
Point de congélation	-0,52 °C -0,55 °C
Point d'ébullition	100,15 °C - 100,17 °C
pH à 20 °C	6,6 – 6,8

I.5. Les produits laitiers artisanaux :

I.5.1. Leben :

Le lait fermenté écrémé « lben » est traditionnellement fabriqué à partir de lait cru de vache par fermentation spontanée. Le lait cru est laissé acidifier spontanément à température ambiante jusqu'à ce qu'il coagule. Le barattage du lait fermenté donne du lait fermenté écrémé « lben » et du beurre cru appelé « zebda beldia ». La durée de conservation de 'lben' est d'environ trois jours à 4°C. À la campagne, il n'y a parfois pas d'électricité et le « lben » est conservé à température ambiante, atteignant des niveaux d'acidité élevés après 2 à 3 jours. [35]

Les *streptocoques* lactiques et les *leuconostocs* sont les principaux agents responsables de l'acidification et de la conversion du lait en Lben. [36]

I.5.2. Raib :

C'est un lait fermenté, obtenu par acidification naturelle d'un lait cru à une température ambiante. La coagulation est obtenue ou résulte de la flore microbienne originelle et de

contamination, avec ou sans additions des acides organiques (citron, vinaigre), pendant une durée variée selon la saison entre 24 heures à 72 heures. [37]

Il est principalement acidifié et aromatisé par des souches de *lactocoques* et de *leuconostocs*. [38]

I.5.3. Jben :

Le Jben est un fromage traditionnel frais, sa préparation repose sur la coagulation de lait cru (coagulation enzymatique), tout d'abord le lait de chèvre ou de vache ou un mélange entre les deux est laissé à fermenter spontanément à température ambiante jusqu'à la coagulation, le lait coagulé est égoutté pour obtenir le caillé qui est le Jben. [35]

I.5.4. Beurre :

Le beurre est un aliment préparé, conformément aux bonnes pratiques industrielles, à partir du lait ou des produits du lait et doit contenir au moins 80% de matière grasse du lait. Il peut également contenir des solides du lait, des cultures bactériennes, du sel et un colorant alimentaire. Conformément au Codex Alimentarius, le beurre est un produit gras dérivé exclusivement du lait ou de produits obtenus à partir du lait, principalement, sous forme d'une émulsion du type eau dans l'huile. [18]

Il contient de 80 à 81% de matière grasse laitière, 17% d'humidité, 1% de glucides et de protéines, et 1,2 à 1,5% de chlorure de sodium. [39]

CHAPITRE II :
**Caractéristiques microbiologiques des
produits laitiers**

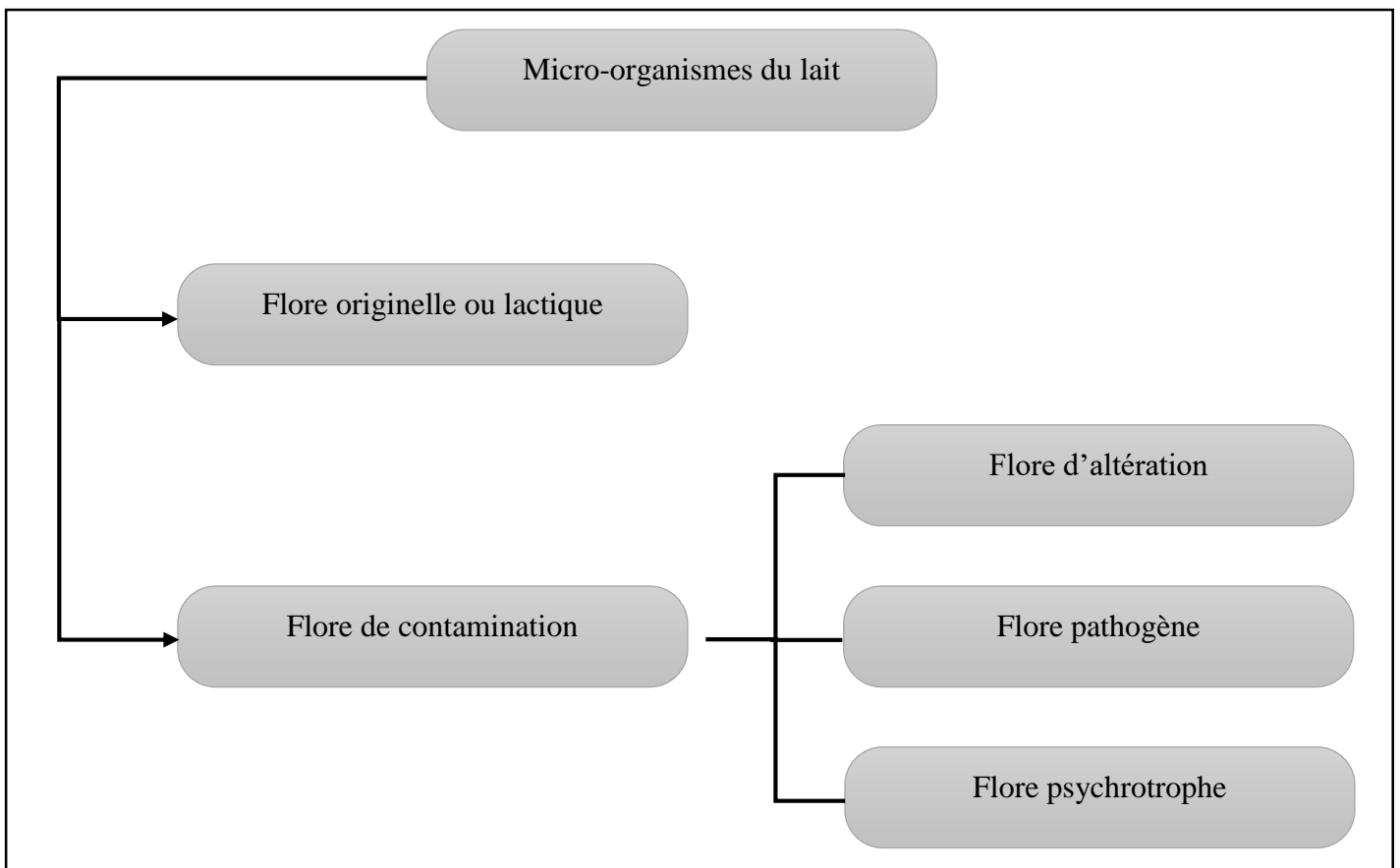
L'importance et la nature des bactéries contaminant le lait, dépendent de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages [40], mais aussi des conditions hygiéniques lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait.

[41]

Un lait est considéré comme peu contaminé s'il renferme quelques centaines à quelques milliers de germes par unité de volume, un lait fortement contaminé peut en contenir plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions par ml. [42]

Dans cette microflore contaminante, les bactéries conditionnent le plus directement la qualité hygiénique ainsi que l'aptitude à la conservation et à la transformation de la matière première. [43]

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore originelle et la flore contamination. Cette dernière est subdivisée en trois sous classe : la flore d'altération, la flore pathogène et la flore psychrotrophe.



Organigramme des micro-organismes du lait

II.1. Flore lactique ou originelle :

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait contient essentiellement des mésophiles. Il s'agit de microcoques, mais aussi de streptocoques lactiques et de lactobacilles.

Ces micro-organismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production.

[44]

Les bactéries lactiques sont définies comme des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles présentent un groupe hétérogène de micro-organismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme, on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait, qui, par sa composition riche en substances nutritionnelles et en facteurs de croissance constitue un excellent milieu de culture pour les bactéries lactiques aptes à assimiler ses constituants par différentes voies microbiennes. [45]

Tableau 3 : Flore originelle du lait cru de vache. [18]

Microorganismes	Pourcentages (%)
<i>Micrococcus sp</i>	30-90
<i>Lactobacillus sp</i>	10-30
<i>Streptococcus sp</i> Ou <i>Lactococcus sp</i>	≤10
<i>Gram négatif</i>	≤10

II.2. Flore de contamination :

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la collecte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire. [18]

Selon FAO en 1995, Le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, à savoir l'état de propreté de l'animal et particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks).

II.2.1. Flore d'altération :

Genres identifiés comme flore d'altération : les coliformes, et certains levures et moisissures.

Cette flore causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme et d'apparence. Elle réduira la durée de conservation des produits laitiers. [18]

-Les coliformes fécaux :

Appelant aussi des entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30 °C. Cependant, lorsqu'ils sont en nombre très élevé, les coliformes peuvent provoquer des intoxications alimentaires. Le dénombrement des coliformes a longtemps été considéré comme un indice de contamination fécale. Comme les entérobactéries totales, ils constituent un bon indicateur de qualité hygiénique. [48]

-levure et moisissures :

Les levures et moisissures sont des cellules eucaryotes rattachées au règne végétal par leur structure cellulaire, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait et les produits laitiers. [49]

Les moisissures sont des champignons microscopiques, se développent en surface ou dans les parties internes aérées. Les aliments sont des substrats très favorables à leur développement, ces germes peuvent y causer des dégradations par défaut d'apparence, mauvais goût, ou plus gravement production de mycotoxines. [50]

Bien que souvent présentes dans le lait, elles s'y manifestent rarement. Peu d'entre elles sont capables de fermenter le lactose. Le genre *Torulopsis*, productrices de gaz à partir du lactose, supportent des pressions osmotiques élevées et sont capables de faire gonfler des boîtes de lait concentré sucré. [51]

II.2.2. Flore pathogène :

a. Flore pathogène microbienne :

II.2.2.1. *Escherichia coli* :

Les *Escherichia coli* forment un groupe de bacilles mobiles ou immobiles, à Gram négatif, de la famille des Enterobacteriaceae. Ils peuvent se multiplier à des températures comprises entre 4°C et 46°C, avec un optimum de croissance à 37°C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5. Les *E. coli* qui provoquent la diarrhée, la gastrite aigüe ou la colite de l'homme sont désignés sous le nom d'*E. Coli* pathogène. Des critères de différenciation basés sur leur sérotype, leur virulence et leurs conséquences cliniques ont permis de classer ces souches pathogènes en quatre groupes. On distingue les *E. coli* entéropathogène (EPEC), les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC) et les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC). [52]

Escherichia coli est un commensal naturel de l'intestin de l'homme et des animaux. Il représente 80% de la flore intestinale aérobie. On le retrouve en très grand nombre dans les matières fécales. De là, il se répand dans la nature : sol, eaux. Sa présence dans l'environnement signe toujours une contamination fécale. Une bactérie commensale, quelle que soit son espèce, peut acquérir certains facteurs de pathogénicité grâce à l'apport d'un nouveau support génétique (plasmide, bactériophages, transposons) ou pas l'expression de gènes précédemment silencieux, et devenir ainsi pathogène. [53]

Parmi les bactéries pathogènes qui peuvent se retrouver dans le lait cru, certaines y sont habituellement à un très faible niveau et ont peu de chance de s'y développer. D'autres sont à des niveaux appréciables et peuvent se multiplier. C'est le cas, entre autres, d'*E. coli* qui provient généralement de la peau des mamelles.

Une pasteurisation à 72°C durant 15 secondes est suffisante pour éliminer *E. coli*. [52]

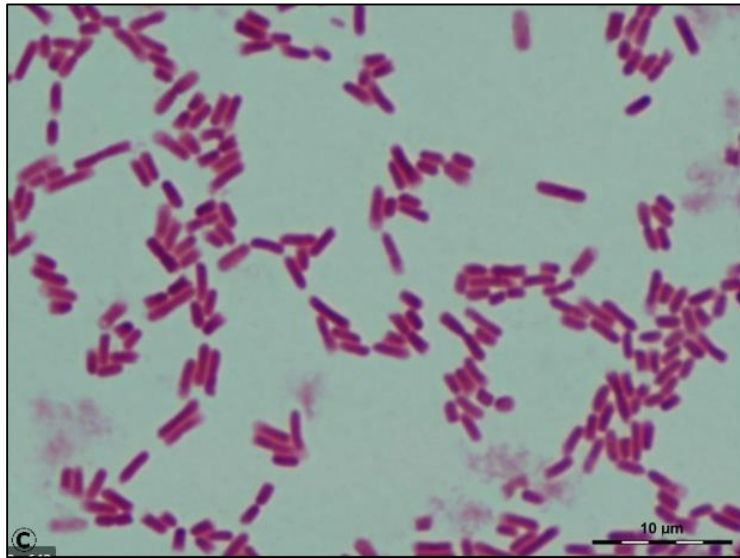


Figure 1 : *Escherichia coli* x1000 en coloration de Gram [54]

II.2.2.2. *Salmonella.spp* :

Les Salmonelles sont des bactéries à Gram négatif de type aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae en forme de bâtonnet et pourvues de flagelles péritriches, elles sont généralement mobiles mais certains sérovars sont immobile. Le genre *Salmonella* comprend deux espèces génétiquement individualisées : *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*. [55]

Les Salmonelles peuvent se multiplier à des températures comprises entre 5 °C et 45 °C avec un optimum à 35 °C 37 °C (mésophile) et à des PH de 4,5 à 9 avec un optimum compris entre 6,4 et 7,5(neutrophile). Certains sérotypes sont responsables de la fièvre typhoïde ou paratyphoïde, la gravité des infections salmonelliques a nécessité le recours à des traitements anti-infectieux, si bien que la résistance aux antibiotiques des souches d'origine bovine a également augmentée. [56]

Le lait pasteurisé est habituellement exempt de toutes salmonelles car celles-ci sont éliminées lors de la pasteurisation.

Les bactéries lactiques thermophiles comme certains *Streptococcus* ou *Lactobacillus* qui produisent des acides entraînent l'élimination des salmonelles. [52]

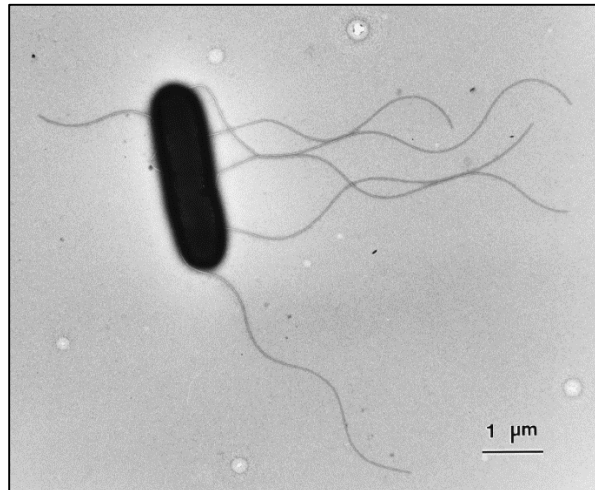


Figure 2 : Salmonella.spp sur microscope électronique

II.2.2.3. *Staphylococcus aureus* :

Ces bactéries sont des cocci à Gram positif, non sporulés, immobiles, anaérobies facultatifs et possédant une catalase. Le critère de base de leur classification est la production de coagulase.

On distingue trois espèces à coagulase positive : *Staphylococcus aureus*, *S.intermedius*, *S.hyicus*, et trente espèces à coagulase négative. La présence des staphylocoques dans les aliments représente un risque pour la santé humaine, parce que les souches qui appartiennent à l'espèce *S.aureus* produisent des entérotoxines et provoquent une toxi-infection alimentaire à staphylocoques mais ne sont pas toutes toxigènes. [57]

Staphylococcus aureus cultive à des températures comprises entre 6 °C et 46 °C (température optimale : 37 °C), à un pH compris entre 4 et 9,8 (pH optimum : 6 à 7). Le lait pasteurisé est plus favorable à la croissance de *S. aureus* que le lait cru, car ce micro-organisme est un mauvais compétiteur en présence d'autres flores bactériennes.

Le lait et les produits laitiers deviennent toxiques s'ils sont contaminés par des souches productrices d'entérotoxines et si des conditions sont favorables à une multiplication bactérienne importante. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. Parasite habituellement inoffensif, mais il peut provoquer des infections (abcès cutanés, mammites). La contamination du lait peut survenir par l'intermédiaire de porteurs sains ou infectés, ou par l'environnement, le vecteur principal de contamination est l'homme à cause des manipulations intervenant tout au long de la chaîne alimentaire. [58]

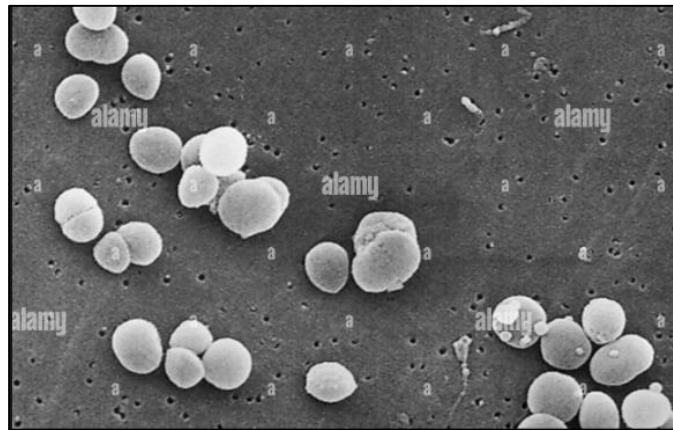


Figure 3 : *Staphylococcus aureus* sous microscope électronique. [59]

II.2.2.4. *Listeria monocytogenes* :

Les bactéries du genre *Listeria* se présentent sous la forme de petits bacilles arrondis aux extrémités et ne forment ni capsule ni spore. Les cellules sont à Gram positif, pouvant apparaître à la coloration de Gram. [60]

Leur croissance est possible entre 0 °C et 45 °C (température optimale : 30 °C-37 °C), pour des pH compris entre 4,5 et 9,6. Entre 20 °C et 25 °C, elles sont mobiles grâce à des flagelles dont l'implantation est péritriche. [61]

Listeria monocytogenes peut être considérée comme un agent pathogène alimentaire « parfait » car elle est ubiquiste, très résistante aux conditions difficiles et surtout elle est capable de se développer aux températures de réfrigération des aliments. La virulence des souches pourrait d'ailleurs être exaltée par leur développement à basse température et n'altère pas le goût des aliments.

Trois grands réservoirs à *Listeria* sont de ce fait recensés. Tout d'abord un réservoir « humain » et un réservoir « animal », puisqu'une grande fréquence de porteurs sains est généralement observée. Enfin, un réservoir « environnement », à savoir le sol, la végétation, les eaux de surface, les eaux usées, les ensilages ou encore les aliments à partir desquels l'homme peut se contaminer. A la laiterie, *L.monocytogenes* est normalement détruite par une pasteurisation efficace. [52]

Les contaminations résultent généralement soit d'un problème technologique (pasteurisation insuffisante), soit d'une contamination secondaire (après pasteurisation). [62]

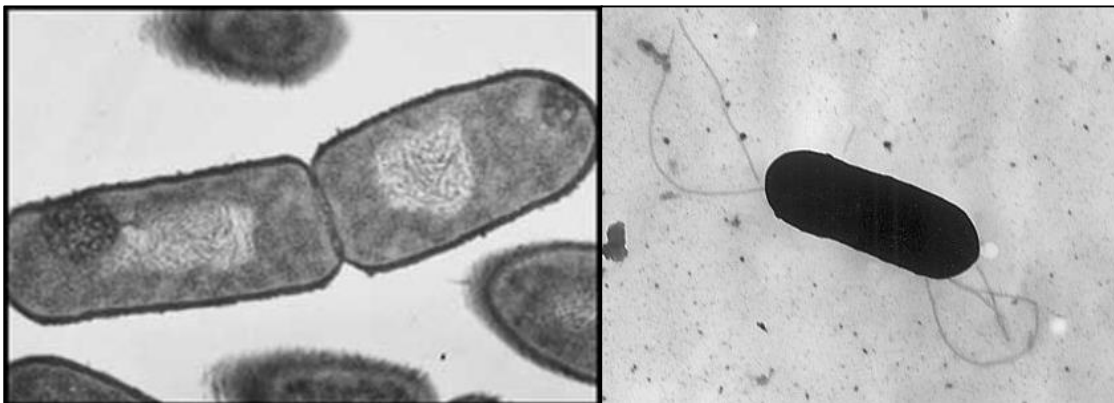


Figure 4 : *Listeria Monocytogenes* sous microscope électronique. [63]

II.2.2.5. *Brucella* :

Les bactéries du genre *Brucella* sont des coccobacilles, aérobies et à pouvoir glucidolytique faible. Les Brucelles sont immobiles et ne forment pas de spores. Elles ne possèdent ni flagelles, ni pili, ni capsule. Ce sont des Bactéries à Gram négatif. Les Brucelles sont des bactéries pathogènes responsables de la brucellose, maladie connue également sous les noms de « fièvre de Malte », « fièvre méditerranéenne », « fièvre ondulante » ou « mélitococcie ». Les brucelloses humaines et animales sont d'importance et de répartition mondiale.

La contamination s'effectue par contact direct ou indirect avec les animaux ou leurs produits (voie cutanéomuqueuse) soit par ingestion d'aliments contaminés (produits

laitiers frais, viande mal cuite...) mais principalement par voie respiratoire (inhalation). La brucellose humaine survient surtout dans les professions exposées : vétérinaires, éleveurs, employés d'abattoir, personnel de laboratoire, etc. L'homme est sensible à *B. abortus* (bovins), *B. melitensis* (ovins et caprins), *B. suis* (porcins), et *B. canis* (canidés).

Brucella résistent en général mieux que la plupart des autres bactéries pathogènes non sporulantes à l'inactivation dans le milieu naturel. Elles résistent bien à la dessiccation (milieux riches en protéines, poussières, sol), et survivent aux basses températures et notamment à la congélation.

La survie des brucelles dans le lait et les produits laitiers est liée à de nombreux facteurs, dont le type de produit, la teneur en eau, la température, les modifications du pH, l'action biologique des autres bactéries présentes, et la durée et les conditions de conservation du produit. [52]

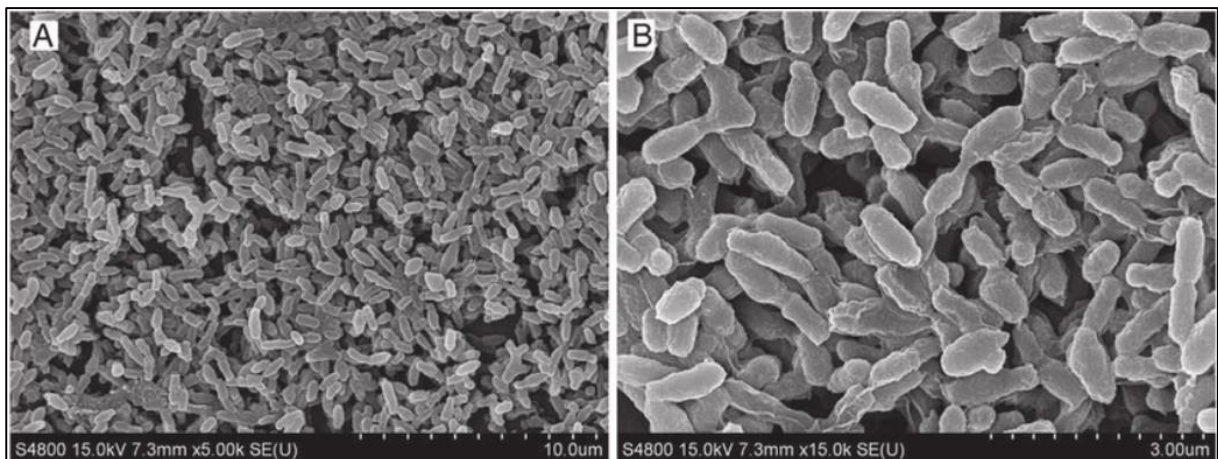


Figure 5 : *Brucella abortus* sous microscope électronique (A x1500 Bx4000). [64]

II.2.2.6. Les mycobactéries :

Les bactéries du genre *Mycobacterium* appartiennent à la famille des Mycobacteriaceae qui se présente habituellement sous la forme de petits bacilles, immobiles, ayant parfois des éléments renflés, cunéiformes ou ramifiés. Ils sont dits acido-alcool-résistants car ils sont caractérisés par leur aptitude à conserver la coloration malgré l'action combinée de l'alcool et des acides dilués. La température optimale des mycobactéries s'étend approximativement de 28 °C à 45 °C. Les bactéries appartenant

au complexe tuberculosis sont des pathogènes obligatoires. La prévention de la transmission de la tuberculose des bovins vers l'homme fait essentiellement appel à deux méthodes : La destruction thermique de *M. bovis* par la pasteurisation systématique du lait ou l'éradication de la tuberculose bovine. Les fèces des animaux malades ou infectés latents constituent la source essentielle de contamination. [52]

II.2.2.7. Autres germes pathogènes :

D'autres micro-organismes pathogènes peuvent être rencontrés dans le lait et les produits laitiers, parmi lesquels *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Coxiella burnetii*, *Streptococcus agalactiae*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, les moisissures productrices de toxines et les virus. La présence et la persistance de ces germes dans les laits et les produits laitiers dépendent de leur résistance aux traitements que peut subir le lait cru (pasteurisation, acidification, chauffage du caillé, conditions d'affinage) et du niveau initial de contamination dans le lait cru. [65]

Les *Campylobacter*, germes très fragiles, ne sont retrouvés que dans les laits crus et les laits insuffisamment pasteurisés. [66]

Les *Y. enterocolitica* sont également très sensibles aux traitements thermiques. La présence éventuelle de *Y. enterocolitica* dans un lait pasteurisé est généralement reliée à une contamination importante du lait cru. [67]

Les *Coxiella burnetii* ne résistent pas non plus au traitement de la pasteurisation mais résistent toutefois aux procédés de dessiccation. Cela explique que la maladie atteigne, en plus des personnes travaillant au contact des animaux (fermiers, vétérinaires, personnel des abattoirs), le personnel des ateliers de fabrication de lait sec. [68]

Au contraire, *Bacillus cereus* qui possèdent de spores résistent à la pasteurisation donc peut être retrouvé dans le lait pasteurisé. Les toxi-infections à *B. cereus* sont relativement rares, En technologie laitière, une acidification normale et rapide permet de limiter la croissance de ces germes pathogènes. [69]

Le virus de la fièvre aphteuse est également sensible à une baisse de pH. Il est inactivé en 17 s à pH 6,7 à 72 °C et en 55 s à pH 7,6 à 72 °C. [70]

Enfin, en ce qui concerne les risques liés aux moisissures productrices de toxines, les quantités de toxines produites (*Penicillium camemberti*, *P. roqueforti*, *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*) sont trop faibles pour provoquer des intoxications. [69]

b. Flore pathogène virale :

Les sources possibles à partir desquelles les virus peuvent pénétrer dans le lait ou les produits laitiers sont une source primaire qui est l'animal d'élevage à partir duquel le lait est obtenu. Les virus peuvent être transmis directement à partir d'animaux infectés et sont excrétés dans le lait ou par les vésicules cutanées ou des matières fécales. Les contaminants secondaires contiennent des virus entéropathogènes humains qui peuvent être excrétés dans les produits laitiers par les additifs alimentaires, les résidus d'eau de rinçage ou à partir de l'environnement (la poussière d'ensilage et fourrage). Les employés de la production (ferme, laiterie, fromagerie) et de la vente (emballage, ventes) peuvent aussi contaminer les produits avec une hygiène inadéquate via les mains et l'équipement.

Toutefois, l'eau potable traitée comporte également un certain risque, car tous les virus ne sont pas inactivés par le traitement habituel (chlore, ozone, rayonnement UV) comme pour les Rota virus et Norwalk par exemple, la chloration n'est pas efficace. La plupart des virus sont inactivés à des niveaux de pH de 5 à 6. Mais rota virus et de nombreux picornavirus survivent même aux conditions acides de l'estomac.

Les combinaisons température-temps couramment utilisées pour la pasteurisation sont suffisantes pour inactiver la plupart des virus natifs des produits laitiers. Les processus UHT (ultra haute température) sont sûrs de tuer les virus. [52]

II.2.3. Flore psychrotrophe :

On désigne par psychrotrophe des micro-organismes qui ont la faculté de se développer à une température égale ou inférieure à 7°C, indépendamment de leur température optimale de croissance (en général, dans le lait, c'est le genre du *Pseudomonas* qui domine).

Ceux sont des germes de pollution, véhiculés par l'homme, l'animal, les fourrages et l'eau.
[46]

Dans des laits refroidis, cette flore peut devenir la flore dominante, notamment quand ceux-ci ne sont pas récoltés dans d'excellentes conditions hygiéniques et qu'ils sont maintenus plus de 24 à 48 heures dans les conditions habituelles de réfrigération (+3 à +4°C). Ces germes peuvent produire des enzymes comme la lipase et la protéase thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables dans les produits laitiers : goût amer, rance ; putride, etc. [47]

CHAPITRE III :

**Pouvoir pathogènes et risques
infectieux liés aux produits laitiers**

III.1. Sources de contamination des produits laitiers :

Le lait recueilli après la traite contient toujours des microorganismes dont le nombre et les espèces auxquels ils appartiennent sont très variables. La présence inévitable de ces germes est due à des contaminations d'origine intra-mammaire (endogène) et extra-mammaire (exogène). [71]

III.1.1. Contamination intra-mammaire :

À la sortie de la mamelle, le lait, même qu'il provienne d'un animal sain et que la traite soit effectuée dans les conditions rigoureuses d'hygiène, contient habituellement une centaine à quelques milliers de bactéries par millilitre. Il s'agit de germes banaux appartenant le plus souvent aux genres *Corynebacterium* et *Micrococcus* et parfois de germes pathogènes. Ils proviennent du milieu extérieur d'où ils pénètrent dans la mamelle par le canal du trayon. Ils sont entraînés avec le lait au moment de la mulsion. [71]

III.1.2. Contamination extra-mammaire :

La contamination extra-mammaire est constituée par des germes pathogènes infectant l'animal. Ils parviennent dans la mamelle par la circulation sanguine. C'est, par exemple, le cas pour les agents de la brucellose et de la tuberculose. Au cours des opérations de traite, le lait reçoit un second apport de microorganismes d'espèces variées dont le nombre est habituellement très supérieur à celui dû à la contamination d'origine intra-mammaire.

Les sources de contamination du lait peuvent être de nature diverse. Le nombre et les types de microorganismes trouvés dans le lait reflètent ainsi les conditions hygiéniques de la traite et de l'étable. Les ustensiles en contact avec le lait et la machine à traire mal nettoyée sont notamment à l'origine de la très forte charge microbienne des laits. L'homme contamine le lait pendant la traite, la manipulation, la collecte, le traitement, le transport et l'entreposage du lait. [71]

La majorité des microorganismes dans le lait proviennent des surfaces, des aliments, de l'air, de l'eau, du sol, des ustensiles et des équipements utilisés pour la traite (seaux à traire, machines à traire) et l'entreposage (bidons, cuves, tanks). L'augmentation du

nombre de bactéries, pendant le transport du lait, est surtout due à la contamination par des véhicules insuffisamment nettoyés et désinfectés. [72]

III.2. Types d'infections :

III.2.1. Infections bactériennes :

III.2.1.1. Intoxication par *Escherichia coli* :

Escherichia coli est considéré comme un commensal banal du tube digestif de l'homme et des animaux. Cependant certaines souches ayant acquis des facteurs de pathogénicité sont capables de provoquer des troubles digestifs.

Les premiers symptômes (diarrhée douleurs abdominales) apparaissent entre 1 et 5 jours après ingestion de l'aliment contaminé.

Six classes impliquées dans les syndromes diarrhéiques ont été décrites sur la base des signes cliniques engendrés d'une part, et des facteurs de pathogénicité exprimés par ces souches d'autre part. Il s'agit des *E. coli* entérotoxigènes (ECET), entéropathogènes (ECEP) entérohémorragiques (ECEH), entéro-invasifs (ECEI), entéroagrégatifs (ECEAg), et à adhésion diffuse (ECAD).

Par définition, Les EHEC constituent l'un des six pathovars définis de l'espèce *E. coli* caractérisés par leur capacité à produire des cytotoxines de la famille des Shiga-toxines et font partie d'un groupe plus important que l'on appelle les Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC). Les EHEC sont responsables chez l'homme de troubles variés allant d'une simple diarrhée aqueuse bénigne à une colite hémorragique pouvant évoluer vers des formes graves telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez les jeunes enfants et le purpura thrombocytopenique thrombotique chez l'adulte.

Le traitement est principalement symptomatique; la nutrition parentérale qui permet, à la fois, de compenser les pertes hydriques dues à la diarrhée et de soutenir la fonction rénale. Les antibiotiques étant très controversés car ils favoriseraient la production et la libération des toxines bactérienne, une transfusion plaquettaire est indiquée en cas d'hémorragie. [73]

III.2.1.2. Intoxication à *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus est l'espèce à l'origine de toxi-infections alimentaires le plus souvent à guérison rapide mais qui peut aussi mener au décès des consommateurs. Les toxi-infections alimentaires à *S. aureus* sont en réalité des intoxications dues à l'ingestion d'aliments dans lesquels une souche de *S. aureus* s'est multipliée et a produit une ou plusieurs entérotoxines.

S. aureus peut être responsable, dans certaines conditions, de pathologie prenant des formes cliniques très diverses et plus ou moins graves chez ses hôtes. [74]

L'intoxication alimentaire par la toxine de *Staphylococcus aureus* est d'action rapide, la plupart des gens tombent malades dans les 30 minutes à 6 heures après l'ingestion de l'aliment contenant la toxine. Une dose de toxine inférieure à 1,0 microgramme dans les aliments contaminés peut produire des symptômes d'intoxication staphylococcique.

Les symptômes comprennent généralement des vomissements, des nausées, des crampes d'estomac, et rarement la diarrhée, qui durent au maximum la journée. Cette maladie n'est pas contagieuse, et les cas graves sont rares.

Les aliments qui sont souvent incriminés dans l'intoxication staphylococcique comprennent les produits à base de viande, les produits de volaille et d'œuf; des salades contenant des œufs, du thon, du poulet, des pommes de terre et macaronis; et les produits de boulangerie tels que des pâtisseries fourrées à la crème, les tartes à la crème et les éclairs au chocolat; et le lait et les produits laitiers. [75]

III.2.1.3. Toxi-infection alimentaire à *Salmonella* :

La salmonellose est une infection bactérienne causée par le genre *Salmonella*. Les symptômes apparaissent 12 à 72 heures après l'infection chez la plupart des personnes infectées. La maladie dure généralement de 4 à 7 jours, et la plupart des personnes se rétablissent sans traitement. [76]

Salmonella enterica est un pathogène intracellulaire facultatif de Gram négatif ; selon la structure flagellaire, glucidiques et lipopolysaccharidiques on distingue plusieurs sérotypes retrouvés chez l'animal notamment les bovins tel que *S. dublin* abortive; Elle se transmet par l'ingestion d'aliments ou par contact direct avec les animaux infectés. [77]

La gravité des infections à *Salmonella* chez les humains varie selon le sérotype en cause et l'état de santé de l'hôte humain :

-Les gastro-entérites à salmonelles ce sont des salmonelloses non typhiques responsables des salmonelloses dites mineures [78].les symptômes sont une diarrhée avec des douleurs abdominales, de la fièvre et des nausées, des myalgies, des vomissements et des maux de tête. [79]

III.2.1.4. Listériose :

La listériose est l'une des infections d'origine alimentaire les plus graves avec une mortalité élevée (30%) [80], elle se manifeste généralement par une forme non invasive par des symptômes diarrhéiques, de la fièvre, des douleurs musculaires, des maux de tête, des crampes abdominales et des vomissements [81], mais pour ce qui concerne les fœtus ou les nouveau-nés, on observe des septicémies, une naissance prématurée ou une mortalité. [80]

Chez l'homme, *Listeria monocytogenes* peut être transmise par l'ingestion d'aliments contaminés. Il existe aussi un risque de transmission de la mère à l'enfant lors de la grossesse. Le passage trans-placentaire se fait en cas de bactériémie chez la mère, la contamination peut aussi se faire lors de l'accouchement. La mère aura le plus souvent été elle-même contaminée par voie alimentaire. [82]

L'infection maternelle est rare mais encore sévère, souvent asymptomatique ou se manifeste par une fièvre isolée, tandis que l'infection fœtale et néonatale est grave et de mauvais pronostic, avec jusqu'à 25 à 35 % de mortalité fœtale/néonatale.

L'amoxicilline est la clé du traitement et doit être prescrite à toute femme enceinte fébrile sans agent causal identifié, en cas de consommation d'aliments à risque (produits laitiers, viande mal cuite).

La prévention repose sur l'éviction des aliments à risque : à base de lait non pasteurisé, charcuteries artisanales et préparations « traiteur » non recuits principalement

La listériose est une infection à déclaration obligatoire. [83]

III.2.2. Infections parasitaires :

Les parasites peuvent contaminer les aliments. Ils peuvent causer des problèmes diarrhéiques beaucoup plus graves chez les personnes Immunodéprimées. [84]

Parmi les agents parasitaires responsables de TIA :

Entamoeba histolytica : (agent pathogène de la dysenterie amibienne) : L'ingestion de 1000 kystes suffit à provoquer la maladie. L'ingestion d'aliment ou d'eau (Formation des kystes) contaminée par des matières fécales est la cause de cette maladie. Des symptômes apparaissent entre 2 à 4 semaines après la consommation, allant de l'évolution asymptomatique à des maladies chroniques très graves (diarrhée sanglante, fièvre, colite aiguë, abcès hépatique, etc.) [85]

III.2.3. Champignons pathogènes :

Les champignons microscopiques jouent un rôle essentiel dans la maturation des fromages, mais l'industrie laitière connaît également une flore fongique néfaste [86]. Entre 36 et 72 Heures après la consommation apparaissent des symptômes de nature gastro-intestinale ; des douleurs abdominales, diarrhées et vomissements. [87]

CHAPITRE IV :
**Techniques d'analyse en microbiologie
alimentaire**

IV.1. Fiche de renseignement :

Chaque prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignement, avec les informations suivantes :

- Identification précise du produit.
- Conditionnement et contenance (masse ou volume).
- Quantités de l'échantillon.
- Conditions de stockage et de transport.
- les dates de fabrication et de prélèvement.
- Identification du préleveur.
- Motif de la demande (analyse de routine ou autre).

République algérienne démocratique et populaire

WILAYA DE BLIDA

PRELEVEMENT DES PRODUITS ALIMENTAIRE PUOR ANALYSE

Fiche technique

✓ Nom et prénom de déposé :

✓ Nom et prénom du producteur :

✓ Numéro d'échantillon :

✓ Adresse du lieu de prélèvement :

✓ Date de fabrication :

✓ Date et heure de prélèvement :

✓ Nombre d'échantillons prélevé :

✓ Type du produit :

✓ Contenances du produit (gr ou ml) :

✓ Température du transport :

✓ Température du stockage :

Figure 6 : La fiche de renseignement

IV.2. Prélèvement : [88]

- Conditions générales :
 - L'asepsie rigoureuse
 - l'homogénéité et la représentativité
 - Éviter toute contamination extérieure

- L'intégrité du prélèvement depuis sa réalisation jusqu'à l'analyse
- Dans la mesure du possible, les échantillons du produit à analyser doivent être amenés au laboratoire dans leur conditionnement d'origine.

➤ Techniques de prélèvement :

-Produits alimentaires (solides ou liquides) conditionnés en portions unitaires : collecter 5 unités (par lot).

-Produits liquides : s'assurer de la parfaite homogénéisation du liquide (agitateurs) puis prélever de 5 endroits différents et à différentes profondeurs.

-Produits solides : Réaliser des prélèvements à divers niveaux de l'aliment (surface, profondeur).

IV.3. Transport et conservation : [88]

-Transporter les échantillons dans une glacière avec blocs réfrigérants.

-Les prélèvements doivent être acheminés au laboratoire dans les plus brefs délais.

-Arrivés au laboratoire et dans l'attente d'analyses, les échantillons sont conservés au réfrigérateur selon les indications précisées dans chaque méthode d'analyse.

- Les échantillons sont conservés au réfrigérateur jusqu'au rendu des résultats.

IV.4. Technique de numération en microbiologie :

IV.4.1. Ensemencement en surface :

Une quantité déterminée de l'échantillon pour essai, pour les produits liquides ou une quantité déterminée de la suspension mère dans le cas d'autres produits, est ensemencée à la surface d'un milieu de culture gélosé solide contenu dans des boîtes de Pétri. [89]

- Ensemencement en stries parallèles :

Chapitre IV Techniques d'analyse en microbiologie alimentaire

L'inoculum, prélevé à partir d'un bouillon de culture, est déposé sur un point périphérique de la plaque gélosée. La gouttelette de culture est disséminée sur toute la gélose en décrivant des stries parallèles.

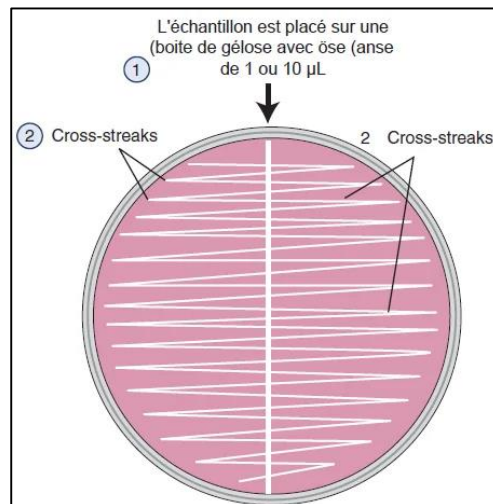


Figure 7 : Technique d'ensemencement en stries parallèles

- Ensemencement par la méthode de quadrants :

L'inoculum, prélevé à partir d'un bouillon de culture, est déposé à la périphérie de la gélose. Il est ensuite disséminé par des stries parallèles sur une moitié de la boîte, faire tourner la boîte d'un quart de tour et ensemercer par des stries perpendiculaires aux premières stries ; après un autre quart de tour de la boîte, ensemercer le dernier quadrant. Les boîtes de pétri sont toujours incubées et renversées. [90]

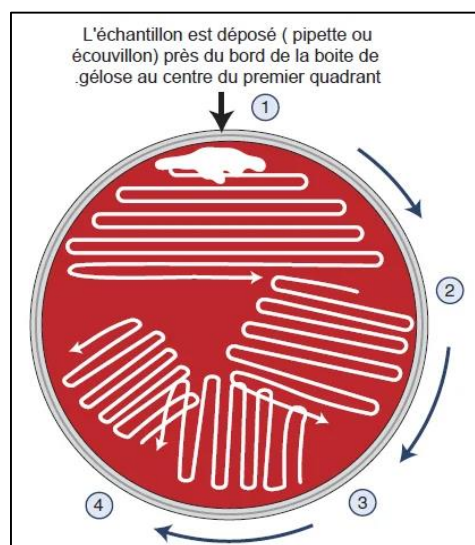


Figure 8 : Technique d'ensemencement par la méthode de quadrants

IV.4.2. Incorporation a la gélose :

Les milieux gélosés sont préalablement liquéfiés au bain-marie bouillant, puis refroidis à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.

Avec une pipette graduée et stérile, 1 ml de l'inoculum (SM ou dilutions) est réparti en gouttes sur le fond d'une boîte de pétri vide dans la zone de protection du bec Bunsen.

Couler environ 15ml du milieu gélosé préalablement liquéfié et refroidi.

Faire des mouvements circulaire et vas et vient et en forme de « 8 » pour bien homogénéiser le milieu et l'inoculum.

Laisser refroidir jusqu'à solidification et incuber couvercle en bas à la température spécifique pour chaque germe. Les colonies vont pousser dans la masse de la gélose. [91]

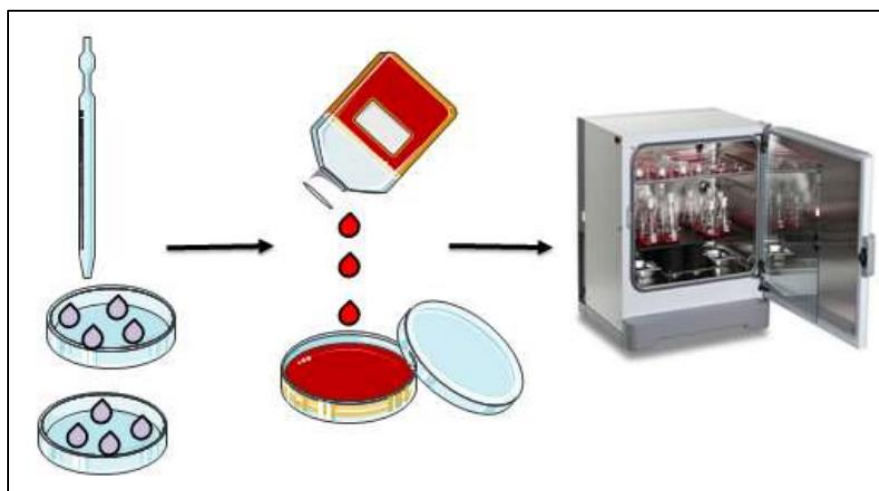


Figure 9 : Technique d'ensemencement en profondeur

IV.5. Recherche et dénombrement des germes : (Annexe I)

IV.5.1. Recherche des coliformes totaux, coliformes thermo-tolérants et *Escherichia coli* :

Le terme coliforme correspond à des micro-organismes en bâtonnets, non sporogènes, à coloration Gram négative, oxydase négative, aérobies ou aérobies facultatifs et capables de

fermenter le lactose en moins de 48 heures à 35°C pour les coliformes totaux, alors que les coliformes fécaux tolèrent une température de 44°C à laquelle ils fermentent le sucre en 24 heures. [92]

La recherche des coliformes totaux nécessite le bouillon lactose bilié au vert brillant (VRBL). Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 à 48h, les colonies sont rouges avec reflet métallique. [93]

Coliformes fécaux nécessitent une confirmation c'est-à-dire, qu'à partir des cultures positives de VRBL, repiquer 5 colonies chacune dans un tube de VBL muni d'une cloche de Durham, et 3 colonies dans trois tubes d'eau peptonnée exempte d'indole et ensemencer. Si les deux milieux ensemencés sont positifs (dégagement du gaz dans la cloche de Durham et l'apparition d'un anneau rouge par l'ajout de réactif de Kovac's) on confirme la présence d'*E. Coli* à 44°C.

Les coliformes constituent des germes indicateurs de contamination fécale en bactériologie alimentaire et des eaux. Ils appartiennent aux genres *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, si ces dernières sont absorbées en quantité massive (1 million à 1 milliard de germes) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements et diarrhée), habituellement de courte durée. [94]

IV.5.2. Recherche des *Staphylocoques aureus* à coagulase positive :

Les staphylocoques sont des cocci Gram positif, catalase (+), immobiles, isolés ou groupés en diplocoques ou, en amas (du grec staphylo, grappe de raisin), aéro-anaérobie facultatif et cultive facilement sur milieu usuel. Sa température de croissance optimale est de 37°C.

Les staphylocoques à coagulase positive (SCP) sont généralement considérés comme pathogènes.

Et le plus souvent incriminé dans des cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) par le lait et les produits laitiers. Elle déclenche des nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et maux de tête voire des conséquences plus graves chez les jeunes enfants, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées.

La réglementation concernant la qualité microbiologique des produits laitiers oblige à chercher la présence de *Staphylococcus aureus* dans les produits laitiers. Cette bactérie est fréquemment mise en évidence lors des contrôles microbiologiques parce que certaines souches appartenant à l'espèce *Staphylococcus aureus* produisant des entérotoxines dont l'ingestion provoque une Toxi-infection Alimentaire. [95]

Leur dénombrement est effectué en surface sur milieu Baird Parker additionné de jaune d'œuf préparé à l'avance, puis incubée à 37 °C pendant 24 h à 48h. [96]

IV.5.3. Recherche des Salmonelles :

Les salmonelles sont des bâtonnets à gram négatif, catalase (+), oxydase (+), motiles, elles sont aérobies anaérobies facultatives, qui typiquement ne fermentent pas le lactose et ne forment pas de spores et sont pathogènes pour l'homme et les animaux par voie orale. [97]

Elles sont naturellement présentes dans l'intestin des animaux (en particulier chez les volailles et les porcs), des oiseaux, des reptiles, de certains animaux de compagnie. Elle est également présente dans l'environnement et peut contaminer le lait à la production. Les personnes qui consomment du lait contaminé par salmonella sont susceptibles de contracter la salmonellose. Les symptômes de la salmonellose ressemblent à ceux de la grippe. [98]

Leur dénombrement est réalisé en 2 étapes : un pré-enrichissement dans l'eau peptonée tamponnée puis un enrichissement dans le bouillon au SFB et cultivées sur milieu Hektoen. L'incubation des trois milieux se fait à 37 pendant 24h.

IV.5.4. Recherche de *Listeria monocytogenes* :

Le genre *Listeria*, notamment l'espèce *Listeria monocytogenes*, est un petit bacille à gram positif (+), non capsulé, non sporulé, mobile à 20°C «en pirouette », aéro-anaérobie facultatif qui se développe facilement sur les milieux usuels. Elle fait partie des bactéries psychrotrophes pathogènes. *Listeria monocytogenes* est couramment retrouvée dans le lait cru. [99]

Les *Listeria* sont des bactéries ubiquitaires, telluriques, très répandues dans l'environnement (sol, végétaux, eaux douces et salées). Elles sont très résistantes au milieu extérieur (plusieurs années à 4°C). Ce sont aussi des hôtes des êtres vivants. [100]

Chapitre IV Techniques d'analyse en microbiologie alimentaire

Listeria monocytogenes est recherchée sur gélose Palcam après un enrichissement primaire dans le bouillon Fraser-demi et un enrichissement secondaire dans le milieu Fraser pendant 24h à 37°C.

Partie pratique

Partie pratique

1. Présentation de l'étude :

1.1. Objectifs :

-principal :

L'objectif de notre étude consiste à évaluer la qualité sanitaire et hygiénique du lait fermenté.

-secondaires :

- Il s'agit de déterminer sa contamination et d'identifier les germes impliqués, visant à protéger la santé humaine.
- Le contrôle de la qualité du lait fermenté a été effectué par l'évaluation de sa qualité bactériologique au niveau de quelques points de vente de la wilaya de Blida (communes de : Blida, Ouled yaich, Beni mered).
- La recherche des coliformes totaux et fécaux, staphylococcus aureus et salmonella par des techniques de dénombrement selon le Journal Officiel de la République Algérienne. (Annexe I)

1.2. Lieux de stage :

Le stage a été effectué dans deux laboratoires différents :

- *Laboratoire d'hygiène EPSP Blida :*

Adresse : Rue Ramoul Abdelaziz Zaabana -Blida-

Création : 1996

Activité : Contrôle qualité alimentaire et hydrique

Nom du responsable : Teffahi Djamel

Section composant le laboratoire : Microbiologie Alimentaire

Copro-Parasitologie

Partie pratique

- *Laboratoire du contrôle de la qualité et la répression des fraudes Blida :*

Adresse : Diar el Bahri beni mered -Blida-

Création (Activité physique du laboratoire) : Novembre 2018 Tutelle Ministère du Commerce (CACQE)

Activité : Contrôle de la Qualité et de la Répression des Fraudes (Annexe V)

Nom du responsable : Mme Halouane Isma

Section composant le laboratoire : Département microbiologie

Département physico-chimie

2. Matériels et méthodes :

2.1. Prélèvement :

Chaque prélèvement a été effectué selon les conditions d'asepsie requise par la réglementation algérienne (**JORA 2005**).

Pour une meilleure représentativité de l'échantillonnage nous avons pris l'initiative de faire un tirage au sort de trois points de vente en détail des produits laitiers et dérivés de la wilaya de Blida (Tableau 4).

Les prélèvements ont été effectués le matin séparément dans chaque site. Pour chaque prélèvement nous avons pris 1L de lait fermenté écrémé réparti en 05 unités de 200 ml chacune.

Les trois échantillons ont été prélevés de la cuve et récupérés dans des sacs stériles de 500 ml.

Une fois les prélèvements effectués, ils sont immédiatement acheminés dans une glacière à +4°C vers le laboratoire, les premières étapes de la partie expérimentale au laboratoire sont entamées le jour même.

Partie pratique

Echantillons	Région	Date de prélèvement	Nombre de prélèvement
Echantillon 1 et 4	Ouled yaich	Mai et juin	5
Echantillon 2 et 5	Benimared	Mai et juin	5
Echantillon 3 et 6	Blida centre	Mai et juin	5

Tableau 4 : Plan d'échantillonnage

2.2. Transport et conservation :

Les prélèvements ont été acheminés au laboratoire dans le plus bref délai, transportés dans une glacière avec des blocs réfrigérants et sont conservés jusqu'au moment de l'analyse à une température positive n'excédant pas +6 °C.

Arrivés au laboratoire et dans l'attente d'analyses, les échantillons sont conservés au réfrigérateur selon les indications précisées dans chaque méthode d'analyse.

Les échantillons étant liquides ont été conservés à une température comprise entre 2°C et 6°C à partir du moment de l'échantillonnage jusqu'au commencement du mode opératoire.

2.3. Matériels :

Tous ces milieux et réactifs ont été fournis par le laboratoire d'hygiène de Tipaza, laboratoire d'hygiène de Blida, et laboratoire de contrôle de la qualité et la répression des fraudes Blida.

- Matériels non biologique :

Réfrigération pour conserver les milieux de culture et les réactifs. Réfrigérateur, pouvant fonctionner à 5 °C ± 3 °C.

Autoclave pour stériliser des équipements en verrerie ainsi que les milieux de culture.

Partie pratique

Bain marie pour liquéfier les milieux de cultures à une température entre 44 °C et 47 °C.

Appareillage de comptage de colonies

Balance de précision de 0,1 g.

Étuve réglée à 30, 37, et à 44 °C pour incuber les boîtes pétriensemencées.

Appareil pour la stérilisation en chaleur sèche (four) et en chaleur humide (autoclave)

Bec bunsen

Agitateur

Béchers, Etaleur, Boîtes pétri, Flacons, Spatule, Tubes à essai, Pipettes graduées, Pipettes Pasteur, Micropipettes, Tubes à vis.

Partie pratique



Agitateur



Balance de précision



Bain marie



Appareil de comptage de colonies



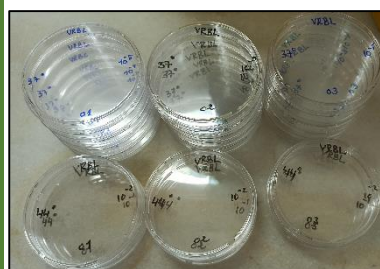
Bec bunsen



Agitateur électrique



Les tubes



Boîtes pétri



Étuve

Partie pratique

- Matériels biologique : (Annexe II)

Afin de rechercher et d'identifier les germes pathogènes présents dans les produits laitiers artisanaux, nous avons utilisé plusieurs milieux de culture et réactifs :

- Bouillon Tryptone Sel Eau (TSE)
- Bouillon sélénite cystéine (SFB)
- Bouillon Giolitti Cantonni (GC)
- Eau peptonnée Exempte d'Indole (EPEI)
- Eau peptonnée tamponnée (EPT)
- Gélose de Baird Parker
- Gélose VRBL
- Bouillon VBL
- Gélose Plate Count Agar (PCA)
- Gélose Héктоën
- Gélose Chapman
- L'alcool

2.4. Méthodes d'analyses :

- ✓ **Préparation de la solution mère et dilution décimale : [101]**

Méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique des laits et des produits laitiers.

- Suspension mère (première dilution) :

Suspension, solution ou émulsion obtenue en mélangeant une quantité du produit à analyser (ou de l'échantillon pour essai préparé à partir de ce produit) avec une quantité de diluant égale à neuf (9) fois cette quantité de produit.

Partie pratique

Pour obtenir une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes contenus dans l'échantillon pour essai.

Les diluants utilisés pour cette étude sont le **TSE**, **EPT** (pré-enrichissement pour salmonella), et le **K₂HPO₄** (hydrogénophosphate de potassium).

Pour les produits liquides la suspension mère correspond à la première dilution 10^{-1} .

- Dilutions décimales :

Suspensions ou solutions obtenues en mélangeant un volume mesuré de la suspension mère avec un volume de diluant égal à neuf (9) fois le volume prélevé de la suspension mère et en répétant cette opération sur chaque dilution préparée jusqu'à obtention d'une série de dilutions décimales, appropriée pour l'ensemencement des milieux de culture. (Figure 10)

Le but de la préparation des dilutions décimales est de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur éventuel développement.

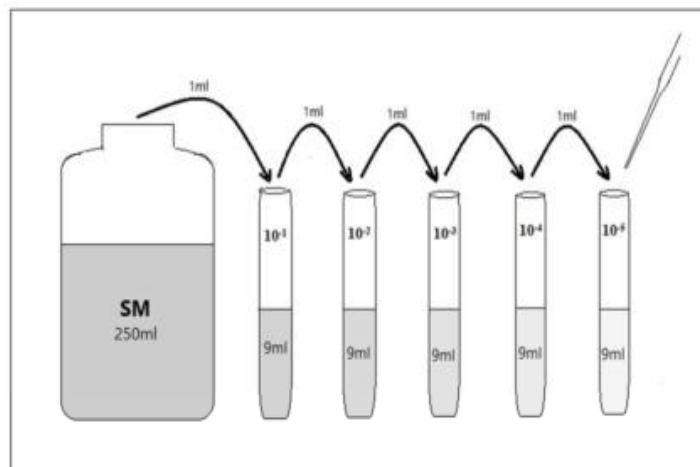


Figure 10 : Préparation des dilutions décimales d'après la solution mère.

✓ Recherche et dénombrement des coliformes : [102], [103]

Les coliformes sont des bactéries qui, à la température spécifiée, forment des colonies caractéristiques en gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre et fermentent le lactose avec production de gaz lors de l'essai de confirmation, et ce, lorsque l'essai est effectué dans les conditions spécifiées dans la présente méthode.

Partie pratique

- **Ensemencement :** (Figure 12)

-Prendre deux boîtes de Pétri stériles pour chaque dilution choisie.

-Prélever aseptiquement 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette graduée stérile de 1 ml; transférer le 1 ml prélevé dans le 1^{er} tube (10^{-1}), la pipette ne devrait pas pénétrer dans les 9 ml du diluant qui est le K_2HPO_4 ou TSE.

-Transférer à l'aide d'une pipette stérile 1 ml des dilutions appropriées 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} au centre de chaque boîte.

-Utiliser une nouvelle pipette stérile pour inoculer chaque dilution dans les boîtes.

-Verser environ 15 ml du milieu VRBL (gélose à la bile, au rouge neutre, au cristal violet et au lactose) à une température de 44 °C à 47 °C dans chaque boîte de Pétri.

-Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la suspension mère (ou de la dilution 10^{-1} dans le cas d'un produit liquide) et le moment où le milieu est versé dans les boîtes ne doit pas dépasser 15 mn.

-Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu de culture et laisser le mélange se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface froide et horizontale.

-Préparer également une boîte témoin avec environ 15 ml du milieu pour contrôler sa stérilité.

- **Incubation :**

-Après solidification complète, couler à la surface du milieuensemencé environ 4 ml du milieu VRBL à une température de 44 °C à 47 °C.

-Laisser solidifier et retourner les boîtes ainsi préparées et les incuber dans l'étuve réglée à 30 °C pour la recherche des coliformes totaux, et à 44 °C pour les coliformes thermo-tolérants pendant $24\text{ h} \pm 2$.

- **Dénombrement :**

Après la période d'incubation sélectionner les boîtes de Pétri ayant, un nombre compris entre 10 et 150 colonies, dénombrer :

-coliformes totaux :

Partie pratique

Les colonies typiques : colonies rouge-violacées ayant un diamètre minimal de 0,5 mm (parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile). Ne nécessitent pas de confirmation.

Les colonies atypiques (par exemple celles de taille plus petite) et toutes les colonies dérivées des produits laitiers contenant des sucres autres que le lactose immédiatement après la période d'incubation, La conversion des sucres autres que le lactose peut entraîner la formation de colonies, ayant une apparence similaire aux colonies typiques de coliformes. Nécessitent une confirmation.

-coliformes thermo-tolérants :

Les colonies typiques : colonies rouge-violacées ayant un diamètre minimal de 0,5 mm (parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile).

- **Confirmation :**

Si nécessaire, inoculer cinq (5) colonies atypiques dans des tubes de bouillon lactosé bilié au vert brillant VBL.

Mettre les tubes à incuber dans l'étuve réglée à 30 °C pendant 24 h ± 2 h. Considérer les colonies présentant une formation de gaz dans les cloches de Durham comme des coliformes et tenir compte de ces résultats dans le calcul (figure 11).

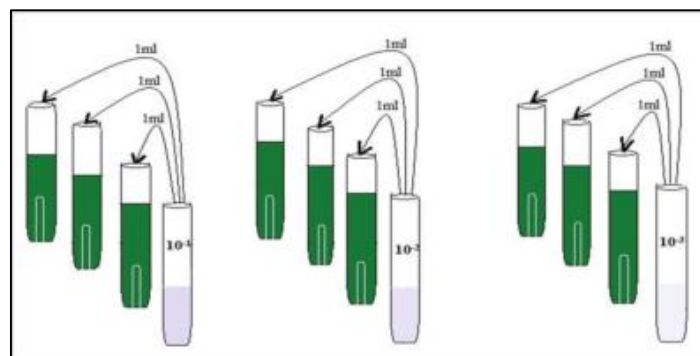


Figure 11 : Bouillon VBL pour le dénombrement des coliformes (Test de présomption).

Partie pratique

- **Expression des résultats :**

Lorsque la méthode utilisée nécessite une confirmation, un nombre déterminé A (en général 5) de colonies caractéristiques présumées est confirmé à partir de chacune des boîtes retenues pour le comptage des colonies.

Utiliser la formule suivante :

$$A = \frac{b}{a} \times C$$

Où :

a : est le nombre de tubes de VBL utilisé pour la confirmation.

b : est le nombre de tubes positifs.

C : est le nombre total de colonies non caractéristique dénombrer sur chaque boîte.

Calculer le nombre N de coliformes thermo-tolérants par millilitre ou par gramme de produit, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{V \times 1,1 \times d}$$

Où :

ΣC : la somme des colonies caractéristiques comptées sur les deux boîtes retenues

v : le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

d : le taux de dilution correspondant à la première dilution comptée. Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs.

Partie pratique

Noter comme résultat, le nombre de coliformes thermo-tolérants par millilitre ou par gramme de produit, exprimé par un nombre compris entre 1 et 9,9 multiplié par 10^x , où x est la puissance appropriée de 10.

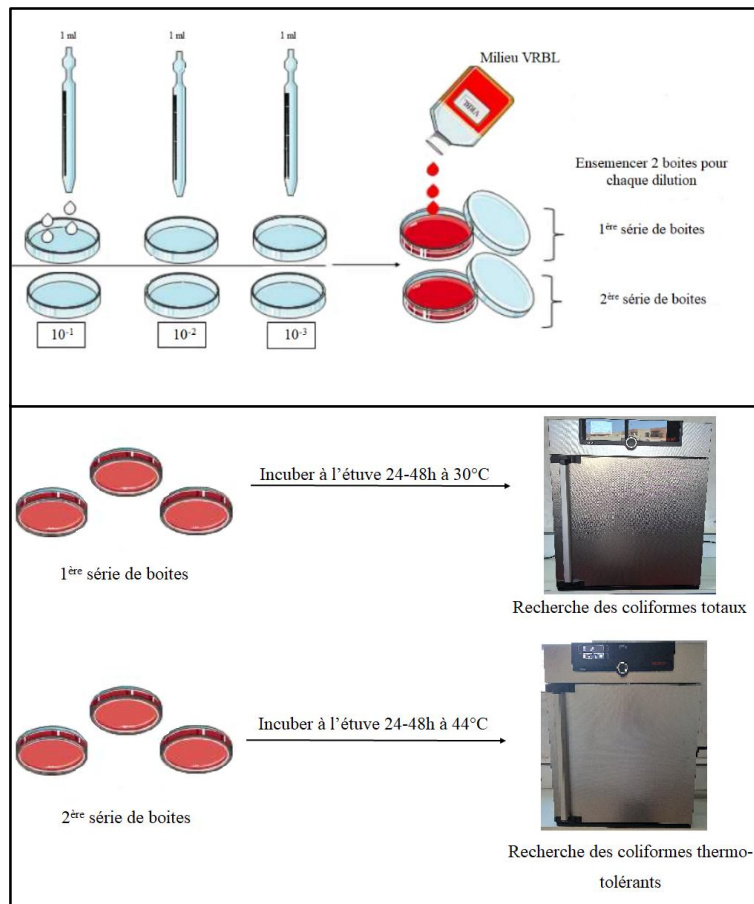


Figure 12 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.

Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* : [104]

L'*Escherichia coli* appartient au groupe des coliformes thermo-tolérants pour cela la recherche et le dénombrement de ce microorganisme se fait à partir des boites de 44°C.

Technique de recherche :

-Identifier au moins 3 colonies caractéristiques des coliformes thermo-tolérants sur chaque boite retenue.

-Aspirer la colonie à l'aide d'une pipette pasteur munie d'une poire.

Partie pratique

-Repiquer séparément chaque colonie et l'ensemencer dans le milieu urée indole et incuber ce milieu 18-24h à 37°C.

Principe de la réaction de l'urée :

Cette réaction permet la mise en évidence simultanée de:

- la production d'indole par l'hydrolyse du tryptophane par la tryptophanase. L'indole produit est mis en évidence par le réactif de Kovac's (le diméthylamino-4-benzaldéhyde) qui réagit avec l'indole avec formation d'un composé rouge.

- **Lecture :**

-Lecture de l'urée : le milieu est considéré négatif s'il garde sa couleur initiale.

-Lecture de l'indole : rajouter 1 à 2 gouttes de milieu Kovac's et voir l'apparition d'un anneau rouge (figure 13).

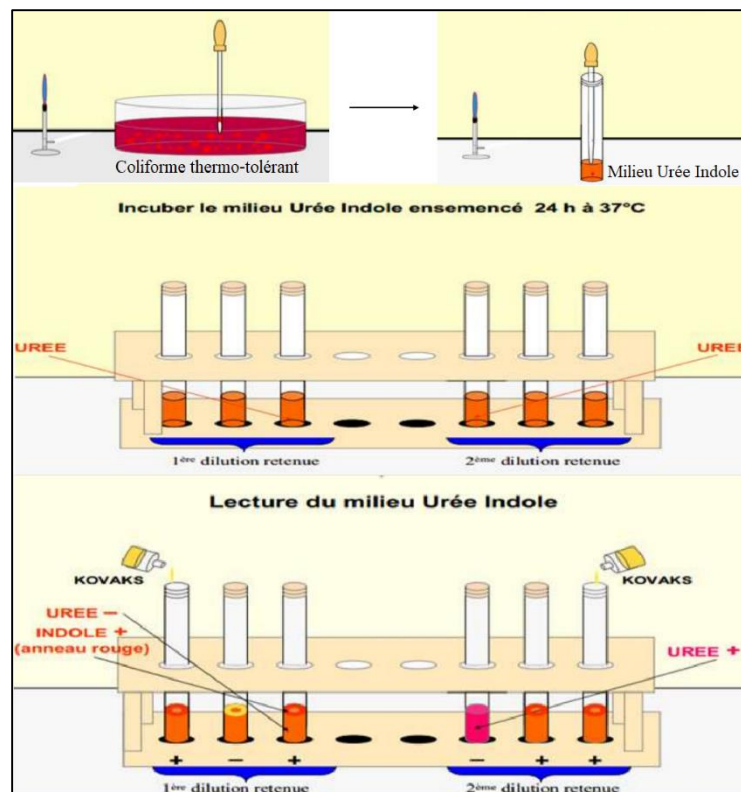


Figure 13 : Recherche d'*Escherichia coli* sur milieu urée indole.

Partie pratique

✓ Recherche et dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive

(*Staphylococcus aureus*) : [105]

• **Ensemencement** : (Figure 14)

- Transférer, à l'aide d'une pipette stérile, 0,1 ml de l'échantillon pour essai, à la surface de chacune des deux boîtes de milieu gélosé **Baird Parker**.

Répéter l'opération avec la dilution 10^{-2} et les dilutions suivantes si nécessaire.

- Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé en évitant de toucher les bords de la boîte avec l'étaleur.

- Laisser sécher les boîtes, avec leur couvercle en place, pendant, environ, 15 min à la température ambiante.

• **Incubation** :

- Retourner les boîtes préparées, les incuber pendant $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$, puis les ré-incuber pendant $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ supplémentaires dans l'étuve à 37° C .

- Après $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ d'incubation, marquer sur le fond des boîtes les positions:

Des colonies caractéristiques : noires ou grises, brillantes et convexes (1 mm à 1,5 mm de diamètre après 24 h d'incubation et 1,5 mm à 2,5 mm de diamètre après 48 h d'incubation) et sont entourées d'une auréole claire qui peut être partiellement opaque. : Après, au moins, 24 h d'incubation, un anneau opalescent peut apparaître dans cette zone claire immédiatement au contact des colonies. (Figure 15)

- Incuber à nouveau toutes les boîtes à 35° C ou à 37° C (la température est indiquée dans le bulletin d'analyse) durant $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ supplémentaires, et marquer les nouvelles colonies caractéristiques.

Marquer également : les colonies non caractéristiques ont la même taille que les colonies caractéristiques et peuvent présenter l'une des morphologies suivantes :

- colonies noires et brillantes avec ou sans bord blanc étroit ; la zone claire et l'anneau opalescent sont absents ou à peine visibles ;

- colonies grises dépourvues de zone claire. Les colonies non caractéristiques sont surtout formées de souches de staphylocoques à coagulase positive contaminant, par exemple, les produits laitiers, les crevettes et les abats. Ce sont moins souvent des souches de staphylocoques à coagulase positive qui contaminent les autres produits.

Partie pratique

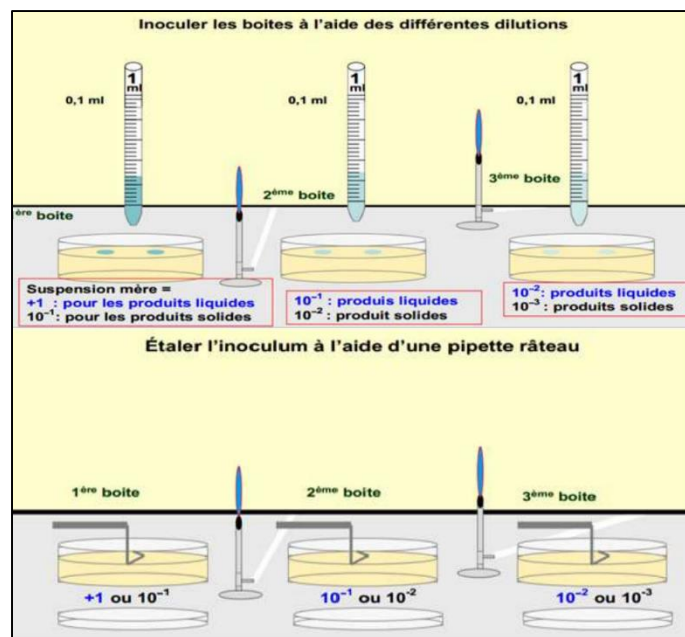


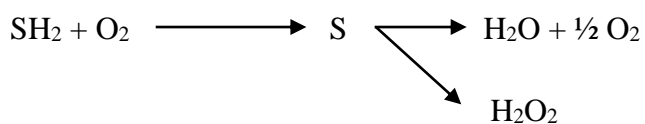
Figure 14 : Recherche et dénombrement de staphylocoque à coagulase positive.



Figure 15 : Aspect de colonies de staphylocoque à coagulase positive sur milieu complet.

- **Test de confirmation :**
- Test de la catalase :

Principe : Lors de la déshydrogénation (oxydation du substrat), l'O₂ moléculaire est réduit selon la formule :



Partie pratique

L'eau oxygénée qui se forme est très toxique pour les bactéries, et les bactéries aérobies possèdent des déshydrogénases oxytrophes qui détruisent l' H_2O_2 , soit par catalases ou par peroxydases selon la réaction : $\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{O}_2$.

Technique :

Prélever une moitié de la colonie et la déposer sur une lame propre, puis déposer sur cette demi-colonie une goutte d' H_2O_2 . (Figure 16)

Lecture : - Dégagement des bulles gaz - La bactérie est Catalase +

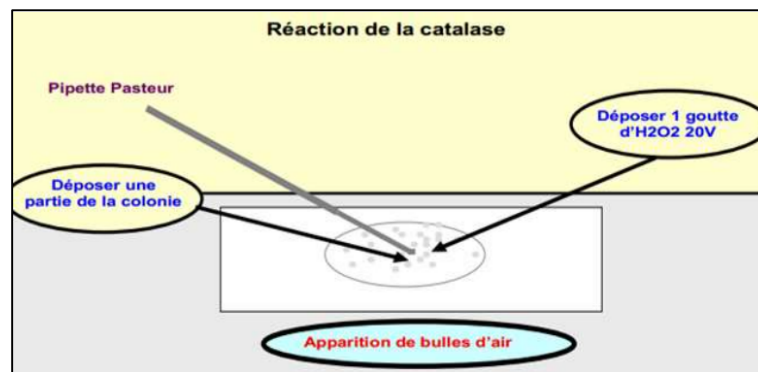


Figure 16 : Test de confirmation par la réaction de la catalase.

- Test de la coagulase :

La coagulase libre est une enzyme qui permet de catalyser la transformation du fibrinogène (soluble) en fibrine (insoluble). La formation d'un coagulum attestera de la présence d'une coagulase libre. Il suffit pour cela d'utiliser du plasma de lapin.

La moitié de chaque colonie ayant la catalase positive est repiquée dans un bouillon cœur-cerveille (BHIB). Les tubes sont incubés 18h à 37°C.

Mélanger 0.1 ml du bouillon BHIB avec 0,3 ml avec du plasma dans un tube stérile et incubé les tubes à 37°C pendant 24h. Faire des lectures durant les 1ères heures d'incubation et laisser 24h si le résultat est négatif.

Partie pratique

Lecture de la coagulase : Observer la formation d'un caillot visible résultant de l'activation des facteurs de coagulation du plasma. La coagulation donc se traduit par la prise en masse du contenu du tube. (Figure 17)

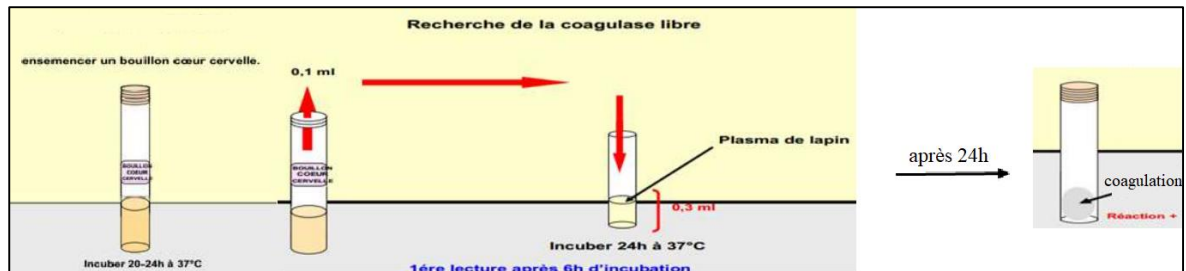


Figure 17 : Test de confirmation par la recherche de la coagulase.

- **Expression des résultats :**

Ne retenir pour le dénombrement que les boîtes renfermant au maximum 300 colonies dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques au niveau de deux dilutions successives, et calculer le nombre N à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma\alpha}{V(n1 + 0,1 n2)d}$$

Ou :

$\Sigma\alpha$: Somme des colonies de staphylocoques à coagulase positive identifiées sur l'ensemble des boîtes retenues ;

V: Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

n1 : Nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

n2 : Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (la suspension mère est une dilution). Arrondir à deux chiffres significatifs les résultats obtenus.

Noter le résultat comme étant le nombre de staphylocoques à coagulase positive par millilitre (produit liquide) ou par gramme (autre produit), exprimé par un nombre compris entre 1 et 9,9 multiplié par 10^x , ou x est la puissance appropriée de 10.

Partie pratique

- ✓ Une autre méthode ancienne est utilisée pour le dénombrement de *staphylococcus aureus* (ISO) :

- **Enrichissement :**

-À partir des dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-3} , transférer aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1 ml de chaque dilution dans des tubes à vis stériles numérotées.

-Ajouter dans chaque tube 0,1 ml d'une solution stérile de téllurite de potassium à 1 %.

-Ajouter 15 ml du bouillon G.C dans chaque tube, et bien homogénéiser.

-Incuber les tubes, à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture :**

Les tubes ayant virés au noir sont considérés comme positifs.

- **Isolement :**

-Avec une anse de platine ensemercer dans des boîtes de pétri stériles et numérotées, les tubes considérés comme positifs sur milieu **Chapman** préalablement fondu au bain marie et refroidi à 42°C.

-Incuber les boîtes, couvercles en bas, à 37°C pendant 24 à 48 heures.

-Procéder aux tests de confirmation : coagulase et catalase

- **Lecture et interprétation :**

Dénombrer les colonies lisses brillantes, bombées, de taille moyenne et de couleur jaune dorée due à la fermentation du mannitol, et qui sont comprises entre 15 et 150 (Figure 18).

Les résultats sont exprimés en UFC/g du produit analysé.

Partie pratique

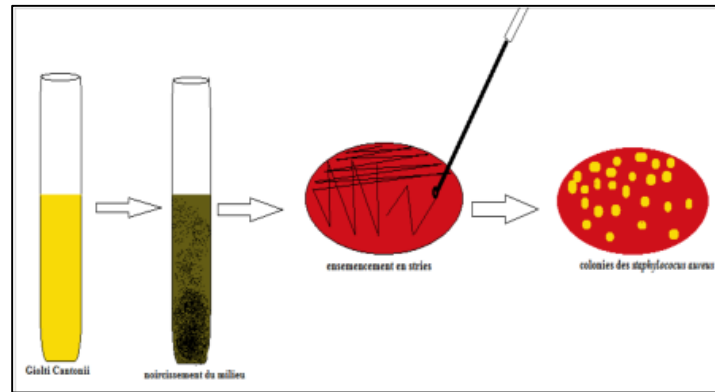


Figure 18 : Ensemencement des streptocoques fécaux dans le milieu chapman.

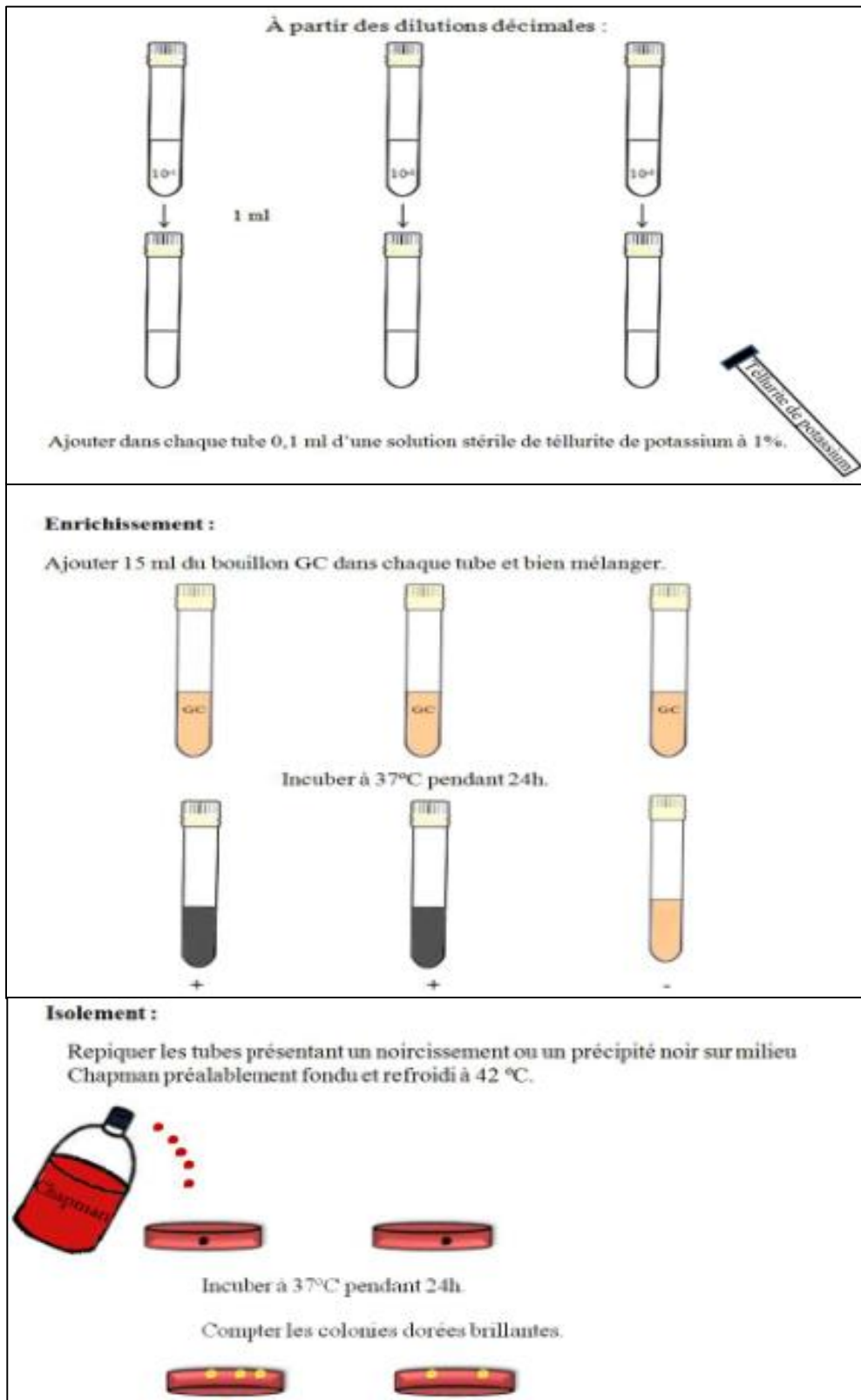


Figure 19 : Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*.

Partie pratique

✓ Recherche des Salmonelles : [106]

Les salmonelles sont des micro-organismes formant des colonies typiques ou moins typiques sur des milieux sélectifs solides et possédant les caractéristiques biochimiques et sérologiques décrites lorsque l'essai est exécuté selon la présente méthode.

La recherche de Salmonella nécessite quatre (4) phases successives :

- **Pré-enrichissement :**

Ensemencement de la prise d'essai dans de l'eau peptonée tamponnée à la température ambiante, puis incubation à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$.

- **Enrichissement :**

-Transférer 0,1 ml de la suspension mère dans un tube contenant 10 ml de bouillon RVS (Rappaport-Vassiliadis avec Soja).

-Transférer 1 ml de la suspension mère dans un tube contenant 10 ml de bouillon MKTTn (Muller-Kauffmann au Tétrathionate-novobiocine).

-Incuber le bouillon RVS ensemencé à $41,5\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$, et le bouillon MKTTn à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

-Il convient de s'assurer que la température maximale d'incubation ne dépasse, à aucun moment, $42,5\text{ °C}$ pour le bouillon RVS.

- **Isolement :**

-A partir des cultures obtenues de milieu d'enrichissement ensemencer deux milieux sélectifs solides : Gélose xylose lysine désoxycholate (gélose XLD) et sulfite de bismuth.

-Incubation des deux milieux à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ puis examen après $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

-A partir de la culture obtenue dans le bouillon RVS après $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ d'incubation, ensemencer avec une anse la surface d'une grande boîte de Pétri contenant le milieu d'isolement sélectif [gélose XLD], de façon à permettre le développement de colonies bien isolées.

Partie pratique

Procéder de la même manière avec le deuxième milieu d'isolement sélectif [gélose au sulfite de bismuth] en se servant d'une nouvelle anse et de boîtes de Pétri de dimensions appropriées.

-A partir de la culture obtenue dans le bouillon MKTTn après $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ d'incubation, répéter les opérations décrites en avec les deux milieux d'isolement sélectifs.

-Retourner les boîtes, les placer dans une étuve réglée à $37 \text{ }^\circ\text{C}$.

-Après $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ d'incubation, examiner les boîtes incubées afin de rechercher la présence de colonies typiques de *Salmonella*, ainsi que les colonies atypiques susceptibles d'être des *Salmonella*. Marquer leur position sur le dessous de la boîte.

-Les colonies typiques de *Salmonella* cultivées sur la gélose XLD ont un centre noir et sont entourées d'un halo clair transparent rouge dû à un changement de l'indicateur du milieu.

Les *Salmonella* H_2S négatif (par exemple *Salmonella Paratyphi A*) cultivées sur la gélose XLD sont roses avec un centre rose foncé.

Les *Salmonella* lactose positif cultivées sur la gélose XLD sont jaunes sans noircissement.

-les colonies typique de salmonelle sur gélose au sulfite de bismuth sont noires entourées d'un reflet métallique résultant de la production de sulfure d'hydrogène et de la réduction du sulfite en sulfure ferrique noir, et elles deviennent uniformément noires après 48 heures.

Partie pratique

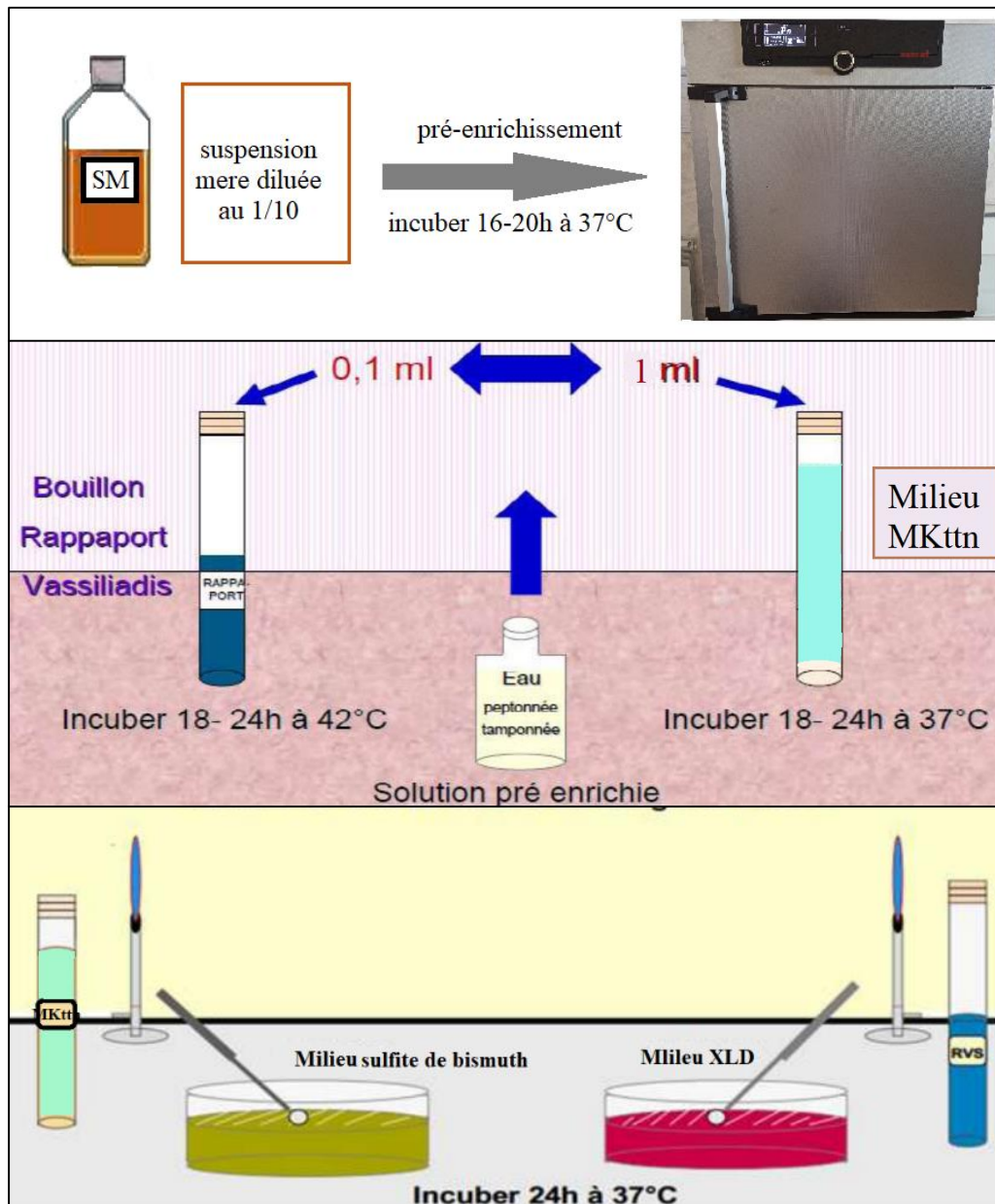


Figure 20 : Pré-enrichissement, enrichissement et isolement de salmonelle.

- **Confirmation :**

Repiquage des colonies présumées de Salmonella isolées, et confirmation au moyen des essais biochimiques et sérologiques appropriés.

Pour la confirmation, prélever à partir de chaque boîte de chacun des milieux sélectifs, au moins, une colonie considérée comme caractéristique ou suspecte, puis quatre autres colonies si la première s'est révélée négative. Ensemencer les colonies sélectionnées sur la surface de boîtes de gélose nutritive préalablement séchées, de façon à permettre le

Partie pratique

développement de colonies bien isolées. Incuber les boîtes ainsiensemencées à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

Utiliser des cultures pures pour les confirmations biochimiques et sérologiques.

➤ Confirmation biochimique :

A l'aide d'un fil à ensemencer, ensemencer les colonies retenues sur la gélose nutritive dans les milieux suivants :

-Gélose TSI : Ensemencer la pente du milieu en stries et le culot par piqûre. Incuber à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$. Interpréter les phénomènes qui se produisent, de la façon suivante :

a) Culot :

- jaune.....glucose positif (utilisation du glucose)
- rouge ou inchangé.....glucose négatif (pas d'utilisation du glucose)
- noir.....formation de sulfure d'hydrogène
- bulles ou fissures..... formation de gaz à partir du glucose

b) Pente de la gélose :

- jaune.....lactose et/ou saccharose positifs (utilisation du lactose et/ou du saccharose)
- rouge ou inchangé.....lactose et saccharose négatifs (pas d'utilisation du lactose ni du saccharose)

Les cultures caractéristiques de Salmonella correspondent à :

Une pente alcaline (rouge), formation de gaz (bulles), un culot acide (jaune) et (dans environ 90 % des cas) formation de sulfure d'hydrogène (noircissement de la gélose).

Partie pratique

Salmonella lactose positif, la pente de la gélose TSI est jaune.

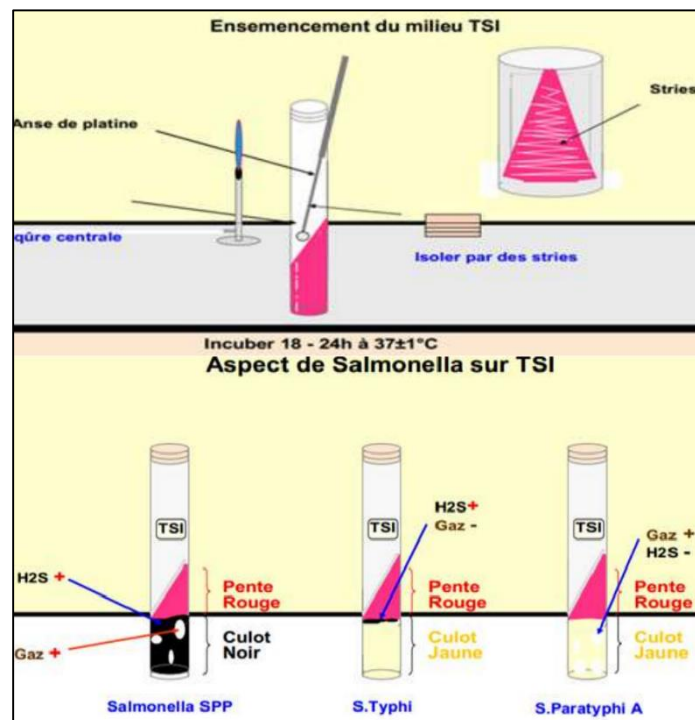


Figure 21 : Confirmation biochimique de salmonelle sur milieu TSI.

-Gélose à l'urée : Ensemencer en stries la pente de la gélose. Incuber à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ et examiner de temps en temps. En cas de réaction positive, la décomposition de l'urée produit un dégagement d'ammoniac, faisant virer le rouge de phénol au rose puis au rouge foncé. La réaction est souvent visible au bout de 2 h à 4 h.

-Milieu de décarboxylation de la L-lysine : Ensemencer le milieu liquide juste au-dessous de la surface. Incuber à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$. L'apparition d'une turbidité et d'une couleur violette après incubation indique une réaction positive et l'apparition d'une couleur jaune indique une réaction négative.

-Recherche de la bêta-galactosidase : Mettre en suspension une anse de la colonie suspecte dans un tube contenant 0,25 ml de la solution saline.

Ajouter une (1) goutte de toluène et agiter le tube. Placer ce dernier dans le bain d'eau réglé à 37 °C et l'y laisser séjourner quelques minutes (environ 5 min). Ajouter 0,25 ml du réactif pour la recherche de la bêta-galactosidase et mélanger. Replacer le tube dans le bain d'eau réglé à 37 °C , l'y laisser séjourner $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$ en l'examinant de temps à autre.

Une couleur jaune indique une réaction positive. La réaction est souvent visible au bout de 20 min.

Partie pratique

-Milieu pour la réaction de Voges-Proskauer (VP) : Mettre en suspension une anse de la colonie suspecte dans un tube stérile contenant 3 ml du milieu VP. Incuber à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$. Après incubation, ajouter deux (2) gouttes de la solution de créatine, trois (3) gouttes de la solution éthanolique de naphthol-1 et ensuite deux (2) gouttes de la solution d'hydroxyde de potassium en agitant après avoir ajouté chaque réactif.

La formation d'une coloration rose à rouge brillant dans un délai de 15 min indique une réaction positive.

-Milieu pour la recherche de l'indole : Ensemencer un tube contenant 5 ml du milieu tryptone/tryptophane avec la colonie suspecte et incuber à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$. Après incubation, ajouter 1 ml du réactif de Kovacs. La formation d'un anneau rouge indique une réaction positive. Un anneau jaune-brun indique une réaction négative.

➤ **Confirmation sérologique et sérotypage :**

La recherche de la présence des antigènes «O», «Vi», ou «H» des Salmonella est effectuée par une agglutination sur lame avec les sérums appropriés à partir de colonies pures pour confirmation et après élimination des souches auto-agglutinables.

-Élimination des souches auto-agglutinables : Déposer une (1) goutte de la solution saline sur une lame de verre parfaitement propre. À l'aide d'une anse bouclée, disperser dans cette goutte une fraction de la colonie à tester de manière à obtenir une suspension homogène et trouble.

Observer le résultat sur un fond noir de préférence à l'aide d'une loupe. Si les bactéries se sont rassemblées en masses plus ou moins distinctes, la souche est considérée comme auto-agglutinable et ne doit pas être soumise aux essais suivants et ainsi la mise en évidence des antigènes devient impossible.

○ Mise en évidence des antigènes «O» :

A partir d'une colonie pure reconnue non auto-agglutinable, répéter l'opération précédente mais en utilisant une (1) goutte de l'antisérum «O» au lieu de la solution saline. S'il y a agglutination, la réaction est considérée comme positive. Utiliser les sérums polyvalents et monovalents l'un après l'autre.

Partie pratique

- Mise en évidence des antigènes «Vi» :

Opérer comme en précédemment, mais en utilisant une (1) goutte de l'antisérum «Vi» au lieu de la solution saline. S'il y a agglutination, la réaction est considérée comme positive.

- Mise en évidence des antigènes «H»:

Ensemencer la gélose nutritive semi-solide avec une colonie pure non auto-agglutinable. Incuber à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durant $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$. Utiliser cette culture pour l'examen des antigènes «H», mais en utilisant une (1) goutte de l'antisérum «H» au lieu de la solution saline.

S'il y a agglutination, la réaction est considérée comme positive.

- **Expression des résultats :**

Selon les résultats de l'interprétation, indiquer la présence ou l'absence de Salmonella dans une prise d'essai de x g ou x ml de produit.

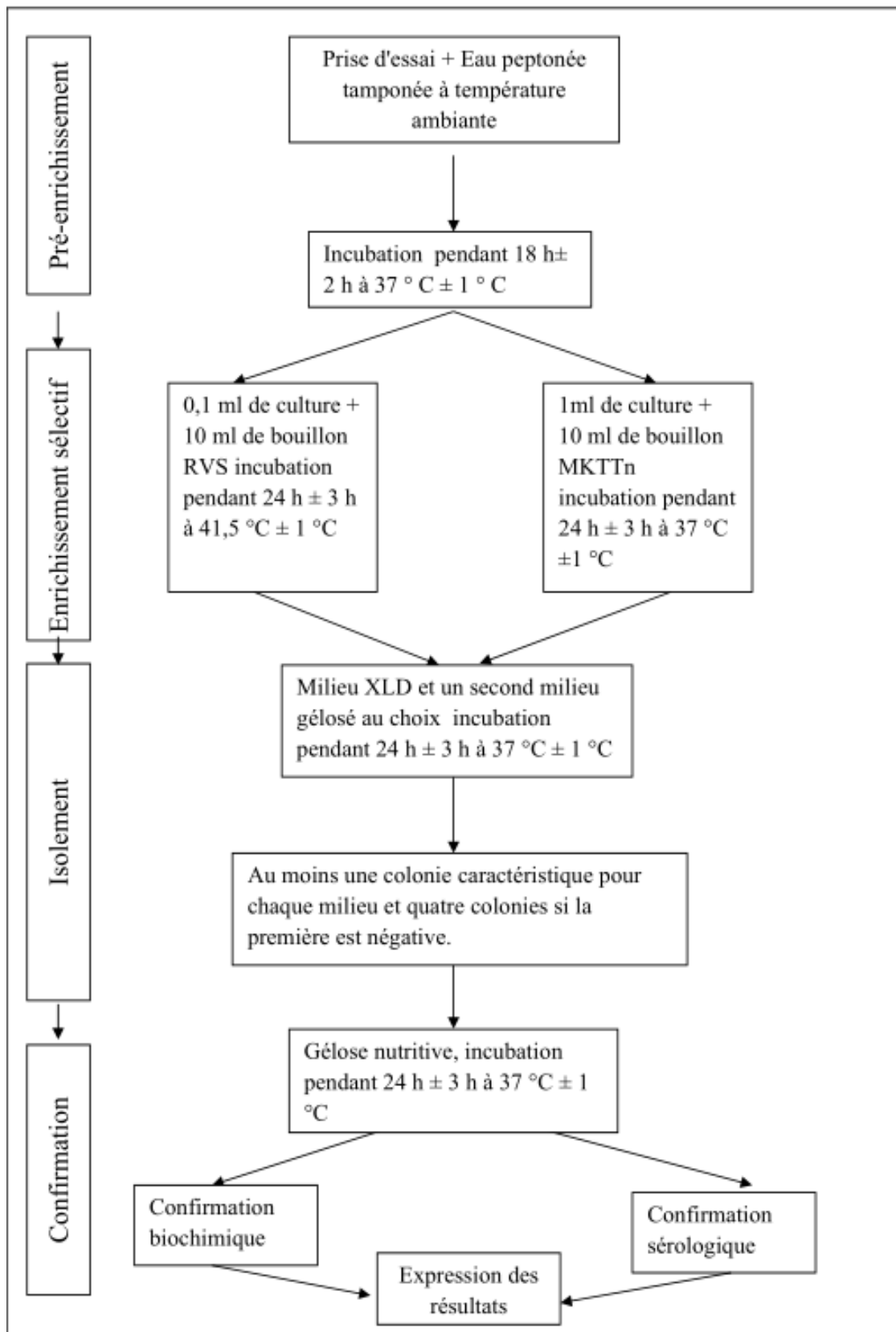


Figure 22 : Organigramme résumant le mode opératoire de la recherche des salmonelles.

Partie pratique

✓ Recherche des Salmonelles (ISO 6579) :

• Pré-enrichissement :

-Introduire aseptiquement 25 g ou ml de l'échantillon à analyser dans un flacon stérile contenant 225 ml du milieu EPT, afin de revivifier les cellules.

-Homogénéiser et incuber à 37°C pendant 24 heures.

• Enrichissement :

-Repiquer 1 ml du milieu de pré-enrichissement dans un flacon de 10 ml du milieu SFB sélénite F brothe, et bien homogénéiser.

-Répartir le milieu dans des tubes à vis stériles, contenant chacun 10 ml.

-Incuber les tubes à 37°C pendant 24 heures.

• Lecture :

Les tubes ayant virés au rouge brique sont considérés comme positifs.

• Isolement :

-Repiquer dans des boîtes de pétri stériles et numérotées, les tubes considérés comme positifs sur milieu Hektoen préalablement fondu au bain marie et refroidi à 42°C.

-Faire des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour bien homogénéiser le milieu et l'inoculum.

-Laisser solidifier sur paillasse.

-Incuber les boîtes, couvercles en bas, à 37°C pendant 24 heures.

• Lecture et interprétation :

-Dénombrer les colonies lisses verdâtres, de 2 à 4 mm de diamètre, avec ou sans un centre noir (Figure 23).

-Les résultats sont exprimés par une présence ou absence de germes.

Partie pratique

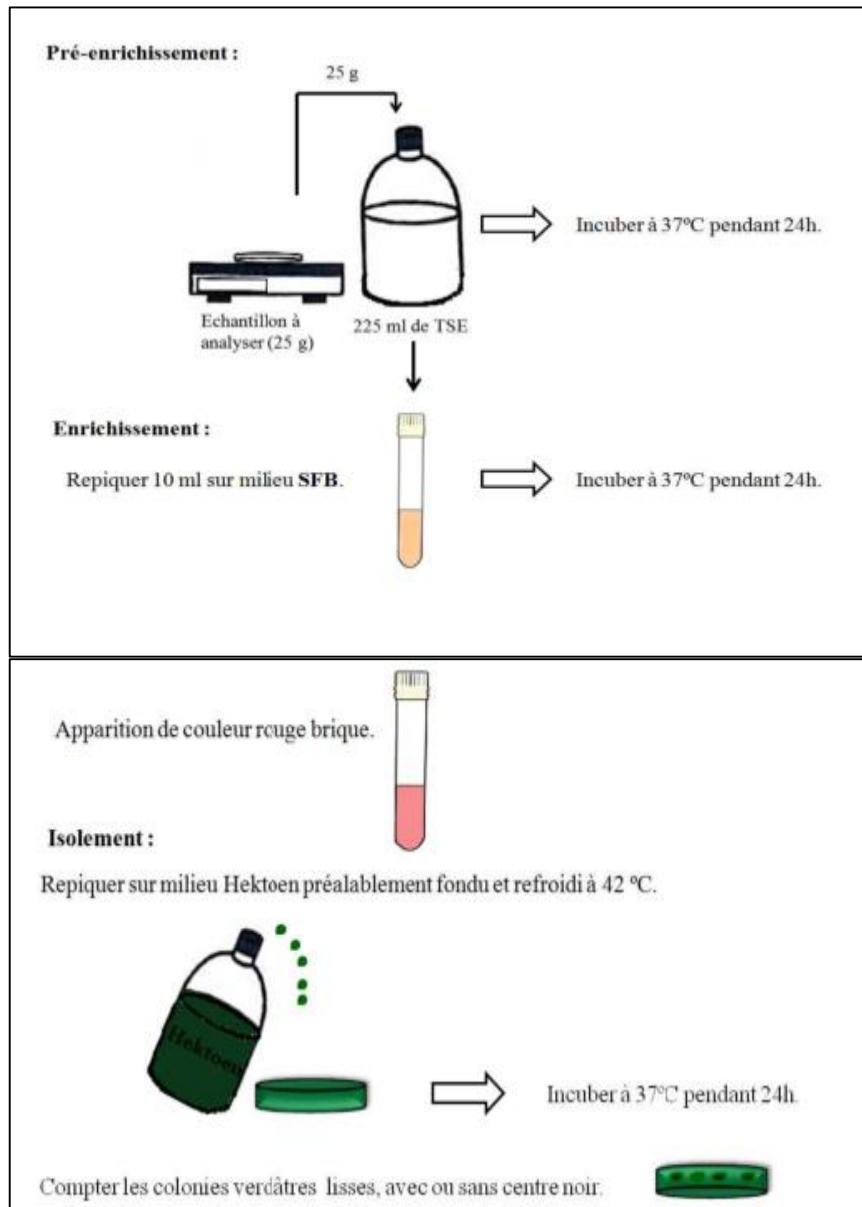


Figure 23 : Technique de recherche des Salmonelles.

Partie pratique

✓ Recherche de *Listeria monocytogenes* : [107]

Listeria monocytogenes est un petit bacille à Gram positif, mobile à 20°C, aéro-anaérobie facultatif qui se développe facilement sur les milieux usuels.

• Enrichissement primaire :

-Introduire aseptiquement 25 g de l'échantillon à analyser dans un flacon stérile contenant 225 ml du milieu Fraser-demi, afin de revivifier les cellules stressées.

-Homogénéiser et incuber à 30°C pendant 24 heures.

• Enrichissement secondaire :

-Repiquer 0,1 ml du milieu d'enrichissement primaire dans chaque tube contenant 10 ml du bouillon Fraser, et bien homogénéisé.

-Incuber les tubes à 37°C pendant 24 heures.

Lecture : les tubes présentant un noircissement sont considérés comme positifs.

• Isolement :

-Repiquer dans des boîtes de pétri stériles et numérotées, les tubes considérés comme positifs sur milieu Palcam préalablement fondu au bain marie et refroidi à 42°C.

-Faire des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour bien homogénéiser le milieu et l'inoculum.

-Laisser solidifier sur paillasse.

-Incuber les boîtes, couvercles en bas, à 37°C pendant 24 heures.

• Lecture et interprétation :

Dénombrer les colonies gris-vertes (Figure 24).

Repérer les colonies suspectes et les soumettre aux tests biochimiques d'identification.

Partie pratique

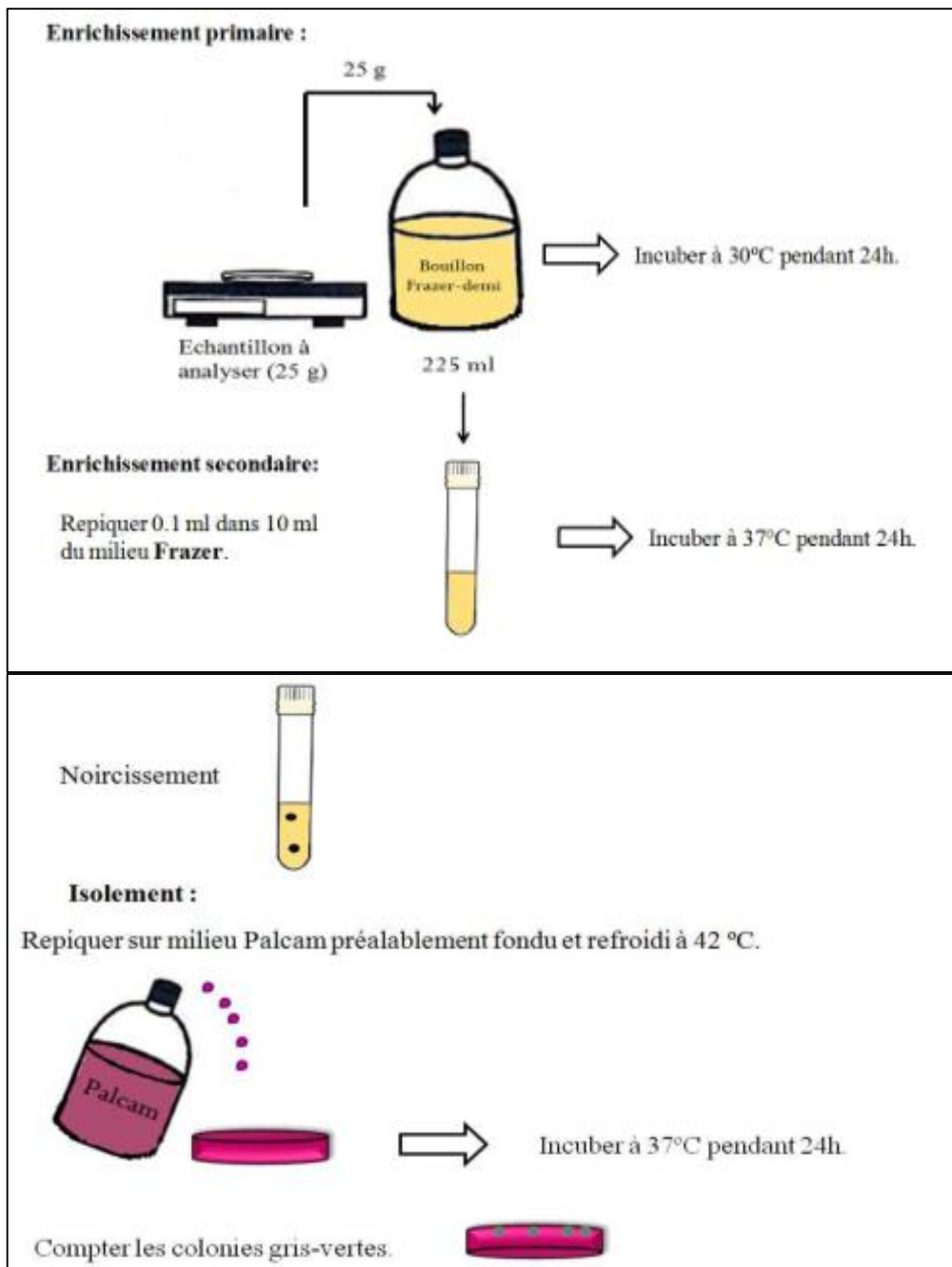


Figure 24 : Recherche de *Listeria monocytogenes* sur milieu Palcam

Partie pratique

En général, la recherche de *Listeria monocytogenes*, nécessite au moins quatre étapes successives, tel qu'illustré par la représentation schématique du mode opératoire suivant :

Enrichissement primaire : 25 ml dans 225 ml de milieu Fraser au 1/2

Incubation à 30° C pendant 18 à 24 h



Ensemencement secondaire : 0,1 ml sur Fraser en tubes de 10 ml

Isolement en stries sur gélose Oxford ou Palcam

Incubation à 37° C pendant 24 à 48 h



Sélection de trois à cinq colonies caractéristiques

Isolement en stries sur une autre plaque de gélose Oxford ou Palcam

Incubation à 37° C pendant 24 à 48 h



Purification sur gélose TSYEA



Incubation à 37° C pendant 24 h ou plus, si nécessaire



Examens complémentaires

Figure 25 : Représentation schématique du mode opératoire pour la recherche de *Listeria*.

Résultats

Ce chapitre, résume tous les résultats d'analyses microbiologiques du lait fermenté, et de la recherche de sa qualité hygiénique.

Les résultats et leur discussion de chaque laboratoire sont faits séparément.

Calculer le nombre N de micro-organismes par millilitre ou par gramme de produit, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{V \times 1,1 \times d}$$

Où :

ΣC : la somme des colonies caractéristiques comptées sur les deux boîtes retenues

v : le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

d : le taux de dilution correspondant à la première dilution comptée. Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs.

Noter comme résultat, le nombre de germe par millilitre ou par gramme de produit, exprimé par un nombre compris entre 1 et 9,9 multiplié par 10^x , où x est la puissance appropriée de 10.

Le lait fermenté destiné à la consommation humaine doit répondre aux normes de la législation en vigueur (tableau 5).

Tableau 5 : Critères microbiologiques relatifs au lait fermenté. [108]

<i>Micro-organisme</i>	<i>Laits fermentés (Lben)</i>		Limite microbiologique (ufc/ml)	
	Plan d'échantillonnage		m	M
<i>Coliformes totaux</i>	5	2	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5$
<i>Coliformes thermo tolérants</i>	5	2	30	$3 \cdot 10^2$
<i>Staphylocoques à coagulase +</i>	5	2	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^3$
<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	

Résultats

m : nombre de germes présents dans un millilitre du lait fermenté; c'est le seuil en dessous duquel le lait fermenté (lben) est considéré comme étant de qualité satisfaisante.

Dans le cas des salmonelles, « m » est le nombre des germes présents dans 25ml du lait fermenté (lben).

M : nombre de germes présents dans un gramme ou un millilitre de produit analysé, qui correspond à la valeur au-dessus de laquelle la qualité du produit est considérée comme inacceptable ;

n : nombre d'unité constituant l'échantillon ;

c : nombre maximal d'unités d'échantillonnage de produit analysé qui peut dépasser m tout en étant inférieur à M sans que le lot ne soit rejeté.

Exemple de calcul du nombre N de coliformes totaux :

Nombre de colonies : de la deuxième dilution est égale à 93 (caractéristique 33 et non caractéristique 60).

De la troisième dilution est égale à 13 (caractéristique 03 et non caractéristique 10).

$$N = \frac{\Sigma C}{V \times 1,1 \times d} = \frac{93 + 13}{1 \times 1,1 \times 10^{-2}} = 96,36 \times 10^2$$

N= 9,6.10³ ufc/ml

Résultats

I. Laboratoire de contrôle qualité et de la répression des fraudes :

➤ Coliformes totaux et thermo-tolérants :

Un résultat positif est traduit par la présence des colonies rouge-violacées ayant un diamètre minimal de 0,5 mm sur milieu VRBL (figure 27) ; les coliformes totaux sont confirmés sur milieu VBL par un dégagement de gaz (supérieur à 1/10 de la hauteur de la cloche), ainsi qu'à l'apparition d'un trouble microbien accompagné ou non de virage du milieu au jaune (figure 28).

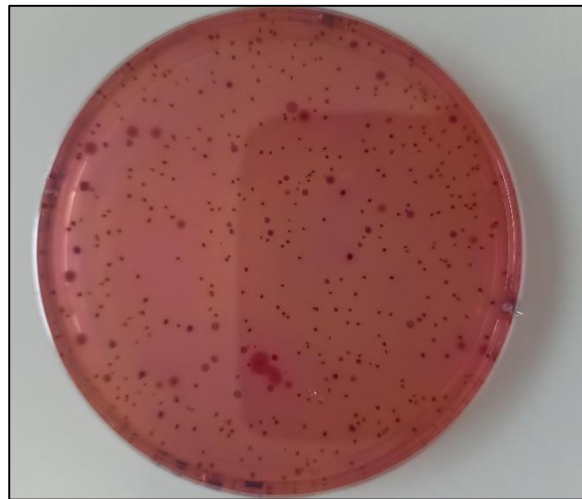


Figure 26 : Aspect des colonies des coliformes totaux sur milieu VRBL.

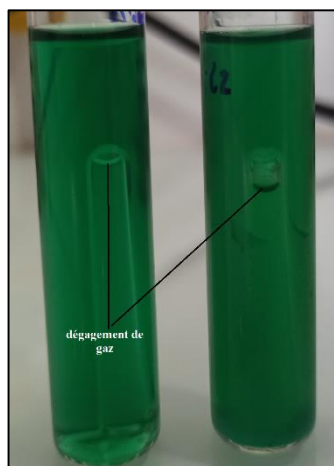


Figure 27 : confirmation des coliformes totaux sur milieu VBL (test de présomption).

Résultats

Les résultats sont représentés dans les tableaux 6 et 7.

		Coliformes totaux (ufc/ml)						
Les unités		1	2	3	4	5	m	M
Les échantillons		1	2	3	4	5	m	M
Echantillon 1		9,1.10 ³	11.10 ³	9,3.10 ³	15.10 ³	14,5.10 ³	3.10 ⁴	3.10 ⁵
Echantillon 2		9,6.10 ³	11.10 ³	13.10 ³	7,2.10 ³	7,7.10 ³		
Echantillon 3		5,2.10 ³	7,3.10 ³	8,2.10 ³	8,1.10 ³	5,9.10 ³		

Tableau 6 : Résultats de dénombrement des coliformes totaux.

Nos résultats représentent des valeurs inférieures à la limite critique.

		Coliformes thermo-tolérant (ufc/ml)						
Les unités		1	2	3	4	5	m	M
Les échantillons		1	2	3	4	5	m	M
Echantillon 1		2,5.10	3,6.10	2,8.10	3,9.10	2,7.10	30	3.10 ²
Echantillon 2		2,7.10	2,5.10	3,1.10	4,5.10	4,3.10		
Echantillon 3		2,9.10	3.10	3.10	2,5.10	2,2.10		

Tableau 7 : Résultats de dénombrement des coliformes thermo-tolérants.

A partir de ce tableau nous constatons :

Les échantillons 1 et 3 ne dépassent pas la limite critique.

Les unités 3,4 et 5 de l'échantillon 2 dépassent le nombre c (Annexe III) avec les valeurs de 3,1.10 UFC/ml, 4,5.10 UFC/ml 4,3.10 UFC/ml respectivement.

Résultats

➤ Staphylocoques à coagulase positive :

Après l'ensemencement sur milieu Baird Parker ; un résultat positif est traduit par la présence des colonies noires, brillantes et convexes avec 1 à 1,5 mm de diamètre après 24h d'incubation (figure 29).



Figure 28 : Culture de staphylocoque à coagulase positive sur milieu BP.

Les résultats du dénombrement des staphylocoques à coagulase positive de l'échantillon de l'ben traditionnel sont représentés dans le tableau 8.

		Staphylocoque a coagulase positive (ufc/ml)						
Les unités		1	2	3	4	5	M	M
Les échantillons		1	2	3	4	5	M	M
Echantillon 1		6,1.10	8,3.10	7,5.10	6,5.10	5,5.10	3.10 ²	3.10 ³
Echantillon 2		8,3.10	8,1.10	7.10	6,1.10	8,5.10		
Echantillon 3		8,9.10	7,7.10	7,2.10	6,7.10	5,4.10		

Tableau 8 : Résultats de dénombrement des staphylocoques à coagulase positive.

Nos résultats représentent des valeurs inférieures à la limite critique.

Résultats

➤ *Salmonella* sp :

Un résultat positif est traduit par la présence des colonies avec un centre noir et entourées d'un halo clair transparent rouge sur milieu XLD, et des colonies noires entourées d'un reflet métallique sur milieu sulfite de bismuth.

		Salmonella.sp		
Les milieux		XLD	Sulfite de bismuth	Limite microbiologique
Les échantillons				
Echantillon 1		Abs	Abs	Absence dans 25 g
Echantillon 2		Abs	Abs	
Echantillon 3		Abs	Abs	

Tableau 9 : Résultats de la recherche de salmonella.sp.

Dans la présente étude, l'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination.

Résultats

II. Laboratoire d'hygiène Blida :

➤ Coliformes totaux et thermo-tolérants :

Un résultat positif est traduit par la présence des colonies rouge-violacées ayant un diamètre minimal de 0,5 mm sur milieu VRBL (figure 29) ; les E. coli sont identifiés sur milieu urée-indole par l'apparition d'un anneau rouge (indole+) et virage de la couleur initiale (urée+) (figure 30).



Figure 29 : Colonie de coliforme sur milieu VRBL.

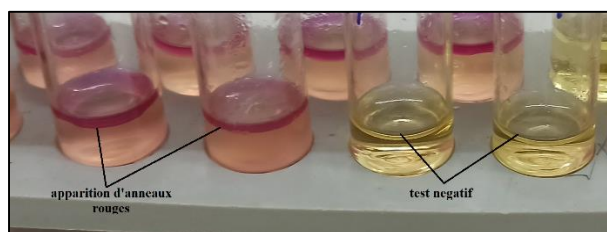


Figure 30 : Test de l'urée indole.

Les résultats présentés dans les tableaux 10 et 11 sont obtenus à partir du mélange des 5 unités de chaque échantillon de lait fermenté.

Lecture / Les échantillons	Coliformes totaux (ufc/ml)		
	1 ^{ère} lecture (après 24h)	2 ^{ème} lecture (après 48h)	m
Echantillon 4	1.10^5	$1,1.10^5$	3.10^4
Echantillon 5	$1,5.10^5$	$1,8.10^5$	
Echantillon 6	$7,2.10^3$	9.10^3	

Tableau 10 : Résultats de dénombrement des coliformes totaux.

Résultats

Les échantillons 4 et 5 dépassent la limite critique, alors que l'échantillon 6 ne dépasse pas cette limite.

Coliformes thermo-tolérants (ufc/ml)					
Les échantillons	Lecture	Lecture après 24h	Test de l'urée	Test de l'indole	Limite microbiologique
Echantillon 4		Abs			30
Echantillon 5		$2,5 \cdot 10^2$	Positif	Positif	
Echantillon 6		$1,8 \cdot 10^2$	Positif	Positif	

Tableau 11 : Résultats de dénombrement des coliformes thermo-tolérants.

Selon le tableau 11 :

-absence de colonies pour l'échantillon 4.

-les échantillons 5 et 6 dépassent la limite critique avec les valeurs $2,5 \cdot 10^2$ ufc/ml et $1,8 \cdot 10^2$ ufc/ml respectivement ; et sont positif au test urée indole (figure 32).

➤ Staphylocoque a coagulase positive :

Un résultat positif est traduit par un noircissement sur milieu Giolitti Cantoni (figure 31) et des colonies jaunes dorées.



Figure 31 : recherche de staphylocoque à coagulase positive sur milieu GC.

Résultats

Les résultats sont représentés dans le tableau 12.

		Staphylocoque a coagulase positive (ufc/ml)		
Lecture Les échantillons	1 ^{ère} lecture (après 24h)	2 ^{ème} lecture (après 48h)	Chapman	Limite microbiologique
Echantillon 4	Abs	Abs		3.10 ²
Echantillon 5	Abs	Abs		
Echantillon 6	Abs	Noircissement	Négatif	

Tableau 12 : Résultats de dénombrement des staphylocoques à coagulase positive.

-résultat négatif pour les échantillons 4 et 5 sur milieu GC après 48h.

-resultat positif pour l'échantillon 6 sur milieu GC et absence de colonies sur milieu chapman (figure 32).

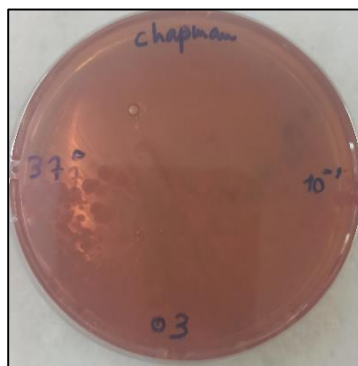


Figure 32 : Absence de colonies de staphylocoque à coagulase positive sur milieu chapman.

Résultats

➤ *Salmonella.sp* :

Un résultat positif est traduit par la présence de couleur rouge brique sur milieu SFB (figure 33).

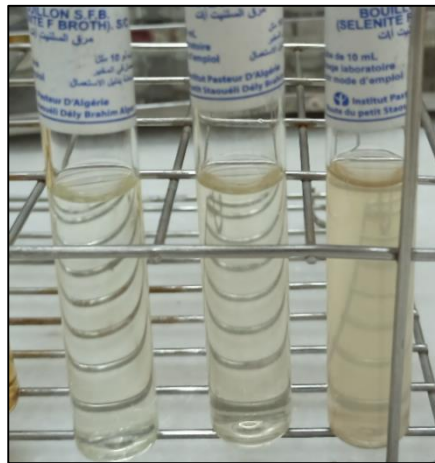


Figure 33 : Absence de salmonelle sur milieu SFB.

Les résultats sont exprimés dans le tableau ci-dessous :

Lecture Les échantillons	<i>Salmonella.sp</i> (ufc/ml)	
	Lecture après 24h (SFB)	Limite microbiologique
Echantillon 4	Négative	Absence dans 25 g
Echantillon 5	Négative	
Echantillon 6	Négative	

Tableau 13: Résultats de la recherche de salmonella.sp.

L'absence totale de salmonella dans tous les échantillons analysés.

Discussion

Des échantillons de lait fermenté (au nombre de 6) ont été prélevés de trois points de vente dans les régions de Blida.

Dans les points de vente, le lait fermenté est conservé dans des cuves de stockage. La qualité bactériologique du lait a été appréciée selon les critères algériens relatifs aux spécifications microbiologiques de lait fermenté.

Les résultats obtenus au cours de ce travail indiquent que 4/6 échantillons de lait fermenté prélevés sont de qualité microbiologique non satisfaisante, seulement 2/6 échantillons répondent aux critères applicables en Algérie.

Selon la réglementation en vigueur le nombre (n) d'unité constituant un échantillon examiné pour les laits doit être de 5 unités. (JORADP, 2017).

L'interprétation des résultats obtenue des cinq unités prene en considération le nombre des unités d'échantillons (c) tolérés au-delà de la valeur seuil, nombre qui permet de juger le lot comme étant de qualité satisfaisante, acceptable ou non satisfaisante.

Du fait que notre travail n'entre pas dans le cadre du contrôle officiel réalisé par les instances compétentes, il nous a été difficile de prélever un échantillon constitué de 5 unités à la fois conformément à la réglementation en vigueur. C'est pourquoi, nous avons procédé à l'achat d'une seule unité de commerce (sachet de 1L) qui représente un seul échantillon.

Selon les résultats de notre étude, un échantillon est déclaré conforme vis à vis la législation en vigueur, s'il représente une valeur inférieure au seuil critique « m » fixé par l'Arrêté interministériel du 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (JORADP., 2017).

I. Laboratoire de contrôle qualité et de la répression des fraudes :

Les résultats obtenus par les méthodes décrites dans le journal officiel n°72, n°14, n° 68 et n° 44 pour la recherche et dénombrement des coliformes totaux, thermo-tolérant, staphylocoque à coagulase positif et recherche de salmonelle respectivement montrent que :

Discussion

- Echantillon 1 et 3 : les valeurs des coliformes et de staphylocoque a coagulase positif sont inférieurs aux limites mentionnées dans le décret 4 octobre 2016 N°39/ 2juillet 2017, Echantillons de qualité microbiologique satisfaisante.
- Echantillon 2 : les valeurs des coliformes thermo-tolérants ne répondent pas aux limites mentionnées dans le décret 4 octobre 2016 N°39/ 2juillet 2017, Echantillon de qualité microbiologique suspecte.

II. Laboratoire d'hygiène Blida :

Les résultats obtenus par les méthodes décrites dans le journal officiel n°72, n°14 pour le dénombrement et la recherche des coliformes montrent que tous les échantillons analysés sont de qualité microbiologique non satisfaisante.

En effet, les coliformes sont des indicateurs de contamination d'origine fécale, même à des niveaux faibles. Leur présence indique une faute hygiénique relevant soit d'une mauvaise qualité du lait utilisé, soit de la malpropreté du matériel de fabrication. [18]

La présence de *S.aureus* dans le lait est due à plusieurs facteurs; comme l'insuffisance ou l'absence de l'hygiène du personnel, défaut ou insuffisance dans la stérilisation du matériel et des locaux et à la défaillance des conditions de stockage et de conservation. [74]

Les résultats n'ayant tout de même pas dépassé le seuil règlementaire : les échantillons 1 et 3 analysés au niveau du laboratoire de contrôle qualité et de la répression des fraudes sont donc dits satisfaisants ou de qualité satisfaisante et l'échantillon 2 est dit suspect alors que les trois échantillons analysés au niveau de laboratoire d'hygiène sont dits non satisfaisants.

NB : Nous n'avons pas pu rechercher la présence de *Listeria monocytogenes* dans les produits laitiers par manque de réactifs malgré l'importance capitale de la recherche de et de l'identification de ce germe responsable de maladies graves surtout chez la population fragiles (femme enceinte, enfants et immunodéprimés).

A la lumière de ces résultats nous avons pu rédiger une fiche de résultats type relative à chaque échantillon, selon les modalités de chaque laboratoire et pouvant indiquer le résultat de cette analyse microbiologique et exprimant ainsi la qualité hygiénique de chaque échantillon (annexe IV).

Conclusion

Le lait est une denrée qui procure tous les apports nécessaires pour l'organisme. C'est un aliment complet qui contient à la fois matière grasse, protéines, les apports énergétiques en vitamines et minéraux. Cependant tous ces nutriments font du lait un milieu de culture favorable à plusieurs germes pathogènes qui le rendent très dangereux s'il n'est pas bien conservé. Des infections fatales peuvent survenir et compromettent ainsi la santé du consommateur, si ces germes pathogènes se multiplient et produisent leurs toxines dans le lait.

Ce modeste travail a pour objectif la mise en évidence des germes pathogènes et l'étude de la qualité hygiénique du le lait fermenté (Iben) commercialisé dans la wilaya de Blida.

Les résultats obtenus montrent que seulement 2/6 échantillons de lait fermenté sont conformes aux exigences fixées par la réglementation algérienne cependant ces résultats ne pourront pas être le support de généralisation sur la population étudiée.

Enfin, le lait fermenté artisanal est un produit de large consommation et son altérabilité peut avoir des conséquences néfaste pour le consommateur, Afin d'éviter toute toxifinfection, certaines recommandations ont été jugées utiles pour améliorer la qualité microbiologique et hygiénique :

- Sensibilisation profonde des éleveurs et des vendeurs de produits laitiers artisanaux à l'importance des conditions d'hygiène.
- Evaluation continue et suivi de la qualité du lait fermenté, en vue d'apporter continuellement les réajustements éventuels.
- L'utilisation de savon pour nettoyer les récipients de collecte, de mélange et de transport.
- Un nettoyage systématique des cuves réfrigérateur du lait fermenté artisanal utilisées pour stocker et conserver celui-ci.
- Le rôle des bureaux et laboratoires d'hygiène de veiller au respect du règlement sanitaire départemental.

Liste des références

- [1] WALTHER, Barbara, SCHMID, Alexandra, SIEBER, Robert, et al. Cheese in nutrition and health. Dairy Science and Technology, 2008, vol. 88, no 4-5, p. 389-405.
- [2] VIALLES CASTEL, Léa. Pratiques potentielles à risque de contamination pendant la production et la transformation traditionnelles du lait dans le centre de l'Ethiopie. 2004. Thèse de doctorat. UM2.
- [3] FREDOT, E. Connaissance des aliments, éd. Lavoisier, Paris, 2006, vol. 397.
- [4] JEANTET, R., CROGUENNEC, T., MAHAUT, M., et al. Et Brule G., (2008). Les produits laitiers, 2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier, p. 1-3.
- [5] Loi française du 2 juillet 1935 sur l'organisation et l'assainissement des marchés de la viande et du lait.
- [6] Réglementation européenne, règlement C.E.E. n°1898/87 du Conseil du 2 juillet 1987.
- [7] BERGUES, Hélène. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Population, 1950, vol. 5, n° 4.
- [8] Jean Baptiste. Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. Recueil de Médecine Vétérinaire, 1994, vol. 170, no 6-7, p. 367-374.
- [9] POUGHEON, Sandra. Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et leurs conséquences en technologies laitières. 2001. Thèse de doctorat.
- [10] GOURSAUD, J. et BOUDIER, I. F. Composition et propriétés physicochimiques, lait et produits laitiers. Lavoisier, Paris, 1985, vol. 1.
- [11] BOUVIER, Catherine. Le lait, la nature et les hommes: le premier des aliments; technologies et traditions; l'enjeu agricole et commercial. Presses Pocket, 1993.
- [12] BOUTONNIER, Jean-Luc. Matière grasse laitière: Composition, organisation et propriétés. Techniques de l'ingénieur. Agroalimentaire, 2006, vol. 4, no F6320.
- [13] GOURSAUD, J. Composition et propriétés physico-chimiques. LUQUET, FM Lait et produits laitiers. Paris, Tec. Doc. Lavoisier, 1985, vol. 1, p. 1-93.

Liste des références

- [14] AMIOT, J., FOURNIER, S., LEBEUF, Y., et al. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. Science et technologie du lait, 2002, p. 1-74.
- [15] PERREAU, Jean-Marie. Conduire son troupeau de vaches laitières. Éd. France Agricole, 2014.
- [16] VEISSEYRE, Roger. Technologie du lait: constitution, recolte, traitement et transformation du lait 3. 1975.
- [17] MAHAUT, Michel, JEANTET, Romain, et BRULÉ, Gérard. Initiation à la technologie fromagère. Editions Tec & Doc, 2000.
- [18] LAPOINTE-VIGNOLA, Carole. Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses inter Polytechnique, 2002.
- [19] JENNESS, R. Composition et caractéristiques du lait de chèvre : revue 1968–1979. Journal of Dairy Science, 1980, vol. 63, n° 10, p. 1605-1630.
- [20] POUGHEON, S. et GOURSAUD, J. Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G. Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris, 2001, vol. 6, p. 566.
- [21] FREDOT, Émilie. Connaissance des aliments: bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Paris : Éditions Tec & doc, 2012.
- [22] REUMONT, P. Licencié Kinésithérapie. 2009.
- [23] GOSTA, B. Lait longue conservation in manuel de transformation du lait. Edition: Sweden. Paris. P, 1995, vol. 215.
- [24] VIERLING, E. Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition DOIN éditeurs. Centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine, 2003.
- [25] THIEULIN, Gustave et VUILLAUME, Robert. Éléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait, de produits laitiers et des oeufs. 1967.
- [26] RHEOTEST, M. Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK–Produits alimentaires et aromatisants http://www.rheoest.de/download/nahrungs_fr.pdf. REUMONT P., (2009): Licencié. 2010.

Liste des références

- [27] MAKHOUKH, Saliha et NABI, Lila. Effet de la qualité physicochimique et microbiologique du lait de vache et de chèvre sur le fromage à pâte molle type camembert. 2017. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri.
- [28] MATHIEU, Jacques. Initiation à la physicochimie du lait. Lavoisier Tec & Doc, 1998.
- [29] VIERLING, E. Aliments et boissons. Filières et produits-3e édition. 2008.
- [30] NEVILLE, M. C. The physical properties of human and bovine milks In JENSEN R. Handbook of milk composition-General description of milks, Academic Press, Inc, 1995, vol. 82, p. 919.
- [31] MAHAUT, Michel, JEANTET, Romain, SCHUCK, Pierre, et al. Les produits industriels laitiers. Editions Tec & Doc, 2000.
- [32] MATHIEU, J. Initiation à la physicochimie du lait (guides technologiques des IAA). techniques et documentation, paris. P, 1998, vol. 220, p. 181-192.
- [33] DIENG, MOHAMADOU. Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Méd. Vét., Dakar, 2001, no 10, p. 91.
- [34] GAUCHER, Isabelle. Caractéristiques de la micelle des caséines et stabilité des laits: de la collecte des laits crus au stockage des laits UHT. 2007. Thèse de doctorat. Agrocampus Rennes (2004-2008).
- [35] BENKERROUM, Noredine et TAMIME, AY Transfert de technologie de certains produits laitiers traditionnels marocains (lben, jben et smen) à petite échelle industrielle. Microbiologie alimentaire, 2004, vol. 21, n° 4, p. 399-413.
- [36] TANTAOUI-ELARAKI, A., BERRADA, M., EL MARRAKCHI, A., et al. Etude sur le Lben marocain. Le lait, 1983, vol. 63, no 627-628, p. 230-245.
- [37] BOURAHAL, Sarra Fatima et BOUSBA, Meaicha. Etude de l'évolution des paramètres physicochimiques, durant la production et la conservation d'un yaourt à boire aromatisé produit par HODNA-LAIT, M'sila. 2019. Thèse de doctorat. Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila.
- [38] BENDIMERAD, Nahida, KIHAL, Mebrouk, et BERTHIER, Françoise. Isolation, identification, and technological characterization of wild leuconostocs and lactococci for

Liste des références

traditional Raib type milk fermentation. Dairy science & technology, 2012, vol. 92, no 3, p. 249-264.

[39] KORNACKI, Jeffrey L., FLOWERS, Russell S., et BRADLEY JR, Robert L. Microbiologie du beurre et des produits apparentés : Jeffrey Kornacki* Russell Flowers Robert Bradley. Dans : Microbiologie laitière appliquée. CRC Press, 2001. p. 147-170.

[40] AGABRIEL, Claire, BRUNSCHWIG, G., SIBRA, C., et al. Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. 1995.

[41] ROBINSON, Richard K. (éd.). Manuel de microbiologie laitière : la microbiologie du lait et des produits laitiers. John Wiley & Fils, 2005.

[42] RAMET, J. P. La fromagerie et les variétés de fromages du bassin Méditerranéen. Etude FAO production et santé animales 48, Rome, Italie. 1985.

[43] ADDA, J., GRIPON, JC, et VASSAL, L. La chimie de la génération d'arôme et de texture dans le fromage. Chimie alimentaire, 1982, vol. 9, n° 1-2, p. 115-129.

[44] HAMPLA, Hacem, BELGROUNE, Khadidja, et MEDJOUDJ, Hacène. Fabrication et suivi des paramètres physico-chimiques et microbiologiques de Jben et Klila fabriqués à partir du lait de vache et de chèvre. 2019.

[45] ALAIS, Charles. Science du lait: principes des techniques laitières. 1984.

[46] MONSALLIER, G. Control of mesophilic germs quantity in cow raw milk in farm. Recueil de Medecine Veterinaire (France), 1994.

[47] FAO. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Food & Agriculture Org., 1995.

[48] GUIRAUD, J. P. Microbiologie alimentaire: milieux et techniques générales de culture. Dunod, Paris, 2003, p. 178-180.

[49] ADOUM DOUTOUM, Abdessalam. Contribution à l'étude de la qualité du lait des ceintures laitières péri-urbaines de la zone cotonnière du Sénégal. 1995.

[50] CAGHANIER, B. Moisissures des aliments peu hydratés collection Sciences et techniques agroalimentaires. Lavoisier Tec et Doc. pp, 1998, vol. 39.

Liste des références

- [51] ORGANISATION, DES NATIONS UNIES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE, 2007. Payer les agriculteurs pour les services environnementaux, La situation mondiale de l'alimentation et l'agriculture, Collection FAO: Agriculture, no 38.
- [52] BRISABOIS, A., LAFARGE, V., BROUILLAUD, A., et al. Organismes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : la situation en France et en Europe. *Revue Scientifique et Technique* (Office international des épizooties), 1997, vol. 16, n° 2, p. 452-471.
- [53] GERMANI, Y. Apport de l'épidémiologie et des connaissances physiopathologiques sur les *Escherichia coli* agents d'entérites, pour leur diagnostic microbiologique et moléculaires lors de la coproculture. In : *Annales de l'Institut Pasteur. Actualités*. 1994. p. 175-195.
- [54] www.Bacteriainphoto.com
- [55] GRIMONT, F. et GRIMONT, P. A. D. Ribosomal ribonucleic acid gene restriction patterns as potential taxonomic tools. In : *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie*. Elsevier Masson, 1986. p. 165-175.
- [56] MARTEL, J. L. Les salmonelloses bovines et la filière agro-alimentaire. *Bull. Soc. Vét. Prat. de France*, 1994, vol. 78, p. 307-319.
- [57] DE BUYSER, M. L. Les staphylocoques. *Microbiologie alimentaire*, 1996, vol. 1, p. 106-119.
- [58] DE BUYSER, M.-L. et LAPEYRE, C. Mammites à staphylocoques et sécurité alimentaire. *Le Point vétérinaire: revue d'enseignement post-universitaire et de formation permanente*, 1994, vol. 26, p. 79-82.
- [59] Alamyimages.fr
- [60] SEELIGER, H. P. R. et JONES, D. Genus *Listeria* Pirie. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 1986, vol. 1235.
- [61] DOYLE, Michael (éd.). *Pathogènes bactériens d'origine alimentaire*. CRC Press, 1989.
- [62] SANAA, M. Listériose et contamination du lait et des produits dérivés du lait. *Le Point vétérinaire: revue d'enseignement post-universitaire et de formation permanente*, 1994, vol. 26, p. 69-78.

Liste des références

[63] microbes-edu.org

[64] researchgate.net

[65] LE JAOUEN, J. La conservation du caillé. ECK. A. Le Fromage. Technique et documentation. Paris: Lavoisier, 1987, p. 41-53.

[66] DROMIGNY, Éric. Les bactéries du genre campylobacter à l'abattoir : étude chez la dinde et les animaux de boucherie et de charcuterie. 1986. Thèse de doctorat. Lyon 1.

[67] HAMAMA, Abed. L'importance des microorganismes pathogènes dans le lait cru : par la Fédération Internationale de Laiterie, 1994. Belg. Pr. 2500.00 (215 pages) ISBN 92 9098 016 8. 1995.

[68] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Behaviour of pathogens in cheese. 1980.

[69] LENOIR, J., HERMIER, J., et WEBER, F. Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Tec et Doc. Edition Lavoisier. CEPIL. France, 1992, vol. 73, p. 251-259.

[70] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Behaviour of pathogens in cheese. 1980.

[71] WEBER, F. Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Food & Agriculture Org., 1985.

[72] FAO. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Food & Agriculture Org., 1995.

[73] GOUALI, Malika et WEILL, François-Xavier. Les Escherichia coli entérohémorragiques: des entérobactéries d'actualité. La presse Médicale, 2013, vol. 42, no 1, p. 68-75.

[74] DE BUYSER, Marie-Laure et SUTRA, L. Staphylococcus aureus. BIBLIOGRAPHY Bactériologie alimentaire. Compendium d'hygiène des aliments, 292pp. Economica, Paris, 2005.

[75] Toxi-infection alimentaire en Algérie : le staphylocoque est suspecté 19 avril 2022 Vidal.fr.

[76] MAROUA, BELLAL et RANIA, BRAHIMI. Les infections à salmonelles et traitement par les probiotiques. 2021. Thèse de doctorat.

Liste des références

- [77] COBURN, Bryan, GRASSL, Guntram A., et FINLAY, BB Salmonella, the host and disease: a brief review. *Immunologie et biologie cellulaire*, 2007, vol. 85, n° 2, p. 112-118.
- [78] WEILL, François-Xavier. Salmonella: épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques. *Revue francophone des laboratoires*, 2009, vol. 2009, no 409, p. 25-35.
- [79] ELGROUD, R. Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques en élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine: Caractérisations phénotypiques et génotypiques par ERIC-PCR, IS-PCR et PFGE. Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaires, Option Biologie Animale. Université Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Vétérinaires, 149p, 2009.
- [80] DROMIGNY, Eric. Les critères microbiologiques des denrées alimentaires: réglementation, agents microbiens, autocontrôle. Lavoisier, 2011.
- [81] DE VALK, H., JACQUET, C., GOULET, V., et al. Surveillance de la listériose en Europe. *Eurosurveillance*, 2005, vol. 10, no 10, p. 9-10.
- [82] BRÉMAUD, C., CLAISSE, J. R., LEULIER, F., et al. Alimentation, santé, qualité de l'environnement et du cadre de vie en milieu rural. Educagri Editions., Dijon, France, 2006.
- [83] CHARLIER-WOERTHER, Caroline et LECUIT, Marc. Listériose et grossesse. *La Presse Médicale*, 2014, vol. 43, no 6, p. 676-682.
- [84] JAHAN, Saulat. Épidémiologie des maladies d'origine alimentaire. Aspects scientifiques, sanitaires et sociaux de l'industrie alimentaire, 2012, vol. 1, p. 321-342.
- [85] Hans, S. (2013). hans schmid, andreas baugartner Foyer de toxi-infection alimentaire en suisse. Office National de la Santé Publique (ONSP). Statistiques actuelles, tendances futures, direction pour l'analyse des flambées et rappel historique.9 p.
- [86] PONCHON, J.-Ch. Flore fongique et industrie laitière. *Publications de la Société Linnéenne de Lyon*, 1952, vol. 21, no 2, p. 46-48.
- [87] GUERZOU, Friha. Contribution à une étude épidémiologique descriptive des cas de Toxi-infections Alimentaires Collectives (TIAC) enregistrés au niveau de la Wilaya de Djelfa (2013–2018). 2019. Thèse de doctorat.

Liste des références

- [88] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 42 8 Joumada el oula 1426 15 juin 2005.
- [89] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 65 25 safar 1441 24 octobre 2019.
- [90] HAICHOIR, Nora. Etude des effets biologiques de la résine de pin. 2021. Thèse de doctorat.
- [91] Cours de Microbiologie alimentaire, Dr. I. SEMMAR : Maitre assistante en hydrologie-bromatologie 2020-2021.
- [92] HADE, André. Nos lacs: les connaître pour mieux les protéger. Les Editions Fides, 2003.
- [93] ARCHIBALD, Frédéric. La présence de bactéries coliformes dans les systèmes d'approvisionnement en eau des usines de pâtes et papiers du Canada : une source de préoccupation. Journal de recherche sur la qualité de l'eau, 2000, vol. 35, n° 1, p. 1-22.
- [94] CAMILLE, DELARRAS. Pratique en microbiologie de laboratoire? Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Lavoisier, 2014.
- [95] SENOUSSE, Asma. Caractérisation microbiologique de la peau de chèvre utilisée dans la fabrication du fromage traditionnel Algérien «Bouhezza». 2013.
- [96] OUNINE, K., RHOUTAÏSSE, A., et EL HALOU, N. E. Caractérisation bactériologique du lait cru produit dans les étables de la région du Gharb. Al awamia, 2004, vol. 109, no 110, p. 187-204.
- [97] JAWETZ, Ernest, MELNICK, Joseph L., et ADELBERG, Edward A. Microbiologie médicale. Presses Université Laval, 1973.
- [98] VAN KESSEL, JS, KARNS, JS, GORSKI, Lisa, et al. Prévalence de Salmonellae, de Listeria monocytogenes et de coliformes fécaux dans le lait de réservoir en vrac des laiteries américaines. Journal of Dairy Science, 2004, vol. 87, n° 9, p. 2822-2830.
- [99] BEERENS, Henri et LUQUET, François M. Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers. 1987.
- [100] FLANDROIS, Jean-Pierre (ed.). Bactériologie médicale. Presses universitaires de Lyon, 1997.

Liste des références

- [101] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 74 6 Rabie Ethani 1439 25 décembre 2017.
- [102] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 72 24 Rabie El Aouel 1439 13 décembre 2017.
- [103] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 14 4 Joumada Ethania 1436 25 mars 2015.
- [104] Norme NF V 08 – 017 relatives au dénombrement des coliformes fécaux et d'Escherichia coli (NF V 08 – 015 et NF V 08 -016).
- [105] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 68 30 Moharram 1436 23 novembre 2014.
- [106] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 44 29 Chaoual 1438 23 juillet 2017.
- [107] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 03 18 Dhou El Hidja 1426 18 janvier 2006.
- [108] JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39 8 Chaoual 1438 2 juillet 2017.

ANNEXES

Plan des annexes

Annexe I : Les normes de la législation algérienne.

Annexe II : La composition des milieux de culture.

Annexe III : Les plans pour l'interprétation des résultats.

Annexe IV : Les fiches de résultats.

Annexe V : Certificat d'accréditation ISO 17025.

ANNEXE I

14		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39		8 Chaoual 1438 2 juillet 2017	
1- Laites et produits laitiers (suite)					
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Crème pasteurisée	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Crèmes glacées et desserts lactés congelés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁵	10 ⁶
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²
	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²
	Enterobacteriaceae (2)	5	2	50	5.10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Beurre cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Beurre pasteurisé	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Beurre concentré	Germes aérobies à 30 °C	5	2	5.10 ²	5.10 ³
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence	
	Coliformes totaux	5	0	Absence	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Laites fermentés (Lben, Raib...)	Coliformes totaux	5	2	3.10 ⁴	3.10 ⁵
	Coliformes thermotolérants	5	2	30	3.10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	3.10 ²	3.10 ³
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Yaourts ou yoghourts et desserts lactés	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Caséines-caseinates	Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10 ⁴	3.10 ⁵
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence	
	Coliformes totaux	5	0	Absence dans 0,1 g	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	

(1) Ufc : unité formant colonie.

(2) Ce critère s'applique au stade du portionnement dans le commerce de détail, c'est-à-dire lors du fractionnement ou de la manipulation en vue de la vente directe au consommateur final.

ANNEXES

ANNEXE II

Milieux de culture :

✓ **Eau peptonée tamponnée EPT:**

Pour la préparation des suspensions mères des produits laitiers, Egalement utilisé pour le pré-enrichissement préalable aux phases d'enrichissement sélectif et d'isolement des salmonelles en permettant notamment de revivifier les microorganismes ayant subi des traitements sublétaux.

Dissoudre les composants dans l'eau en chauffant légèrement, si nécessaire, sur une plaque chauffante. Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7 \pm 0,2$ à 25 °C.

Composition	(Grammes /litre)
Digestat enzymatique de tissus animaux	10 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5 g
Hydrogénophosphate disodique dodécahydraté (Na ₂ HPO ₄ , 12H ₂ O)	9 g*
Dihydrogénophosphate de potassium	1,5 g
Eau	1 000 ml

✓ **Tryptone sel eau TSE :**

Composition	(Grammes /litre)
Tryptone	1.0
Sel	8.5
pH 7,0 ± 0,2	

ANNEXES

✓ VRBL (lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) :

Milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes dans l'eau, le lait et les autres produits alimentaires.

Composition	(Grammes/litre)
Peptone pepsique de viande	7,0
Extrait autolytique de levure	3,0
Lactose	10,0
Sels biliaires	1,5
Chlorure de sodium	5,0
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,002
Agar agar	12,0
pH 7,4 ± 0,2	

✓ VBL (Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant) :

Pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux, coliformes thermo-tolérants et d'Escherichia coli (test de Mackenzie) dans le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires, les eaux d'alimentation et les eaux résiduaires.

Composition	(Grammes/litre)
Tryptone	10,0
Peptone	10,0
Bile de bœuf bactériologique	20,0
Oxgall	20,0
Lactose	10,0
Vert brillant	0,0133
pH 7,2 ± 0,2	

ANNEXES

✓ **RVS (Rappaport Vassiliadis Soja) :**

Bouillon d'enrichissement sélectif pour l'isolement de Salmonella.

Composition	(Grammes/litre)
Peptone de soja	4,5
Chlorure de sodium	7,2
Hydrogénophosphate de potassium	0,18
Dihydrogénophosphate de potassium	1,26
Chlorure de magnésium (anhydre)	13,58
Vert malachite	0,036

✓ **Bouillon SFB (sélénite cystéine) :**

Composition	(Grammes/litre)
Peptone de caséine	5g
L(-) cystine	0,01g
Phosphate de sodium	4g
Lactose	4g
Eau distillée	1000ml
pH = 7	

ANNEXES

✓ **MKTTn (Müller-Kauffmann au Tétrathionate et Novobiocine) :**

Milieu d'enrichissement sélectif pour les salmonelles dans les produits alimentaires.

Composition	(Grammes/litre)
Tryptone	8,6
Extrait de viande	4,3
Sels biliaires	4,78
Chlorure de sodium	2,6
Carbonate de calcium	38,7
Thiosulfate de sodium anhydre	30,45
Vert brillant	0,0096

✓ **Gélose XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate) :**

Milieu sélectif pour l'isolement des Salmonella et Shigella à partir d'échantillons cliniques et de produits alimentaires.

Composition	(Grammes/litre)
Extrait de levure	3,5
Chlorhydrate de L-Lysine	5,0
Xylose	3,75
Lactose	7,5
Saccharose	7,5
Désoxycholate de sodium	1,0
Chlorure de sodium	5,0
Thiosulfate de sodium	6,8
Citrate de fer ammoniacal	0,8

ANNEXES

Rouge de phénol	0,008
Agar	12,5
pH 7,4 ± 0,2	

✓ **Gélose Baird Parker (BP) :**

Milieu sélectif pour la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les prélèvements biologiques, les produits pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires.

Composition	(Grammes/litre)
Tryptone	10,0
Extrait de viande	5,0
Extrait autolytique de levure	1,0
Sodium pyruvate	10,0
Glycine	12,0
Lithium chlorure	5,0
Agar agar	15,0
Emulsion de jaune d'œuf	47ml
Tellurite de potassium à 3,5%	3ml
pH 7,2 ± 0,2	

✓ **Gélose Chapman :**

Composition	(Grammes/litre)
Peptone	8g
Extrait de levure	2g
Lactalbumine	3g
Chlorure de sodium	30g
Mannitol	10g

ANNEXES

Rouge de phénol	0,0225g
Chlorure de lithium	7g
Glycine	1g
Pyruvate de sodium	3g
Agar	12g
Eau distillée	1000ml
pH =7,4	

✓ **Milieu de Hektoen :**

Composition	(Grammes/litre)
Peptone pepsique de viande	12g
Extrait de levure	3g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Salicine	2g
Sels biliaires	9g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5g
Bleu de bromothymol	65mg
Fuchsine acide	40mg
Agar-agar	13,5g
Eau distillée	1000ml
pH = 7,6	

ANNEXES

✓ **Bouillon G.C (Giolitti Cantonni) :**

Composition	(Grammes/litre)
Tryptone	10g
Extrait de viande	5g
Extrait de levure	5g
Glycine	1,2g
Mannitol	20g
Pyruvate de sodium	3g
Chlorure de sodium	5g
Chlorure de lithium	5g
Tween 80	1g
Eau distillée	1000ml
pH = 6,9	

✓ **sulfite de bismuth :**

Composition	(Grammes/litre)
Digestat enzymatique des tissus animaux	10,0
Extrait de viande	5,0
Dextrose	5,0
Hydrogénophosphate disodique Na ₂ HPO ₄	4,0
Sulfate de fer	0,3
Sulfite de bismuth	8,0
Vert brillant	0,025
Agar agar	20,0
pH à 25°C : 7,7 ± 0,2	

ANNEXES

✓ Bouillon Fraser :

Composition	(Grammes/litre)
Polypeptone	10,0
Extrait de levure:	5,0
Extrait de viande	5,0
Esculine	1,0
Citrate de fer III ammoniacal	0,5
Chlorure de lithium	3,0
Acide nalidixique	0,02
Chlorhydrate d'acriflavine	0,025
Chlorure de sodium	20,0
Hydrogénophosphate de sodium	9,6
Dihydrogénophosphate de potassium	1,3
pH = 7,2 ± 0,2	

✓ Milieu Palcam :

Composition	(Grammes/litre)
Base de gélose au sang Columbia	39
Extrait de levure	3
Glucose	0.5
Esculine	0.8
Citrate ferrique d'ammonium	0,5
Mannitol	10
Rouge de phénol	0.08
Chlorure de lithium	15
7.2 ± 0.2	

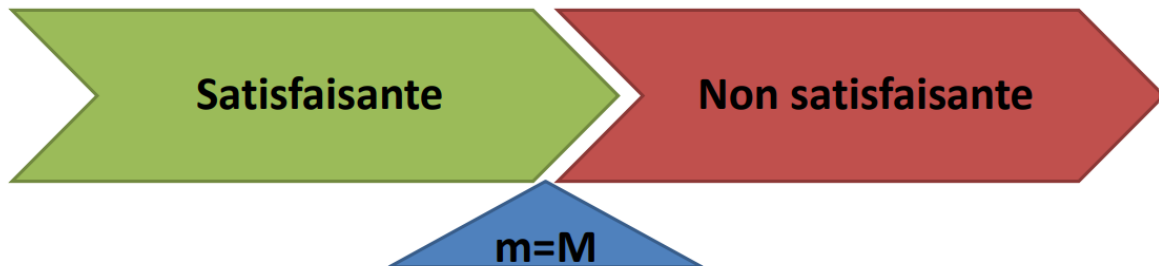
ANNEXE III

Interprétation des résultats

1. Plan a trois classes :



2. Plan a deux classes :



ANNEXE IV

ANNEXES

République Algérienne Démocratique et Populaire
Direction de la Santé et de la population de la wilaya de blida
Etablissement Public de Santé de Proximité d'Ouled Yaiche
Laboratoire d'Hygiène de référence de la wilaya de Blida
Tél / Fax : 00.213.25.30.96.96

BLIDA Le 23 /05 /2022

RESULTAT D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DES DENREES ALIMENTAIRES

Denrée alimentaire à analyser : *l'ben*

N° d'ordre : 01

Date de réception : 17 /05 /2022

Organisme demandeur : /

Lot : /

propriétaire: /

Date de fabrication/ 16 /05/2022

Adresse : Cité Jouajela Ouled Yaich

Date de péremption : /

MICRO-ORGANISMES	RESULTAS	Limite microbiologique (ufc / g ou ufc / ml)
*Coliformes totaux	1,1. 10 ⁵	3.10 ⁴
*Coliformes thermo-tolérants	Absence	30
*Staphylocoques à coagulase +	Absence	3.10 ²
*Salmonella	Absence	Absence dans 25 g
*Listeria monocytogenes	//	100

CONCLUSION :

Qualité microbiologique : **NON SATISFAISANTE**

LES RESULTAS DES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES SE FAIT CONFORMEMENT A L'ARRET INTERMINISTRIEL DU 02/07/2017 PAR LE JOURNAL OFFICIEL DE LA RADP N : 39 P 14

NB : LES RESULTATS SONT OBTENUS DANS LE CADRE DU LOT CONCERNE ET DANS LES LIMITES AUTORISANTS UNE ANALYSE MICROBIOLOGIQUE ISOLEE

ANNEXES

République Algérienne Démocratique et Populaire
Direction de la Santé et de la population de la wilaya de blida
Etablissement Public de Santé de Proximité d'Ouled Yaiche
Laboratoire d'Hygiène de référence de la wilaya de Blida
Tél / Fax : 00.213.25.30.96.96

BLIDA Le 24 / 05 /2022

RESULTAT D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DES DENREES ALIMENTAIRES

Denrée alimentaire à analyser : *l'ben*

N° d'ordre : 02

Date de réception : 17 /05/ 2022

Organisme demandeur: /

Lot : /

propriétaire : Hassnaoui

Date de fabrication : 17 /05/ 2022

Adresse : Beni Mared

Date de péremption : /

MICRO-ORGANISMES	RESULTAS	Limite microbiologique (ufc / g ou ufc / ml)
*Coliformes totaux	1,8. 10⁵	3.10⁴
*Coliformes thermo-tolérants	2,5. 10²	30
*Staphylocoques à coagulase	Absence	3.10²
* Salmonella	Absence	Absence dans 25 g
*Listeria monocytogenes	//	100

CONCLUSION :

Qualité microbiologique : NON SATISFAISANTE

LES RESULTAS DES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES SE FAIT CONFORMEMENT A L'ARRET INTERMINISTRIEL DU 02/07/2017 PAR LE JOURNAL OFFICIEL DE LA RADP N : 39 P 14

NB : LES RESULTATS SONT OBTENUS DANS LE CADRE DU LOT CONCERNE ET DANS LES LIMITES AUTORISANTS UNE ANALYSE MICROBIOLOGIQUE ISOLEE

ANNEXES

République Algérienne Démocratique et Populaire
Direction de la Santé et de la population de la wilaya de blida
Etablissement Public de Santé de Proximité d'Ouled Yaiche
Laboratoire d'Hygiène de référence de la wilaya de Blida
Tél / Fax : 00.213.25.30.96.96

BLIDA Le 24 / 05 /2022

RESULTAT D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DES DENREES ALIMENTAIRES

Denrée alimentaire à analyser : *l'ben*

N° d'ordre : 03

Date de réception : 17 / 05 / 2022

Organisme demandeur: /

Lot : /

propriétaire: /

Date de fabrication : 17 /05 / 2022

Adresse : Blida centre

Date de péremption : /

MICRO-ORGANISMES	RESULTAS	Limite microbiologique (ufc / g ou ufc / ml)
*Coliformes totaux	9.10 ³	3.10 ⁴
*Coliformes thermo-tolérants	1,8. 10 ²	30
*Staphylocoques à coagulase	Absence	3.10 ²
*Salmonella	Absence	Absence dans 25 g
*Listeria monocytogenes	//	100

CONCLUSION :

Qualité microbiologique : NON SATISFAISANTE

LES RESULTAS DES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES SE FAIT CONFORMEMENT A L'ARRET INTERMINISTRIEL DU 02/07/2017 PAR LE JOURNAL OFFICIEL DE LA RADP N : 39 P 14

NB : LES RESULTATS SONT OBTENUS DANS LE CADRE DU LOT CONCERNE ET DANS LES LIMITES AUTORISANTS UNE ANALYSE MICROBIOLOGIQUE ISOLEE

ANNEXE V

D'ACCREDITATION

ORGANISME ALGERIEN



الهيئة الجزائرية للاعتماد
Organisme Algérien d'Accréditation
Essai N° 1-2-042

Certificat d'Accréditation

N° : 1-2-042 Rév 01

ALGERAC, reconnu par le décret n° 05-466 du 06 décembre 2005, atteste que :

**Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage
CACQE**

Adresse : Route Nationale N° 5, Bab Ezzouar - Alger

est accrédité selon la norme ISO/CEI 17025:2017 et les règles d'application d'ALGERAC pour les activités d'essais suivantes :

- ✓ Analyses physicochimiques des denrées alimentaires
- ✓ Analyses microbiologiques des denrées alimentaires

Les sites concernés, couverts par l'accréditation sont :

- Laboratoires CACQE de la Répression des fraudes :
Blida, Tissemsilt, Saïda, Sétif, Soukahras, El Oued, Djelfa, Biskra.

Les activités couvertes sous accréditation sont décrites dans l'annexe technique qui fait partie intégrante du présent certificat.

Durant la validité du présent certificat, l'organisme s'engage à respecter les exigences de l'accréditation.

Date de prise d'effet : 11/01/2022
Date de fin de validité : 12/07/2024

Le Directeur Général



Noureddine BOUDISSA

Date d'octroi de l'accréditation initiale : 13/07/2021

FOR 16-3 Rev 00/12.07.2021

RESUME

Résumé :

Le contrôle microbiologique des produits alimentaires destinés à la consommation humaine, est indispensable pour éviter tout risque de contamination, et veiller sur la santé du consommateur.

A Blida, la consommation de lait fermenté a causé une toxi-infection alimentaire collective ; Survenant principalement en été ; les enfants de moins de 15 ans sont les plus touchés dans 90% des cas.

En vue d'apprécier les risques microbiologiques liés à la consommation des produits laitiers artisanaux, nous avons conduit cette étude afin de rechercher les germes pathogènes pouvant être présents et d'apprécier la qualité bactériologique du lait fermenté artisanal commercialisé au niveau de quelques communes de la wilaya de Blida.

Les analyses microbiologiques ont révélé une qualité « acceptable » pour la plupart des échantillons selon la législation nationale. Cependant il faut rester vigilant quant aux conditions de stockage et de collecte pour éviter tout risque sur la santé du consommateur.

Mots-clés : Lait, lait fermenté, qualité hygiénique, analyses bactériologiques, microbiologie, lben, produits laitiers.

Abstract :

The microbiological control of food products intended for human consumption is essential to avoid any risk of contamination, and to ensure the health of the consumer.

In Blida, the consumption of fermented milk caused collective food poisoning occurred mainly in summer ;children under 15 were affected in 90% of cases.

In order to appreciate the microbiological risks associated with the consumption of artisanal dairy products, we conducted this study in order to seek out the pathogenic germs that may be present and to appreciate the bacteriological quality of the artisanal fermented milk marketed at the level of some municipalities of the wilaya of Blida.

The microbiological analysis revealed an « acceptable » quality for most of the samples according to national legislation. However, we must remain vigilant with regard to storage and collection conditions to avoid any risk to the health of the consumer.

Keywords : Milk, fermented milk, hygienic quality, bacteriological analysis, microbiology, lben, dairy products.

ملخص:

المراقبة الميكروبيولوجية للمنتجات الغذائية المخصصة للاستهلاك البشري ضرورية لتجنب أي خطر للتلوث ولضمان صحة المستهلك.

في البليدة، تسبب استهلاك اللبن في مرض جماعي ينتقل عن طريق الأغذية ؛ وحدث التسمم بصورة رئيسية في الصيف ؛ تأثر الأطفال دون سن 15 في 90% من الحالات.

من أجل تقييم المخاطر الميكروبيولوجية المرتبطة باستهلاك منتجات الألبان التقليدية، أجرينا هذه الدراسة للبحث عن الجراثيم المسببة للأمراض التي قد تكون موجودة وتقييم الجودة البكتريولوجية للبن التقليدي الذي يتم تسويقه على مستوى بعض بلديات ولاية البليدة.

كشفت الاختبارات الميكروبيولوجية عن جودة «مقبولة» لمعظم العينات بموجب التشريع الوطني. ومع ذلك ، يجب أن نظل يقظين فيما يتعلق بظروف التخزين والتجميع لتجنب أي خطر على صحة المستهلك.

الكلمات المفتاحية: الحليب، الحليب المخمر، الجودة الصحية، التحليل البكتريولوجي، علم الأحياء الدقيقة، اللبن، منتجات الألبان.