

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



UNIVERSITÉ DE BLIDA (1)

**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE**

Mémoire



En vue d'obtention du diplôme de



Master professionnel en biologie

Option : Microbiologie et Toxicologie Alimentaire

Thème

***Recherche des bactéries pathogènes
dans le lait cru et lait fermenté
« L'ben » dans la région de Blida***

Présenté par : DAHDAH Amina – KRAILI Ikram

Devant le jury :

Mme KHALDOUN H.	Présidente	MCB	UB1
Mme BOULKOUR S.	Examinatrice	MAA	UB1
Mme BAAZIZE –AMMI D.	Promotrice	MAA	UB1
Mr. GUETARNI D.	Co-Promoteur	Professeur	UB1

Année universitaire : 2014 / 2015

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

” رَبَّنَا عَلَيْكَ تَوَكَّلْنَا وَإِلَيْكَ أَنَبْنَا وَإِلَيْكَ الْمَصِيرُ ”

” Allah, nous mettons notre confiance en Toi, nous revenons à Toi. C'est à Toi que tout aboutit. ”

REMERCIEMENTS

*En tout premier lieu, nous nous devons de remercier **ALLAH** le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il nous a données pour l'achèvement de ce travail, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.*

*Nous tenons à présenter nos vifs remerciements, les plus sincères à notre encadreur madame **BAAZIZE-AMI D.** pour l'aide et le soutien qu'elle nous a apportées, et pour ses précieux conseils qu'elle nous a fournis durant la réalisation de ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Mr le professeur **GUETARNI D.** responsable de laboratoire microbiologique.*

Nous tenons à remercier chaleureusement tous les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail :

- *Madame **KHALDOUN H.** Maitre assistante A, d'avoir accepté la présidence de jury, par ses conseils éclairés il ne fera qu'enrichir cette étude.*
- *Madame **BOULKOUR S.** Maitre assistante A, pour avoir accepté de faire partie du jury, par ses conseils et remarques elle contribuera ainsi à améliorer la qualité de ce travail.*

*Nous tenons à remercier vivement Monsieur le professeur **KEZZAL K.** en sa qualité de Directeur Général au sein de l'Institut Pasteur d'Alger, ainsi que notre maitre de stage Mme **OUAR**, responsable du service Entérobactérie, pour son accueil, le temps passé ensemble et le partage de son expertise au quotidien. Grâce aussi à sa confiance nous avons pu accomplir totalement dans nos missions. Il fut d'une aide précieuse dans les moments les plus délicats.*

Nous remercions également toute l'équipe du service Entérobactérie pour leurs accueil et leurs esprit d'équipe...

Nous tenons à remercier tous les enseignants du département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Université Blida 1, qui ont contribué à notre formation.

*Afin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à Mr **TEFAHI D.** pour son soutien inconditionnel et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

"Merci à tous"

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail :

*Aux êtres les plus chers au monde, ma **mère** qui m'a élevé, éduqué et sacrifié toutes les belles années de sa vie pour moi, et à mon **père** qui n'a jamais cessé de combattre pour me voir réussir un jour, que Dieu vous protège pour nous.*

*À tous les membres de la famille; mes **sœurs** : Djihad, Ismahane pour leur courage et leur présence.*

*À mes **frères** : Omar et Sid Ali pour leur soutien.*

À mon petit frère Youcef.

À mes grands-parents pour leurs supports au quotidien.

À mes oncles, tantes, cousins et cousines.

*À mes **meilleures amies** : Amel M. et Amel B. qui ont été déterminants pour l'aboutissement de ce travail.*

*À mon **binôme** : Ikram qui m'a accompagné tout au long de ce mémoire, je la remercie pour son amitié sincère et pour tous les bons moments passés ensembles dans et hors du laboratoire.*

À tous mes amis sans exception.

Sans oublier les étudiants de ma promotion de Master II (2014/2015).

À toutes les personnes qui m'ont aidé, soutenu et contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Enfin, à mon très cher pays « l'Algérie », j'espère être à la hauteur pour lui rendre tous ce qu'il m'a donnés et plus, Incha'Allah.

Amina

DÉDICACES

*Mes premières pensées c'est à remercier la plus belle personne dans ma vie ma **mère**, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Je tien à remercier mon **père**, l'Homme qui m'a soutenu tout au long de ma vie par sa miséricorde, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

***Allah** vous, protège **maman** et **papa** ... je vous aime beaucoup*

*Ma **sœur** et Mon **frère** qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

*À ma **sœur** Sanaa et son mari Abdelkader et bien sur ma petite nièce Mouna.*

*À mon **frère** Maamar et sa femme Nassima et aussi mon petit neveu Hamza.*

À mes oncles, tantes, cousins et cousines.

*À ma chère **binôme** Amina qui m'a supportée durant cette année et avec laquelle j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin et je souhaite que l'amitié qui nous a réunis persiste pour toujours et que nous arrivons à réaliser nos rêves ...*

*À tous mes **chères amies** Bouchra, Amina, Amel et Asma je vous souhaite une merveilleuse vie pleine de joie et de bonheur.*

Sans oublier de passer mes remerciements à toutes mes amies sans exception et à tous les collègues de ma promotion Master 2 « MTA ».

Ikram

Résumé

Le lait et les produits laitiers sont des aliments d'un grand intérêt nutritionnel, mais ils peuvent être des vecteurs de transmission de germes pathogènes à l'homme et peuvent présenter un risque pour la santé humaine. La maîtrise de la qualité sanitaire et hygiénique du lait cru destiné à la consommation ou à la transformation est donc essentielle pour la protection du consommateur.

L'objectif de la présente étude est la recherche des pathogènes dans le lait cru et lait fermenté (l'ben) dans la région de Blida. Pour cela nous avons réalisé l'analyse bactériologique de 71 échantillons, dont 44 prélèvements de lait (lait de vache et de chèvre) et 27 prélèvements de l'ben.

Les résultats montrent l'absence des salmonelles dans l'ensemble des échantillons, la présence des staphylocoques a été mise en évidence dans 63,63%, et 62,96% pour le lait et l'ben respectivement, dont 33,33% *Staphylococcus aureus* et 2,08% *S. carnosus* à des taux identique pour le lait et pour le l'ben, ainsi que 8,33% *S. hyicus*, 20,83% *S. chromogenes* isolés dans le lait. *Escherichia coli* a été mise en évidence dans 28,85% et 19,23% pour le lait et l'ben respectivement. L'identification sérologique a montré l'absence des séro-groupes O157 ; O111 ; O55 ; O26 ; O86 ; O119 ; O125 ; O126 ; O128 et la présence de seulement deux souches appartenant au séro-groupe O127.

Ces résultats permettent d'envisager des mesures de lutte contre la contamination du lait et des produits laitiers par la mise en place d'un programme de sensibilisation et de formation des producteurs aux bonnes pratiques de production pour l'obtention de produits de meilleure qualité et pour préserver la santé du consommateur.

Mots clés : Lait cru, lait fermenté (l'ben), salmonelles, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* entéropathogène, *Escherichia coli* O157.

Abstract

Milk and dairy products are foods of great interest nutritional, but they can be vectors for transmission pathogenic germs to humans and may pose a risk to health of human. Controlling the quality of raw milk intended for consumption or processing is essential to protect the consumer.

The objective of this study is the search for pathogens in raw milk and fermented milk (the l'ben) in the region of Blida. For this, we realized bacteriological analysis of 71 samples including 44 samples of milk (cow and goat) and 27 samples of the l'ben.

The results show the absence of *Salmonella* in all samples, the presence of staphylococci has been demonstrated in 63.63% and 62.96% for milk and the l'ben, respectively, 33.33% *S. aureus* and *Staphylococci carnosus* to 2.08% of the same rate for milk and for l'ben and 8.33% *S. hyicus*, 20.83% *S. chromogenes* isolated in milk. *Escherichia. coli* was highlighted in 28.85% and 19.23% for milk and l'ben, respectively. Serological identification showed the absence of serogroups O157 and O111; O55; O26; O86; O119; O125; O126; O128 and the presence of only two serogroup O127.

These results allow considering measures against the contamination of milk and milk products by implementing an awareness program and training the producers for good production practices, and the most interesting is to obtaining better quality products and to preserve the health of the consumer.

Keywords: Raw milk, fermented milk (the l'ben), *Salmonella*, *Staphylococci aureus*, *Escherichia coli*, Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), *Escherichia coli* O157.

ملخص

الحليب ومنتجات الألبان هي أطعمة ذات فائدة غذائية كبيرة، ولكنها يمكن أن تكون سبب لنقل الجراثيم الضارة إلى المستهلك لذلك يمكن أن تشكل خطر على صحة الإنسان. السيطرة على الجودة الصحية للحليب الخام المعدة للاستهلاك أو المعالجة أمر ضروري لحماية المستهلك.

الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن الجراثيم الضارة في الحليب الخام (للأبقار والماعز) والحليب المخمر (اللبن) في منطقة البلدة.

أجرينا التحليل البكتريولوجي ل 71 عينة من الحليب الخام والحليب المخمر في منطقة البلدة، بما في ذلك 44 عينة من الحليب (حليب البقر وحليب الماعز) و 27 عينة من اللبن. وهو يركز على ثلاثة جراثيم ضارة هي: Salmonelles، Staphylocoques و *Escherichia coli*.

أظهرت النتائج عدم وجود Salmonelles في جميع العينات، فقد ثبت وجود Staphylocoques في 63,63 % و 62,96 % للحليب و اللبن على التوالي، بما في ذلك 33,33 % من *Staphylococcus aureus* و 2,08 % *S. carnosus* من نفس المعدل للحليب و اللبن و 8,33 % *S. hyicus*، 83,20 % *S. chromogenes* معزولة في الحليب. و قد تجلى *Escherichia coli* في 28,85 % و 19,23 % للحليب و اللبن على التوالي. أظهر التحديد المصلي غياب السلالات التالية: O157, O86, O26, O55, O111, O128, O126, O125, O119 و وجود اثنين فقط من O127 المصلية.

هذه النتائج تسمح للنظر في اتخاذ تدابير ضد تلوث الحليب ومنتجات الألبان ب *Staphylocoques* و *Escherichia coli*. وذلك بتنفيذ برنامج توعية وتدريب المنتجين في ممارسة الإنتاج الجيد للتحصل على حليب خام وحليب مخمر (اللبن) ذو نوعية جيدة وحماية صحة المستهلك.

الكلمات الرمزية: الحليب الخام، الحليب المخمر (اللبن)، Salmonelles، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* (EPEC)، *Escherichia. coli* O157، *coli* entéropathogènes.

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
1	Les différents types cellulaires du lait en absence d'infection	3
2	Sources et niveaux de contamination du lait	9
3	Effet de la température sur le comptage microbien après 24 h et sur sa durée de conservation	12
4	Niveaux moyens des populations microbiennes (en log ₁₀ UFC/g) dénombrées sur trois types de litières (9 observations/type de litière) utilisées par des vaches laitières	14
5	Température optimale de croissance des bactéries lactiques.	20
6	La distribution des prélèvements	24
7	Les résultats des analyses bactériologiques sont présentés selon l'absence ou la présence du germe	39
8	La répartition de la prévalence des souches suspectes de Salmonelles selon le type d'échantillon	39
9	La répartition de la prévalence des staphylocoques selon le type d'échantillon	40
10	Distribution des souches de staphylocoques isolées dans les échantillons de lait et l'ben en fonction des résultats de la coagulase.	41
11	Distribution des souches de staphylocoques selon les espèces	42
12	Isolats obtenus après culture sur gélose Mc Conkey au Sorbitol	42
13	Isolats obtenus après le test Oxydase pour identification de la famille des Enterobacteriaceæ	43
14	Répartition des souches d' <i>Escherichia coli</i> par séro-groupe	44

Liste des figures

Figures	Titre	page
1	Evaluation de la propreté des vaches	10
2	Un trayon sain et un trayon avec plaies	11
3	Dégradation du glucose par les bactéries lactiques	19
4	Dispositif Dynal MPC-M	25
5	Réactifs Dynabeads anti- <i>E. coli</i> O157	25
6	Antiserum <i>Escherichia coli</i> "Nona valent, Trivalent et monovalent"	26
7	Virage du milieu SFB après incubation 24h	27
8	Test de l'oxydase	28
9	Virage du milieu de Giolitti Cantoni après incubation 24h	31
10	Étapes de l'immuno-concentration	34-35
11	Inoculation de la galerie API 20 ^E	37
12	Lecture de la galerie API 20 ^E après 24h	37
13	Séro-agglutination d' <i>EPEC</i>	38
14	Résultats de coagulase libre	41

Liste des annexes

Annexes	Titre
I	Principales propriétés physiques du lait de vache et de chèvre
II	Proportions des principaux constituants du lait de vache
III	Matériel de laboratoire
IV	Recherche de Salmonelles
V	Recherche des Staphylocoques
VI	Les résultats globales des analyses bactériologiques sont présentés selon l'absence ou la présence du germe pour chaque échantillon

Liste des abréviations

Abréviations	Mots complets
CE	Commission Européenne
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
Aw	Activité de l'eau
UFC	Unité formant colonie
P	phosphore
<i>Lac</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Leuc</i>	<i>Leuconostoc</i>
IPA	Institut Pasteur d'Algérie
IMS	Séparation immunomagnétique
IMC	Immuno concentration
EPEC	<i>Escherichia coli</i> entéropathogènes
AFNOR	Association Française de Normalisation
EPT	Eau peptonée tamponnée
SFB	Bouillon au sélénite acide de sodium
H₂S	Sulfure d'hydrogène
ONPG	Ornithine décarboxylase
TSI	Milieu Tri SugarIron
TDA	Tryptophane désaminase
rpm	rotation per minute
PBS	Solution Saline Tamponnée au Phosphate
TSE	Tryptophane Sel Eau
DMSO	Dimethyl sulfoxide
ISO	International Standards Organization
SMAC	Mac Conkey au Sorbitol
Cf.	Confer
VP	Voges proskauer
RM	Rouge de méthyle
NR	Nitrate réductase
NO₃	Nitrates
NO₂	Nitrites

O	Antigène somatique
EHEC	<i>Escherichia coli</i> entérohémorragiques
SCP	Staphylocoque coagulase positive
SCN	Staphylocoque coagulase négative
AA	Auto-agglutinable
NA	Non agglutinable
STEC	<i>E. coli</i> Productrice Shiga-toxine
HC	Colites Hémorragiques
HUS	Syndrome Hémolytique et Urémique
D/C	double concentration
S/C	simple concentration
API	Analytic Programme Index

Sommaire

N°	Titre	page
	INTRODUCTION	01
	PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
I	LE LAIT CRU	02
I.1	Propriété physico-chimique du lait	02
I.1.1	Caractère physique	02
I.1.2	Caractère chimique	02
I.2	Composition du lait	03
I.2.1	Composition chimique	03
I.2.2	Composition cellulaire	03
I.2.2.1	Les cellules somatiques	03
I.2.2.2	Les bactéries	04
I.2.2.2.1	La flore utile	04
I.2.2.2.2	La flore d'altération	04
I.2.2.2.3	La flore pathogène	05
I.3	Evaluation de la fraîcheur du lait cru	06
I.3.1	Test sensoriel	06
I.3.2	Point de congélation	07
I.3.3	Test de coagulation du lait à l'ébullition	07

II	LA CONTAMINATION DU LAIT	07
II.1	La flore pathogène	07
II.1.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	07
II.1.2	<i>Escherichia coli</i>	08
II.1.3	Salmonelles	08
II.2	Sources de contamination du lait	09
II.2.1	Contamination par l'animal	09
II.2.2	Conditions d'hygiène de la traite	11
II.2.3	Stockage du lait cru à la ferme	11
II.2.4	Contamination au cour du transport	12
II.2.5	Autres facteurs	13
II.3	Principales activités des micro-organismes dans le lait	14
II.3.1	Fermentation	14
II.3.2	Protéolyse	15
II.3.3	Lipolyse	15
II.4	Mesures préventives contre la contamination du lait cru	15
II.4.1	La santé de l'animal	15
II.4.2	Hygiène du bâtiment	16
II.4.3	L'alimentation	16
II.4.4	Hygiène de la traite	16
II.4.5	Le refroidissement du lait	17
III	LE LAIT FERMENTÉ	17
III.1	Généralité sur le lait fermenté	17
III.1.1	Définition du lait fermenté	17
III.1.2	Composition et propriété physico-chimique	17
III.1.3	La microbiologie du lait fermenté	18
III.1.3.1	La flore lactique	18
III.1.3.1.1	Définition	18
III.1.3.1.2	Classification des ferments lactiques	18
III.1.3.1.2.1	Type de fermentation	18
III.1.3.1.2.2	Température de croissance	19

III.1.3.1.3	Caractéristiques des genres des ferments lactiques	20
III.1.3.1.3.1	<i>Leuconostoc</i>	20
III.1.3.1.3.2	<i>Lactobacillus</i>	20
III.1.3.1.3.3	<i>Streptococcus</i>	20
III.1.3.1.3.4	<i>Lactococcus</i>	21
III.1.3.1.4	Le rôle des ferments lactiques	21
III.1.3.2	La flore pathogène	21
III.1.4	Intérêt nutritionnelles des laits fermentés	21
III.2	Le l'ben	22
III.2.1	Définition	22
III.2.2	Les procédés de fabrication	22
III.2.2.1	L'ben traditionnel	22
III.2.2.2	L'ben industriel	23
III.2.2.2.1	Définition	23
III.2.2.2.2	Processus de fabrication	23
	PARTIE EXPÉRIMENTALE	
I	MATÉRIEL ET MÉTHODES	24
I.1	MATÉRIEL	24
I.1.1	Prélèvement	24
I.1.2	Conditionnement	24
I.1.3	Acheminement	25
I.1.4	Matériel non biologique	25
I.1.4.1	Kit de séparation immuno-magnétique (IMS)	25
I.1.4.2	Galeries biochimiques	25
I.1.4.3	Kits de séro-agglutination	25
I.1.4.4	Petits matériel et équipement de laboratoire	26
I.2	MÉTHODES	26
I.2.1	Recherche de Salmonelles	26
I.2.2	Recherche de Staphylocoques	30
I.2.3	Recherche d' <i>E. coli</i>	33
I.2.3.1	Préparation du culot	33
I.2.3.2	Séparation immuno-magnétique (IMS)	33

II	RÉSULTATS ET DISCUSSIONS	39
II.1	RÉSULTATS	39
II.1.1	Résultats des analyses bactériologiques	39
II.1.1.1	Recherche de Salmonelles	39
II.1.1.2	Recherche de Staphylocoques	40
II.1.1.3	Recherche et caractérisation d' <i>E. coli O157 :H7</i>	42
II.2	DISCUSSIONS	45
	CONCLUSION	49
	RECOMMANDATIONS	50
	RÉFÉRNCE BIBLIOGRAPHIQUES	51
	ANNEXES	



Introduction

Selon les prévisions de 2007, l'Algérie comme pays consommateur de lait, présente des besoins en lait de l'ordre de 3,2 milliards de litres par année, mais que 2 milliards de litres seulement sont produits localement. Le manque est donc énorme ; ainsi, notre pays a adopté une politique d'importation des vaches laitières, mais celles-ci ne parviennent pas à donner les résultats escomptés. Ceci est sans doute dû à un ensemble de facteurs tels que les mauvaises conditions d'élevage et particulièrement une alimentation inadéquate en apports énergétiques, ainsi que la méconnaissance de sa conduite de la part de nos éleveurs (Ghazi et Niar, 2011).

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 (Labioui et *al.*, 2009).

La traite, le groupage et le stockage du lait comportent des risques de contamination ultérieure par l'homme ou par l'environnement ou de développement des germes pathogènes intrinsèques. En outre, la composition des aliments à base de lait constitue un milieu propice au développement de micro-organismes pathogènes (Codex alimentarius, 2008). Cependant la microflore microbienne du lait cru, composée essentiellement de bactéries lactiques, participe de façon importante à l'élaboration des caractéristiques organoleptiques des produits laitiers fermentés (lait fermenté, fromage...etc.) (Chammas et *al.*, 2006 ; Patrignani et *al.*, 2006).

Le lait fermenté est l'un des plus populaires aliments fermentés ; il est depuis toujours traditionnellement consommé dans de nombreux pays (Nakasaki et *al.*, 2008).

En Algérie ces produits sont une partie intégrante d'héritage algérien et ont une grande importance, culturelle et économique. Les produits laitiers traditionnels algériens qui ont la signification commerciale sont Raib, Leben et Jben (Zarour et *al.*, 2012).

Pour des produits laitiers sains, il est nécessaire donc d'avoir une bonne qualité microbiologique de lait cru. Sachant que la fermentation lactique assure une sécurité alimentaire par acidification et production de bactériocines antagonisant la croissance des bactéries pathogènes, et améliore aussi la qualité finale des produits laitiers par production de composés aromatiques (Callewaert et De Vuyst, 2000 ; Labioui et *al.*, 2005).

Dans ce contexte notre travail s'inscrit dans le cadre d'un projet d'étude intitulé « La recherche des germes pathogènes dans le lait cru et lait fermenté « L'ben » dans la région de Blida », dont l'objectif principal a été l'évaluation de la qualité bactériologique par la recherche de trois germes pathogènes à savoir : les salmonelles, les staphylocoques et *Escherichia coli*.



Partie
bibliographique

I. LE LAIT CRU

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 48h (Fredot, 2006).

Le règlement (CE) n°853/2004 définit le lait cru comme le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'animaux d'élevage et non chauffé à plus de 40 °C, ni soumis à un traitement d'effet équivalent. Ce lait n'a donc subi aucun traitement autre que la réfrigération mécanique immédiate après la traite à la ferme (Beisson et Martinez, 2009).

I.1. Propriétés physico-chimiques du lait

Le lait est un fluide aqueux opaque, blanc mat légèrement bleuté, d'une saveur douceâtre et d'un pH légèrement acide, proche de la neutralité (Debry, 2006). Contrairement au lait de vache, même s'il est de composition très voisine, le lait de chèvre ne contient pas de β -carotène ce qui explique sa couleur plus blanche (Pradal, 2012).

I.1.1. Caractères physiques

Principales propriétés physiques du lait de vache et de chèvre sont reprises en annexe I.

I.1.2. Caractères chimiques

Le lait est un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent (Debry, 2006) :

- Phase aqueuse, qui contient l'eau (87% du lait) et les produits solubles pouvant donner naissance du lactosérum (lactose, les sels, protéines solubles, composés azotés non protéiques, biocatalyseurs tels que vitamines hydrosolubles ou enzymes).
- La suspension colloïdale micellaire (2,6%), qui peut donner naissance au caillé obtenu par la coagulation des caséines suite à l'action de micro-organismes 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.

Ces phases sont en suspension les unes dans les autres. Il existe des facteurs qui permettent de rompre cette suspension (pH acide, présure) qui font coaguler la phase colloïdale (Fredot, 2006). Cette composition varie selon différents facteurs liés généralement aux animaux. Les principaux sont : l'individualité, la race, l'alimentation, la saison, l'âge et l'espèce (Vignola, 2002).

I.2. Composition du lait

I.2.1. Composition chimique du lait

L'eau est l'élément quantitativement le plus important dans le lait (environ 89,5%) (Mathieu, 1998). Selon Favier (1985), le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E.

La composition moyenne de lait de vache et lait de chèvre est reprise en annexe II.

I.2.2. Composition cellulaire du lait

Certaines cellules sont issues de l'organisme (cellules somatiques) ; les autres, microbiennes (bactéries, levures et moisissures), proviennent du milieu dans lesquelles elles vivent (Mathieu, 1998).

I.2.2.1. Les cellules somatiques

On désigne par le terme «cellules somatiques du lait» (du grec soma= corps) les cellules du corps qui sont présentes dans le lait (Schalm et Lasmanis, 1968).

Selon Mathieu (1998), la concentration cellulaire d'un lait normal, issu d'une vache non infectée, est de 50 000 à 200 000 cellules somatiques/ml de lait. Il s'agit des cellules issues du sang et de la glande mammaire de l'animal qui sont nombreux et variés. A côté d'éléments épithéliaux on trouve surtout des leucocytes qui traversent la paroi lactogène et passent du sang dans les alvéoles en se faufilant entre les cellules sécrétrices.

Les différents types cellulaires du lait en absence d'infection sont repris au tableau 1.

Tableau 1 : Les différents types cellulaires du lait en absence d'infection (Lee et *al.*, 1980).

Cellules	%
Polynucléaires	0-11
Lymphocytes	10-27
Macrophages	66-88
Cellules épithéliales	0-7

L'observation microscopique de ces éléments cellulaires est d'une grande importance pour apprécier la valeur hygiénique du lait (Veisseyre, 1975). La présence des cellules somatiques ne présente, elle-même, aucun pouvoir pathogène ou toxique mais elle est le signe révélateur d'existence de germes ou de produits indésirables (Badinand, 1994).

I.2.2.2. Les bactéries

Chez un animal sain, le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions (moins de 5000 germes/ml et moins de 1 coliforme/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles (Larpen, 1990). D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade ou de son environnement : ils sont généralement pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire (Bourgeois et *al.*, 1996).

I.2.2.2.1. La flore utile

La flore utile composée d'une flore acidifiante ou flore lactique, qui assure la transformation du lactose du lait en acide lactique et permet donc son acidification, et d'une flore d'affinage. Elle nécessite pour se développer la présence de glucides, d'azote et de vitamines. Elle est considérée comme non pathogène, ni pour la mamelle ni pour l'homme (Vigneror, 1965).

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimioorganotrophes (De Roissart, 1986). D'après Guiraud (1998), il existe :

- Les homolactiques : produisent exclusivement l'acide lactique à partir des glucides.
- Les hétérolactiques : en plus de l'acide lactique, permettent de produire l'acide acétique, éthanol et dioxyde de carbone.

Les bactéries lactiques sont des coques ou des bacilles (Satura et Federighi, 1998) :

- Les coques : *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus* et *Leuconostoc*.
- Les bacilles : *Lactobacillus* et *Carnobacterium*.

I.2.2.2.2. La flore d'altération

La flore d'altération causera des défauts de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture. Elle est composée de la flore thermorésistante, psychrotrophe, La flore coliforme, La flore butyrique (Vignola, 2002).

a. La flore thermorésistante

La flore thermorésistante est apportée dans le lait par le sol, les ensilages, les fèces et les résidus dus à l'insuffisance de nettoyage des matériels (FAO, 1995). Les bactéries thermorésistantes peuvent survivre à la pasteurisation et entraîner une altération du produit après traitement, et parfois, être dangereux pour la santé, c'est le cas de certains lactobacilles et certaines bactéries corynéformes, *Bacillus* et *Clostridium* (Cécile, 2011).

b. La flore psychrotrophe

C'est une flore qui est capable de se développer à basse température. Elle est composée de germes non pathogènes (Certains *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* et *Xanthomonas*), ils produisent des enzymes thermostables qui provoquent la protéolyse des produits laitiers (Monsallier, 1994). Il s'agit d'abord de la rancidité due à l'hydrolyse des triglycérides et à l'apparition d'acides gras libres et occasionnellement de défauts dus à la formation de composés carbonylés et d'autres produits volatils (Bourgeois et *al.*, 1996).

c. La flore coliforme

Les coliformes peuvent être présents dans le tube digestif de l'homme et des animaux et dans les matières fécales (Cécile, 2011). Un grand nombre de coliformes dans le lait indique donc une contamination du lait par les bouses en raison de vaches trop sales ou d'une hygiène de traite insuffisante. Ils colonisent facilement le matériel de traite (Levesque, 2004). Les laits produits dans de bonnes conditions d'hygiène et correctement réfrigérés contiennent généralement moins de 50 coliformes/ml (Sommeillier et Heuchel, 1999).

d. La flore butyrique

Les butyriques sont présents dans le sol et leur présence dans le lait cause des défauts de fabrication du fromage. En conditions défavorables, ces bactéries sporulent et cette propriété leur permet de survivre au traitement thermique (Hartheiser, 1994). Le lait est contaminé selon la chaîne classique sol – fourrage – bouse – lait, la source de contamination la plus commune est représentée par les ensilages mal conservés à pH trop élevé ; la contamination du lait est externe à la vache et n'intervient, donc, que pendant ou après la traite et notamment par contamination du lait par les matières fécales (Lenoir, 1985).

I.2.2.2.3. La flore pathogène

Le lait est un milieu favorable à la croissance des microorganismes surtout pathogènes (Ahmed et *al.*, 2010 ; Vignola, 2002). Les pathogènes sont des microorganismes pouvant causer la maladie chez l'humain (Labrie, 2012), on recense quatre pathogènes majeurs dans les produits laitiers :

- *Listeria monocytogenes*.
- *Staphylococcus aureus*.
- *Salmonella spp.*
- *Escherichia coli* O157 :H7.

Les sources de contamination peuvent devenir nombreuses (les infections mammaires, l'environnement et l'homme lui-même) (Monsallier, 1994) et les effets des microorganismes pathogènes peuvent gravement compromettre la qualité et l'innocuité des produits laitiers (Labrie, 2012).

I.3. Evaluation de la fraîcheur du lait cru

Plusieurs méthodes sont adoptées pour tester la fraîcheur d'un lait, les tests les plus utilisés sont les suivants : test sensoriel, le point de congélation, test de la coagulation du lait à l'ébullition.

I.3.1. Test sensoriel

Vierling (2008) rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais :

- Si le lait contient une saleté visible, de la paille ou du fumier il sera considéré non hygiénique. Signalons aussi que la couleur du lait de la vache doit être légèrement jaune blanchâtre, alors que le lait de la chèvre doit être absolument blanc, les différences de couleurs sont les signes d'un lait défectueux (Hamama, 2002 ; Veisseyre, 1975).
- L'odeur est caractéristique ; le lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (Vierling, 2008).
- 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 (Thieulin et Vuillaume, 1967).
- 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 (Rheotest, 2010).

I.3.2. 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. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait (Neville et Jensen, 1995). Sa valeur moyenne se situe entre - 0.51 et - 0.55°C (Croguennec et *al.*, 2008). D'une manière générale tous les traitements du lait ou les modifications de sa composition qui font varier leurs quantités entraînent un changement du point de congélation (Mathieu, 1998).

I.3.3. Test de coagulation du lait à l'ébullition

Dans un tube à essai, 5 ml de lait sont chauffés jusqu'à l'ébullition. Si le lait coagule à l'ébullition il n'est pas frais. Ce test est rapide, simple et moins coûteux, mais il ne peut pas indiquer si le lait est frais ou légèrement acide (Hamama, 2002).

II. LA CONTAMINATION DU LAIT

Le lait au cours de la traite, le transport ou de la commercialisation est contaminé par une grande variété de micro-organismes (Bourgeois et *al.*, 1996).

Le lait cru, ou lait n'ayant subi aucun traitement d'assainissement, peut contenir des bactéries appartenant aux genres *Salmonella* sp, *E. coli*, *S. aureus* et *L. monocytogenes* qui peuvent causer des maladies d'origine alimentaire comme la fièvre, les vomissements, la diarrhée voire l'insuffisance rénale, les fausses couches et même la mort. Ignorants des bonnes pratiques d'hygiène, les acteurs de la filière laitière à Abidjan (Côte d'Ivoire), contribuent à la dissémination et à la multiplication des germes pathogènes dans le lait lors de la traite et de la commercialisation (Kouamé-Sina et *al.*, 2010).

II.1. La flore pathogène

II.1.1. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques dorés sont les germes potentiellement pathogènes les plus présents dans le lait. Ils proviennent surtout de mamelles infectées mais ils vivent aussi sur la peau des trayons et même sur les mains des trayeurs particulièrement dans les plaies. Ils peuvent coloniser le matériel de traite mal nettoyé (Levesque, 2004).

Les infections mammaires à *S. aureus* constituent la principale source de contamination du lait à la production (Heuchel et Meffe, 2000). *S. aureus* constitue la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les mammites sub-cliniques chroniques (L'excrétion de *S. aureus* dans le lait varie de 0 à 10⁴ à 10⁵ bactéries/ml) (Brisabois et *al.*, 1997). La multiplication du staphylocoque a lieu dès le stockage du lait (refroidissement après la traite inexistant ou trop lent) et au cours de la

fabrication (températures trop hautes, acidification trop lente ou utilisation de lactosérum contaminé) (Gret, 2002).

Certaines souches de staphylocoques produisent des entérotoxines qui provoquent chez le consommateur des intoxications pouvant se traduire par des entérocolites aiguës (Fanica, 2008). Le pourcentage de souches entérotoxigènes varie de 60 à 79 % pour les souches d'origine humaine, de 25 à 62% pour les souches d'origine animale, isolées dans les denrées alimentaires crues et de 50% dans le lait (Sutra et Fedirighi, 1998).

II.1.2. *Escherichia coli*

E. coli est un commensal normal de l'intestin de l'homme et des animaux. Il représente 80 % de la flore intestinale aérobie (Eck, 1987). *E. coli* constitue le meilleur indicateur de contamination fécale mais peut être considéré aussi comme un germe pathogène. Sa présence peut provoquer la sécrétion d'une entérotoxine responsable de gastroentérites avec diarrhées, fièvre et déshydratation mais également des infections du système urinaire surtout chez les jeunes enfants de moins de 3 ans et des méningites et septicémies surtout chez les nourrissons (Gret, 2002).

Les principaux vecteurs de la contamination du lait cru par *E. coli* sont la peau des trayons souillée par les fèces et le matériel de traite mal nettoyé qui facilitent sa colonisation entre les traites (Richard, 1983).

Plusieurs facteurs interviennent dans la croissance et dans la survie des *E. coli* pathogènes dans les produits laitiers. Ces facteurs concernent les caractéristiques du produit fabriqué (composition, Aw, acidité) et le taux initial de contamination dans le lait cru (Eck, 1987).

II.1.3. Les salmonelles

Les salmonelles se développent dans le lait cru principalement au moment de la traite (Fredot, 2006). La multiplication est surtout importante à des températures supérieures à 8°C et à des pH élevés supérieures à 5,5 (Pradal, 2012).

Les personnes qui consomment du lait contaminé par *Salmonella* sont susceptibles de contracter la salmonellose. La salmonellose la plus fréquente est due à *S. typhimurium* (De Buyser et al., 2001). En France, bien que les *Salmonella* soient la première cause de toxi-infection alimentaire, le lait et les produits laitiers sont rarement responsables de cas de salmonelloses. Le lait cru est assez peu fréquemment contaminé et cette contamination est alors le plus souvent d'origine externe (D'aoust, 1989), les salmonelles proviennent des bouses d'un animal infecté (Levesque, 2004).

II.2. Sources de contamination du lait

Au cours de la manipulation à la ferme, le lait est susceptible d'être infecté par divers micro-organismes, principalement des bactéries (Bourgeois et *al.*, 1996). La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, et elle fait alors suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés, d'un apport de l'environnement (eaux, personnel) ou de la machine à traite (Cremo, 2003). Le tableau 2 donne les différentes sources de contamination du lait.

Tableau 2 : Sources et niveaux de contamination du lait (Cremo, 2003).

	Normal	Anormal
Pis	< 100 germes par millilitre	100 000 et plus par millilitre
Environnement	1000 - 5000 germes par millilitre	10 000 et plus par millilitre
Ustensiles à lait	1000 – 30 000 germes par millilitre	100 000 et plus par millilitre
Refroidissement et durée de stockage	Pas d'augmentation significative	500 000 et plus par millilitre

II.2.1. Contamination par l'animal

La propreté des vaches a un impact significatif sur la santé du pis et en particulier sur le taux de mammites environnementales. Le maintien de la propreté du pis et des membres des vaches permet de diminuer la propagation d'agents pathogènes de l'environnement vers le canal du trayon. Selon la zone de l'animal qui est souillée, on peut déterminer que les lieux dans l'étable où le niveau de propreté est inadéquat et ainsi apporter les correctifs nécessaires (figure 1) (Levesque, 2004).



Etat 1 propre ; 2 relativement propre ; 3 souillé ; 4 très souillé.

Figure 1 : Evaluation de la propreté des vaches (Levesque, 2004)

Le lait cru des mamelles des vaches saines contient moins de 1000 g/ml. Par contre, une vache atteinte de mammite peut déverser jusqu'à 10^7 germes/ml dans un lait de tank (Robinson, 1990). En outre, la détection de germes pathogènes dans le lait n'indique pas nécessairement qu'ils proviennent des vaches atteintes de mammites, d'autres facteurs environnementaux peuvent être impliqués telle que la propreté des vaches ; mais la présence de *S. agalactiae* et *S. aureus* dans les tanks à lait est considérée comme la preuve irréfutable qu'elle provient de vaches infectées (Robinson, 1990 ; Gonzalez, 1986).

L'extérieur du trayon peut être la source d'une population mésophile, psychrotrophe ou thermorésistante (Vignola, 2002).

Selon Michel et *al.* (2001), il existe une large variété de groupes microbiens présents en surface des trayons sains, exempts de blessures ou de boutons :

- des coliformes totaux (de 10^3 à 10^4).
- des *Pseudomonas* (10^4),

La figure 2 montre un exemple de trayon sain et l'autre avec plaies.



Figure 2 : Un trayon sain et un trayon avec plaies (Michel et *al.*, 2001).

II.2.2. Conditions hygiéniques de la traite

Pour produire des aliments sains et sans dangers pour le consommateur, L'hygiène est importante à toutes les étapes de la chaîne de production. Le trayeur ne doit jamais oublier qu'il fait partie de cette chaîne et qu'il produit des aliments. Des bactéries comme le staphylocoque doré peuvent vivre sur les mains des trayeurs et se transmettre aux vaches (Bachta et Ghersi, 2004). Selon Lemire (2007), pour une même saison, des différences de composition microbienne de ces réservoirs existent entre les exploitations : elles sont alors associées aux pratiques mises en œuvre. A noter que les pratiques de nettoyage des trayons sont courantes en vaches laitières mais beaucoup moins fréquentes pour les chèvres, ces dernières et leurs mamelles étant jugées propres par les producteurs. En absence d'hygiène à la traite, la population des flores microbiennes présente en surface des trayons est donc susceptible d'ensemencer directement le lait (Serieys, 1996). En effet, au cours des opérations de traite, le lait est l'objet de contaminations et d'altérations microbiennes les plus importantes, elles peuvent provoquer des modifications d'ordre physico-chimique tel que l'activation de la lipolyse (Luquet, 1985).

II.2.3. Stockage du lait cru à la ferme

La contamination du lait est accentuée par les mauvaises conditions de stockage (Portmann, 1955). Cette conservation ne doit pas dépasser 48 heures car il est bien connu qu'une conservation trop longue du lait à basse température favorise le développement de sa flore psychrotrophe (Chatelin et Richard, 1981).

Une étude faite dans les années 70 a montré que le taux de contamination des tanks de stockage était moins important que dans la machine à traite (Drucea et Thomas, 1972). L'effet de la température et la durée de conservation du lait sur la croissance des germes est rapportée dans le tableau 3 (Walstra et *al*, 1999).

Tableau 3 : Effet de la température sur le comptage microbien après 24h et sur sa durée de conservation (comptage initial = $2,3 \cdot 10^3$ germes/ml) (Walstra et *al*, 1999).

Température de conservation (°C)	Comptage après 24 h (UFC/ml)	Durée de conservation (h)
4	$2,5 \cdot 10^3$	>75
10	$1,2 \cdot 10^4$	30
15	$1,8 \cdot 10^5$	19
20	$4,5 \cdot 10^6$	11
30	$1,4 \cdot 10^9$	5

II.2.4. Contamination au cours du transport

La collecte et le transport se font grâce à des camions-citernes réfrigérés qui récoltent régulièrement le lait dans les fermes. Ils doivent respecter un certain nombre de règles légales afin de livrer un lait de bonne qualité, notamment par le maintien du lait au froid qui a pour but d'arrêter le développement des microorganismes. Il constitue un traitement de stabilisation (Weber, 1985). Une altération de la qualité au cours du transport par une mauvaise réfrigération, peut avoir un impact grave sur la qualité du lait et engendrer des pertes financières importantes (Jakob et *al.*, 2011).

Plusieurs facteurs peuvent être incriminés dans la contamination du lait au cours du transport :

- Le temps de transport quand il est prolongé de 4 à 6h peut être la cause de la prolifération microbienne comme il a déjà été démontrée par Mc Larty et *al.* (1968) ; Franklin (1969).
- Les laits collectés en bidons non réfrigérés dépassaient souvent 10^6 germes/ml comparés à ceux transportés par des citernes spécifiques avec des taux inférieurs à 50 000 germes/ml (Chilliard et Lamberet, 1984).

II.2.5. Autres facteurs

Les microorganismes présents dans le lait proviennent d'une contamination par le milieu extérieur et plus particulièrement de l'environnement (fourrages, paille, litière, fèces, terre, qualité de l'eau, poussières, l'air et les insectes...etc.) (Croguennec *et al.*, 2008). La qualité hygiénique du lait cru est étroitement liée aux conditions d'élevage et en particulier, du niveau d'hygiène (Agabriel *et al.*, 1995 ; Agabriel *et al.*, 2001) :

a. Eaux

L'eau est un vecteur important de maladies telles que le choléra, la leptospirose, les hépatites et la poliomyélite. La qualité de l'eau utilisée pour le lavage des bidons de ramassage du lait est donc importante (Meyer et Denis, 1999). La température de l'eau de lavage, sa dureté et sa qualité microbienne influencent l'efficacité du lavage (Vignola, 2002), par conséquent, cette composition chimique doit être définie pour pouvoir choisir les détergents, les désinfectants et leurs concentrations (Dubeuf, 1995).

b. L'alimentation

Les pâturages représentent la source alimentaire fourragère la plus sensible en raison de l'épandage de matières organiques non assainies (Carter *et al.*, 1983).

Les concentrés et les céréales sont susceptibles d'introduire des sérovars « exotiques » dans les élevages (Williams, 1975).

Comme la paille, le foin contient des populations de moisissures et d'actinomycètes comprises entre 10^4 et 10^5 UFC/g (Reboux *et al.*, 2001). Parmi les flores utiles, les bactéries corynéformes (10^3 à 10^7 UFC/g) et les levures (10^3 à 10^6 UFC/g) étaient bien représentées alors que les bactéries lactiques l'étaient beaucoup moins (Bouton *et al.*, 2007).

Jose et Bigras-Poulin (1999), rapportent que 9.8 % des aliments consommés par les bovins aux Etats-Unis étaient contaminés par *Salmonella spp.*

c. Litières

Différents matériaux tels que la paille, la sciure, les copeaux de bois, le sable ou le papier peuvent être utilisés comme litière. Des différences de niveaux de populations microbiennes ont été mises en évidence selon la nature de la litière utilisée (Dubeuf, 1995). Ainsi, Rendos *et al.* (1975) ont montré que la paille présentait des niveaux en streptocoques et staphylocoques de 10 à 100 fois supérieurs à ceux dénombrés sur la sciure ou les copeaux de bois.

Le tableau 4 montre les niveaux moyens des populations microbiennes dénombrées sur trois types de litières) utilisées par des vaches laitières.

Tableau 4 : Niveaux moyens des populations microbiennes (en log₁₀ UFC/g) dénombrées sur trois types de litières (9 observations/type de litière) utilisées par des vaches laitières (Rendos et *al.*, 1975).

Nature de la Litière	Coliformes totaux	Streptocoques	Staphylocoques
Sciure	7,72	7,04	8,49
Copeaux de bois	6,82	6,93	7,69
Paille	6,49	7,72	9,34

d. L'air, la poussière et les insectes

L'air et la poussière peuvent contenir un grand nombre de particules microbiennes en suspension qui, par conséquent, peuvent contaminer les produits élaborés (Marc et *al.*, 1990).

Les insectes, surtout les mouches, peuvent poser de sérieux problèmes de contamination par propagation des germes et virus une étude effectuée en Israël pour évaluer le rôle des mouches en tant que vecteur passif de *Corynebacterium pseudotuberculosis* dans les élevages laitiers, la bactérie a été isolée chez des mouches communes vivant en liberté qui s'étaient nourries sur les tissus lésés d'une vache (Braverman et *al.*, 1999).

II.3. Principales activités des micro-organismes dans le lait

Les bactéries de la flore du lait sont susceptibles d'altérer cet aliment par trois processus principaux pouvant, selon les conditions, être plus ou moins associés (Leyrel et Vierling, 2007).

II.3.1. Fermentation

Un tel processus conduit à la coagulation de la caséine et à la prise en masse du lait (Leyrel et Vierling, 2007). L'acidification du lait se traduit par une production d'acide lactique à partir du lactose par les ferments lactiques lors de leur croissance. Selon la température du lait et les bactéries impliquées, le phénomène de coagulation sera plus ou moins rapide et les bactéries intervenant sont différentes : *Streptococcus lactis* de 10°C à 37°C, *S. thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* au-dessus de 37°C (Conte, 2008).

II.3.2. Protéolyse

Au cours de leurs activités métaboliques, certains micro-organismes, grâce à l'action de leurs protéases, dégradent des fractions protéiques du lait. Ce phénomène produit la libération de sous-produits très variés, dont des peptides à longue ou courte chaîne à l'origine des goûts amers, des saveurs non désirées et atypiques ou de textures inadéquates des fromages contaminés. Les germes incriminés sont *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* ainsi que d'autres germes de la flore banale à Gram négatif (Vignola, 2002 ; Guiraud, 2003).

II.3.3. Lipolyse

La lipolyse est une réaction enzymatique de dégradation de la matière grasse qui se traduit dans le lait par une augmentation de la teneur en acides gras libres. Au-delà de certains seuils, cette augmentation peut provoquer l'apparition de défauts de goûts (rance, savon) dans les produits laitiers (Heuchel et *al.*, 2003). Elle est favorisée par un long stockage à basse température (Bourgeois et *al.*, 1996). De nombreuses espèces psychrophiles protéolytiques sont aussi lipolytiques et dégradent les globules graisseux du lait, c'est le cas de certains *Pseudomonas*, de *Bacillus cereus* (Leyrel et Vierling, 2007).

II.4. Mesures préventives contre la contamination du lait cru

La qualité du lait est un tout qui ne doit pas présenter de discontinuité. Elle commence au niveau du cheptel (état de santé des animaux, alimentation, hygiène de traite...) en passant par la conservation du lait et les conditions de stockage et de transformation (Pradal, 2012).

Actuellement, la maîtrise des bactéries pathogènes dans le lait et les produits dérivés nécessite la mise en place de systèmes de contrôle et de surveillance qui s'appuient sur une réglementation devenue maintenant européenne. Les moyens de prévention doivent prendre en compte les données désormais bien connues de la microbiologie prévisionnelle en matière de lait et de produits laitiers (Jakob et *al.*, 2011).

II.4.1. La santé de l'animale

Les animaux du cheptel doivent donc être en bonne santé afin de produire du lait sain et de bonne qualité. Ainsi, ils ne doivent présenter aucun symptôme de maladies contagieuses transmissibles à l'homme et ne doivent pas avoir été traités avec des substances dangereuses pour la santé de l'homme (Fredot, 2006).

II.4.2.L'hygiène du bâtiment

Selon Vignola (2002), la réduction des risques de contamination du lait nécessite :

- La construction de l'étable et de la laiterie doit respecter les exigences réglementaires.
- La ventilation de l'étable doit permettre de garder le bâtiment salubre et assure le confort des vaches.
- On doit prévoir pour la laiterie et la vacherie une alimentation en eau en provenance d'un réseau d'eau potable non seulement pour abreuver les vaches mais aussi pour garantir un lavage efficace des équipements.

Selon (Braverman et *al.*, 1999), la laiterie ne doit servir qu'à l'entreposage du lait, des équipements servant à la traite et des produits de lavage.

II.4.3.L'alimentation

Elle doit être abondante, saine et bien équilibrée pour obtenir un lait riche en protéines, en matières grasses et sans matière toxique (Pradal, 2012).

II.4.4.L'hygiène de la traite

L'utilisation de pratiques hygiéniques pendant la traite est une des étapes primordiales pour une production laitière saine (Chatelin et Richard, 1981). Pour cela il faut veiller à :

Selon Boudier et Luquet (1978), un nettoyage correct de la mamelle effectué avant la traite est donc indispensable pour obtenir un lait de bonne qualité microbiologique. Deux méthodes peuvent être conseillées pour y parvenir :

- La première consiste à réaliser un nettoyage à sec du pis à l'aide de serviettes en papier ou en polyester et à usage unique.
- La seconde méthode consiste à laver la mamelle avec une solution désinfectante tiède (chlore : 500 mg/l - iode : 75 mg/l), puis à la sécher avec une serviette propre à usage multiple ou mieux à usage unique.

Selon Vignola (2002) :

- Les personnes effectuant la traite des vaches ou manipulant le lait doivent être exemptes de maladie contagieuse et ne pas être porteuses de germes pathogènes.
- Le trayeur doit se laver les mains, et mieux encore, porter des gants jetables.
- La machine de la traite doit être bien réglée et contrôlée périodiquement.

Les premiers jets de lait obtenus lors de la traite doivent être éliminés car le canal du trayon est toujours contaminé, même chez un animal sain (Pougheon et Goursaud, 2001).

II.4.5. Le refroidissement du lait

Le lait reçu de la ferme, s'il est conservé plus d'une heure, doit être immédiatement refroidi à 4°C afin de ralentir le développement des micro-organismes. Cela dit, le froid n'améliore pas la qualité bactériologique du lait, il ne fait que la conserver (Portmann, 1955). Cependant cette conservation ne doit pas dépasser les 48 heures (Chatelin et Richard, 1981).

III.1. Généralité sur le lait fermenté

III.1.1. Définition du lait fermenté

D'après Fredot (2006), la dénomination lait fermenté est réservée au produit laitier préparé avec des laits écrémés ou non ou des laits concentrés ou en poudre écrémés ou non sous forme liquide. Ils pourront être enrichis avec des constituants tels que la poudre de lait ou les protéines de lait. Le lait subit alors un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation et estensemencé avec des microorganismes caractéristiques de chaque produit.

La coagulation des laits fermentés ne doit pas être obtenue par d'autres moyens que ceux qui résultent de l'activité des microorganismes qui sont pour la plupart du pro-biotique, c'est-à-dire bénéfique pour la santé (Vierling, 2008).

III.1.2. Composition et propriété physico-chimique du lait fermenté

La fermentation du lait par des micro-organismes particuliers induit des changements dans le goût, la texture, la couleur, la saveur, et les propriétés nutritives du lait (Duboc et Mollet, 2001).

La composition chimique du lait fermenté est variable, elle dépend des localités, des régions, des fermes, de la composition chimique du lait cru de départ et de la procédure de fabrication (El Baradei *et al.*, 2008). Le métabolisme microbien produit des composés carbonylés volatils qui participent à la richesse aromatique du raïb et du l'ben (acétaldéhyde (éthanal), diacétyl, l'acétoïne). Dans le l'ben, ces composés volatils sont associés à la présence d'alcool (éthanol) à une concentration significative susceptible de contribuer à l'arôme typique du l'ben, pourtant, sa concentration est trop faible pour donner un goût alcoolique au produit (Tantaoui-Elaraki et El Marrakchi, 1987).

La fermentation du lactose augmente l'acidité titrable dans le « L'ben » à plus de 0.60 % d'acide lactique, par conséquent le pH et le lactose baissent respectivement au-dessous de 4.7 et 3.7 g 100.g-1. Généralement, Les valeurs moyennes pour les principaux constituants sont les suivantes : pH : 4.2 ; acidité titrable : 8.2 g en acide lactique ; graisses : 8.9 g/l ; protéines totales : 25.6 g/l ; lactose : 26.9 g/l et matière sèche totale : 89 g /l (Tantaoui-Elaraki *et al.*, 1983b).

III.1.3. La microbiologie du lait fermenté

La flore microbienne du l'ben dépend de la microbiologie du lait cru de départ (El Baradei et *al.*, 2008). Le lait cru utilisé pour fabriquer le l'ben contient une flore microbienne abondante et complexe qui comporte des bactéries lactiques mais aussi des micro-organismes indésirables (Hanchi et *al.*, 2009).

III.1.3.1. La flore lactique

III.1.3.1.1. Définition

Le groupe des bactéries lactiques, a été défini pour la 1^{ère} fois par Orla-Jensen (1919) réunit plusieurs genres caractérisés par leurs capacités à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (Novel, 1993). Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (De Roissart, 1986).

Un ferment lactique est une préparation comprenant un grand nombre de micro-organismes (une seule espèce ou plusieurs), qui est ajoutée au lait pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son processus de fermentation (Yildiz, 2010 ; Leroy et De Vuyst, 2004).

III.1.3.1.2. Classification des ferments lactiques

Les bactéries lactiques se classent en général selon deux critères :

III.1.3.1.2.1. Type de fermentation

Selon De Roissart et Luquet (1994), les bactéries lactiques sont divisées en deux groupes, en se basant sur la voie empruntée et le produit final de la fermentation.

La figure 3 donne les deux voies de la dégradation du glucose par les bactéries lactiques.

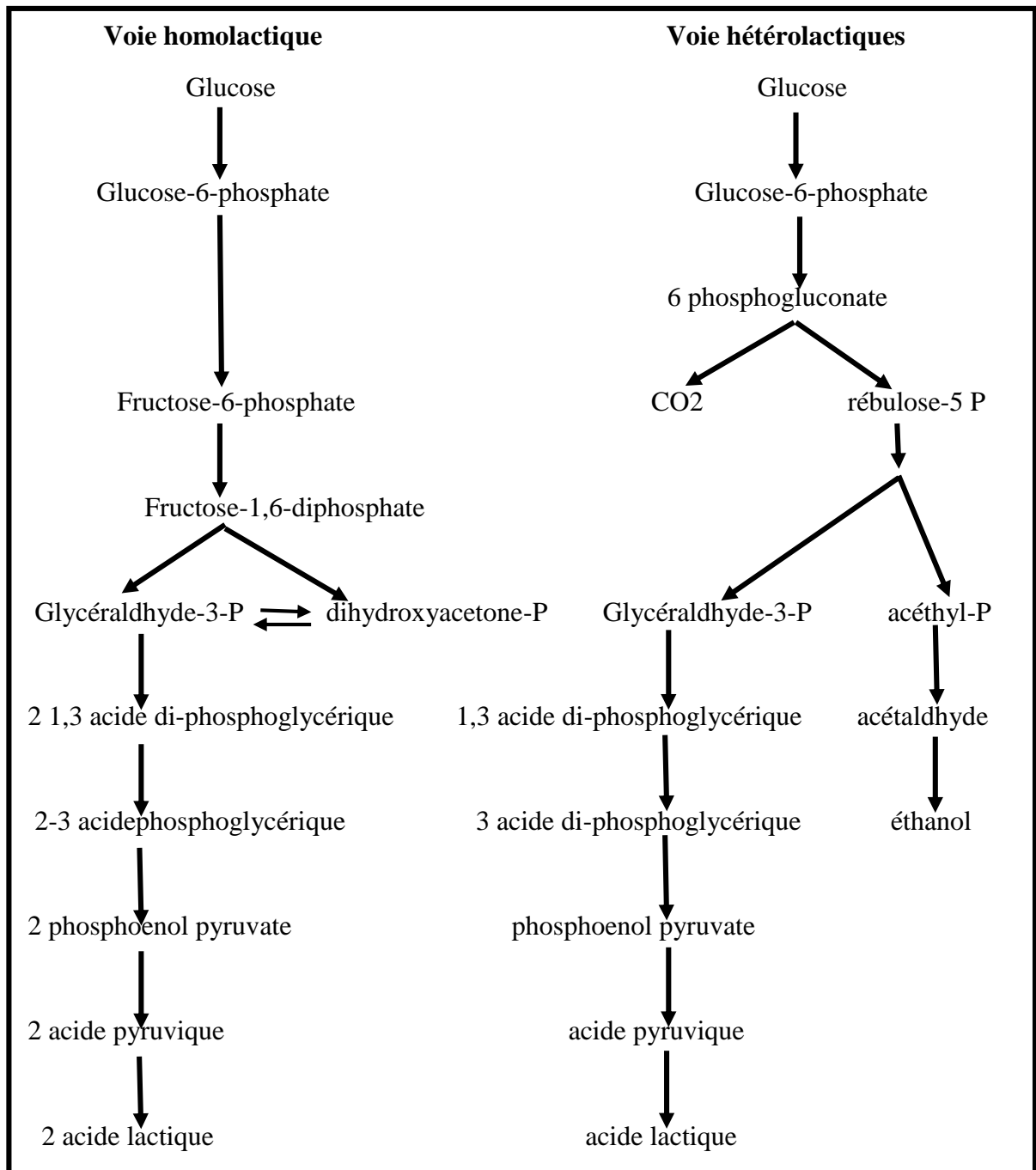


Figure 3 : Dégradation du glucose par les bactéries lactiques (De Roissart et Luquet, 1994).

III.1.3.1.2.2. Température de croissance

Selon la température optimale de croissance présentée dans le tableau 5, nous avons (Dellaglio et al., 1994) :

- Les bactéries thermophiles : qui sont des bactéries dont la température optimale de croissance est supérieur à 40°C.
- Les bactéries mésophiles : qui sont des bactéries dont la température optimale de croissance entre 20°C et 37°C.

Tableau 5 : température optimale de croissance des bactéries lactiques (Dellaglio et *al.*, 1994).

Genres des bactéries	Température de croissance
Leuconostoc	18-35°C
Lactococcus	27-32°C
Lactobacillus mésophile	30-35°C
Streptococcus thermophile	42-43°C
Lactococcus thermophile	40-45°C

III.1.3.1.3. Caractéristiques des différents genres des ferments lactiques

Selon Sutra et Fedirighi (1998), les ferments lactiques, comportent quatre genres principaux : *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*.

III.1.3.1.3.1. Leuconostoc

Les cellules de *Leuconostoc* sont des coques en paires ou en chaînes comme les streptocoques, mais ces bactéries sont hétérofermentaires (Novel, 1993). Deux espèces prédominent : *Leuc. dextranicum* et *Leuc mesentroides* (Leyral et Vierling., 2007). Les *Leuconostoc* (*lactis*, *cremoris*, *dextranicum*) ne sont pas nuisibles, mais rendent les denrées répugnantes pour le consommateur (Sutra et Fedirighi, 1998).

III.1.3.1.3.2. Lactobacillus

Agents de fermentation très utilisés en laiterie, les lactobacilles peuvent acidifier le lait jusqu'à un pH inférieur à 3,5. Ils proviennent aussi bien des produits d'origine animale que végétale en fermentation (lait, ensilage). Le genre *Lactobacillus* peut être divisé en trois groupes : homofermentaires stricts, hétérofermentaires facultatifs et hétérofermentaires stricts (Schleifer et Ludwig, 1996). *Lac. bulgaricus* est utilisé dans la fabrication des laits fermentés, *Lac. casei* dans celle du fromage, *Lac. cremoris* dans celle de la crème et *Lac. lactis* dans celle du beurre. Ils peuvent jouer un rôle dans l'aromatization (Nannen et Huntkins., 1991).

III.1.3.1.3.3. Streptococcus

Il est constitué par des streptocoques homofermentaires. Ce sont des coques Gram positif asporulés, groupés par paires ou en courtes chaînes. Ces streptocoques jouent un rôle de conservateurs dans le lait. *S. thermophilus* est la seule espèce à intérêt industriel et nutritionnel du groupe *Streptococcus* (Dellaglio et *al.*, 1994).

III.1.3.1.3.4. Lactococcus :

Le genre *Lactococcus* correspond au groupe des streptocoques lactiques de Sherman (1937). Le *Lactococcus* est formé de bactéries à Gram positif dont les cellules, en forme de coques, sont associées par paires ou en chaînettes de longueur variable. Elles sont dépourvues de catalase et ne sont pas capables d'utiliser l'oxygène mais se multiplient en sa présence (anaérobies aérotolérantes) (El-Ghaish et *al.*, 2011). La principale espèce est *Lc. lactis*. Parmi, les *Lc. Lactis* sp., deux sous espèces et un biovariant prédominant en fermentation laitière : *Lc. Lactis* subsp. *Lactis* (*Lc. lactis*), *Lc. Lactis* subsp. *Cremoris* (*Lc. cremoris*) et *Lc. Lactis* subsp. *Lactis* biovar. *Diacetylactis* (*Lc. diacetylactis*). Les souches sont sélectionnées pour leur aptitude à acidifier le lait, à travers leur métabolisme homofermentaire, et former des arômes (Sherman, 1937).

III.1.3.1.4. Le rôle des ferments lactiques

Ce sont des germes qui conditionnent l'évolution ultérieure du lait. Ils jouent un rôle important :

- Ils possèdent un pouvoir inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes pathogènes ou d'altération (Larpen, 1997).
- L'impact sur la qualité du produit est fortement dépendant de la souche utilisée et varie entre les souches selon leurs activités et voies métaboliques (Hylckama et Huguenot, 2007).
- Les ferments contribuent également aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sensorielles des produits et à leur sûreté (Dortu et Thonart, 2009).
- Ils accroissent la qualité marchande du lait caillé par une fermentation lactique aromatisante (Badis et *al.*, 2005).

III.1.3.2. La flore pathogène

Sous l'action des bactéries lactiques fermentaires, l'acidification du lait permet une protection contre le développement de la flore pathogène (Sakho et Crouzet, 2009). Cependant, les conditions de production du lait fermenté ne respectant pas les règles d'hygiène, le risque de prolifération des microorganismes pathogènes, causes des intoxications alimentaires, peut être élevé (Katinan et *al.*, 2012).

III.1.4. Intérêt nutritionnel des laits fermentés

Selon Festy (2009), le lait fermenté n'a que des avantages par rapport au lait :

- Il est nettement plus digeste.
- Il favorise l'assimilation du calcium. L'intestin en absorbe 67 % s'il s'agit de lait fermenté, contre 44% seulement pour le lait «normal».

- La fermentation facilite la digestion des protéines, multiplie par 3 à 10 la teneur en vitamine B9.
- En consommant du lait fermenté, on augmente de manière conséquente les teneurs en vitamine B1 dans l'organisme, car les ferments favorisent l'activité de la flore intestinale préposée à la production de cette vitamine.

III.2. Le l'ben

III.2.1. Définition du l'ben

Le l'ben est un produit laitier connu et consommé au Maroc et en Algérie depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Cependant, au cours de la dernière décennie, la consommation des produits laitiers traditionnels en général, s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le l'ben à partir du lait cru selon des procédures artisanales. A côté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi industrielles se sont aussi intéressées à la fabrication du l'ben utilisant du lait soit cru, soit pasteurisé et des procédures de préparation plus ou moins améliorées (Hanchi et *al.*, 2009).

Le l'ben apporte tous les intérêts nutritionnels du lait (protéines, calcium, vitamines) associés au bon goût de la fermentation. L'ben est un produit frais, il est à déguster en dehors ou en cours des repas, en accompagnement des plats orientaux typiques, comme le couscous (Benkerroum et *al.*, 2000).

III.2.2. Les procédés de fabrication

III.2.2.1. L'ben traditionnel

La préparation traditionnelle du l'ben débute par la coagulation en Raïb (pendant 24 à 72 h selon la saison), il subit après un barattage et un écrémage dans une peau de chèvre ou de brebis Chekoua. La peau de l'animal non fondue est tannée puis confectionnée sous forme de sac imperméable par nouaison des différentes ouvertures. L'ouverture du cou de l'animal constituera le col ou la bouche de la Chekoua (Ouadghiri, 2009).

L'écémage est réalisé généralement le matin ; la Chekoua est remplie à moitié de Raïb puis tendue par gonflement. Ensuite, la Chekoua est bien nouée et secouée vigoureusement durant une demi-heure. La formation des globules gras (beurre) est jugée par le changement du son qui se produit à l'intérieur de la Chekoua, pour aider l'agglomération des particules du beurre (Tantaoui-Elaraki et *al.*, 1983b).

A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), chaude ou froide, suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de

l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre ; produit de grande valeur marchande (Tantaoui-Elaraki et *al.*, 1983a).

III.2.2.2. L'ben industriel

III.2.2.2.1. Définition

Le l'ben industriel est obtenu à partir d'une fermentation lactique d'un lait cru ou écrémé. Il estensemencé par des ferments mésophiles, composés de souches acidifiantes et des souches aromatisantes. C'est une boisson rafraîchissante (Ouadghiri, 2009).

III.2.2.2.2. Processus de fabrication

Selon FAO (1995), le lait à la fabrication du l'ben subit une opération d'écémage. C'est une opération dans laquelle la matière grasse est séparée du lait qui donne deux produits : le lait écrémé et la crème.

La fabrication du lait fermenté « L'ben » comprend les étapes suivantes :

- Il est préparé de lait le plus souvent partiellement ou totalement écrémé. Dans les pays où la production laitière est faible, on utilise fréquemment du lait reconstitué (1 kg de lait écrémé pour 10 l d'eau) ;
- après pasteurisation et dégazage éventuel, le lait est refroidi à 20-22 °C etensemencé au moyen de 2,5 à 3% d'une culture de bactéries lactiques mésophiles ;
- la fermentation se poursuit pendant 18 à 20h environ jusqu'à coagulation et obtention d'une acidité de 0,65 à 0,70% d'acide lactique. Le caillé est alors plus ou moins finement divisé et brassé en même temps qu'il est refroidi vers 4-5 °C. Il est ensuite mis en conditionnement de vente ou vendu en vrac.



*Partie
expérimentale*

La présente étude a porté sur la recherche des pathogènes dans le lait cru et lait fermenté (l'ben) dans la région de Blida. Pour répondre à cet objectif nous avons opté pour la recherche et la caractérisation de trois germes pathogènes, à savoir :

- Les salmonelles.
- Les staphylocoques.
- *Escherichia coli*.

I. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cadre de l'étude

L'étude a été menée durant la période s'étalant d'avril à juin 2015. Les analyses bactériologiques ont été réalisées au laboratoire de recherche de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université Blida 1. L'identification des salmonelles et le sérogroupage des *Escherichia coli* ont été réalisés au laboratoire « d'Entérobactérie » de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), Annexe Dély Brahim (Alger).

I. MATÉRIEL

I.1. Prélèvements

Notre étude a porté sur 71 échantillons de lait de tank (mélange) et de lait fermenté (L'ben) répartis selon le tableau 6. Les prélèvements du lait de tank de vaches et de chèvres, ont été effectués avec la participation des collecteurs de lait cru de la région de Blida. Pour le l'ben nous avons acheté nos échantillons au niveau des crèmeries.

Tableau 6 : La distribution des prélèvements

Nature des Echantillons	Origines	Lieux	Nombre d'échantillons
Lait	Vache	Elevages	38
	Chèvre	Elevages	6
Lait fermenté (L'ben)	Vache ou reconstitué	crèmeries	27

I.2. Conditionnement

Le lait est prélevé dans des pots stériles d'une capacité de 60 ml, étiquetés et numérotés, accompagnés d'une fiche de renseignement portant le nom du propriétaire, de la localité et de la date du prélèvement.

Certains de ces prélèvements ont été congelés par contrainte imposée car ils doivent être traités en début de semaine.

I.3. Acheminement

A partir du moment où le prélèvement est réalisé, les échantillons de lait ou l'ben sont stockés et acheminés dans une glacière (à 4°C) au laboratoire.

I.4. Matériel non biologique

I.4.1. Kit de Séparation Immunomagnétique (IMS) (Invitrogen Dynal Norway)

Nous avons utilisé le kit Dynabeads anti-*E. coli* O157 comportant :

- Le dispositif Dynal MPC-M comportant un portoir muni d'une paroi à aimant concentrateur.
- Le réactif Dynabeads anti *E. coli* O157 (billes en polystyrène uniformes, paramagnétiques, liées de façon covalente à une combinaison d'anticorps purifiés par affinité spécifique à *E. coli* O157).

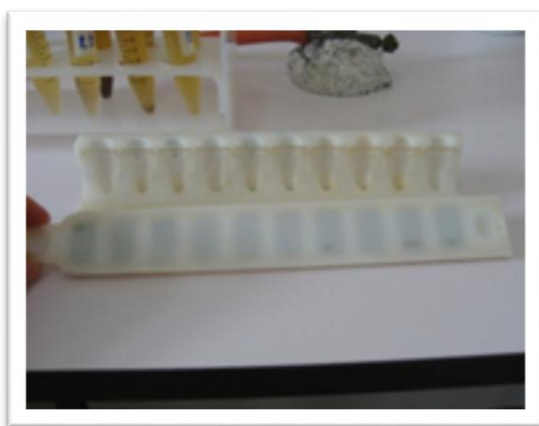


Figure 04 : Dispositif Dynal MPC-M (Photo originale).



Figure 05 : Réactifs Dynabeads anti-*E. coli* O157 (Photo originale).

I.4.2. Galeries biochimiques

Nous avons utilisé :

- Les galeries biochimiques type API 20^E (Bio Merieux) : Système d'identification des *enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif.
- Les galeries biochimiques type API Staph (Bio Merieux).

I.4.3. Kits de Séro-agglutination

Nous avons utilisé les antisérums d'EPEC (BIO RAD) qui contient :

- Un réactif monovalent d'*E. coli* O157 :H7.
- Un réactif nonavalent.
- 1er mélange trivalent : O111 ; O55 ; O26.
- 2ème mélange trivalent : O86 ; O119 ; O127.
- 3ème mélange trivalent : O125 ; O126 ; O128.
- Neuf réactifs monovalents



Figure 06 : Antisérums EPEC “Nona-valent, Trivalent et Monovalent” (Bio-Rad)
(Photo originale).

I.4.4. Petit matériel et équipements de laboratoire

Nous avons utilisé les équipements du laboratoire de microbiologie qui sont rapportés en annexe III.

II. MÉTHODES

II.1. La recherche des salmonelles

Dans le présent travail nous avons choisi la norme **AFNOR V08-052** relative à la Méthode de routine pour la recherche des Salmonelles.

J1. Pré-enrichissement

Le pré-enrichissement a pour but de revivifier les cellules de façon à faciliter la culture dans le bouillon d'enrichissement.

A l'aide d'une pipette graduée stérile, prélever 25 ml de l'échantillon et l'introduire dans un flacon numéroté contenant 225ml d'EPT (Eau peptonée tamponnée). Mélanger et incuber à 37 °C pendant 24 h.

J2. Enrichissement

Le milieu d'enrichissement SFB (Bouillon au sélénite acide de sodium) est un milieu sélectif qui permet l'inhibition du gram positif.

A partir du milieu de pré-enrichissement, porter aseptiquement 1ml dans un tube contenant le SFB avec l'ajout d'un disque SFB, incuber 37°C pendant 24 h.



Figure 07 : Virage du milieu SFB après incubation 24h (Photo originale).

J3. Isolement

Les tubes incubés feront l'objet d'un isolement sur gélose Hektoen. Déposer une goutte de l'enrichissement et ensemencer par stries d'une façon à permettre le développement de colonies bien distinctes. Incubez les boîtes de pétri à 37°C pendant 24 h.

J4. Lecture

Après 24 heures, les colonies isolées sur la gélose Hektoen présentant les caractéristiques macroscopiques des salmonelles (colonies avec une coloration verdâtres ou bleuâtres avec ou sans centre noir (le centre noir indique la production d' H_2S)).

Purification

A partir des boîtes de l'isolement, nous avons prélevé une colonie caractéristique. Cette colonie a été ensemencée sur une gélose Hektoen et mise en incubation à 37°C pendant 24h.

Identification

Après purification des souches suspectes sur gélose Hektoen incubées à 37°C pendant 24 h. A partir des cultures pures, nous avons réalisé systématiquement une orientation de l'identification par la mini galerie (Coloration de gram, Oxydase, ONPG, TSI, Urée Indole, Citrate de Simmons).

A. Identification préliminaire par Mini galerie

a. Coloration de Gram

- Après avoir réalisé le frottis le fixer à la chaleur.
- Réalisation de la coloration :
 - Coloration par le violet de gentiane : laissez agir de 30 secondes à 1 minute ;
 - mordantage au lugol : laissez agir le même temps que le violet de gentiane ;
 - décoloration (rapide) à l'alcool : versez goutte à goutte l'alcool et laissez agir 30 secondes puis rincez abondamment avec de l'eau ;

- recoloration à la fuchsine : laissez agir 1 minute. Lavez doucement à l'eau puis séchez la lame ;
- observez à objectif grossissement ($\times 100$) avec l'huile à immersion.

Les bactéries observées sont des bacilles à Gram négatifs (de couleur rose) isolée et en diplobacilles.

b. Recherche de l'oxydase

Déposer sur une plaque d'oxydase (DrySlide™, Becton Dickinson) un fragment de chaque colonie à tester et lire immédiatement la réaction. S'il n'y a pas de changement de couleur, la bactérie appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*.



Figure 08 : Test de l'oxydase (Photo originale).

c. Milieu Tri Sugar Iron (TSI)

Principe

La fermentation du glucose provoque une acidification du culot ce qui entraîne un virage au jaune de l'indicateur coloré. Cette dégradation du glucose peut s'accompagner d'un dégagement gazeux se traduit par la formation des bulles d'air ou par décollement de la gélose.

La fermentation du lactose et du saccharose provoque une acidification de la pente ce qui entraîne un virage au jaune de l'indicateur coloré.

Technique

Ensemencer, à l'aide d'une pipette pasteur, le milieu en tube par piqûre centrale et la pente par stries. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

- Le changement de couleur du culot au jaune traduit par la fermentation du glucose.

- Le changement de couleur de la pente au jaune traduit par la fermentation du saccharose et du lactose.
- L'absence de précipité noir traduit une non production d' H_2S .
- La présence de bulles d'air et/ou de fissures dans le milieu traduit par la production du gaz.

d. Bouillon Urée-Indole

Principe

Le milieu Urée-Indole est un milieu synthétique qui permet en 24h de réaliser 3 tests : l'uréase, l'indole et TDA dans 3 tubes différents. Ces tests interviennent dans l'identification des entérobactéries.

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée en carbonate d'ammonium (CO_3NH_4) ce qui provoque une alcalinisation du milieu.

La Tryptophane désaminase (TDA) agit sur l'acide aminé tryptophane en donnant de l'indole qui réagit avec le réactif de Kovacs et la formation d'un anneau rouge.

Technique

Ensemencer, à partir d'une suspension bactérienne préalablement préparée le milieu en tube. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

- En premier lieu, vérifier s'il y a un changement de couleur qui traduit une uréase positive (couleur rouge).
- En deuxième lieu, répartir le milieu dans deux tubes distincts, puis :
 - Ajouter dans le premier tube quelques gouttes du réactif Tryptophane désaminase (TDA) et voir s'il y a apparition d'une coloration brune traduisant une réaction positive.
 - Ajouter dans le second tube quelques gouttes du réactif de Kovacs et voir s'il y a apparition d'un anneau rouge traduisant une réaction positive.

e. Citrate de Simmons

Principe

Seules les bactéries qui sont capables d'utiliser le citrate comme unique source de carbone, de telles bactéries peuvent se développer sur des milieux synthétiques dont la seule source de carbone est constituée par le citrate comme le milieu de « Citrate de Simmons ». Cette croissance s'accompagne d'une libération d'ammoniaque avec alcalinisation du milieu révéler par le bleu de bromothymol.

Technique

Ensemencer, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, le milieu en tube incliné par des stries séries. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

- Si le citrate est utilisé, le milieu vire au bleu (réaction positive).
- S'il n'est pas utilisé, le milieu reste vert (réaction négative).

f. Réaction ONPG**Principe**

La libération d'Ortho- nitrophénol dans la suspension initiale incolore, indique la présence de β -galactosidase bactérienne ce qui entraîne l'apparition d'une coloration jaune.

Technique

Introduire un disque d'ONPG dans 3 ml de la suspension bactérienne et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

L'apparition d'une coloration jaune se traduit par une réaction positive.

Les souches suspectes ont été orientées au laboratoire de référence au niveau de l'institut Pasteur d'Alger pour identification biochimique par galerie API et éventuellement pour sérogroupage.

B. Identification biochimique avec galerie Api 20^E

- Préparation de la galerie ;
- Préparation de l'inoculum et ensemencement : réalisation d'une suspension bactérienne dans de l'eau distillée selon la densité correspondante (0,5 McFarland) ; procéder ensuite à l'ensemencement et suivre les étapes prescrites dans la notice accompagnant les galeries utilisées ;
- Incubation à 37°C pendant 24h ;
- Lecture de la galerie :
 - Lecture macroscopique des puits de la galerie.
 - Lecture numérique à l'aide d'un catalogue analytique : rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

II.2. La recherche des staphylocoques

Nous avons utilisées la méthode de routine pour la recherche de staphylocoques par enrichissement.

J1. Enrichissement

Au moment de l'utilisation, rajouter au milieu de Giolitti Cantoni 15 ml de la solution de Tellurite de potassium. Mélanger soigneusement le milieu et l'additif. Prélever 1 ml de l'échantillon le déposer dans des tubes à vis stériles numérotés. Ajouter 15 ml de milieu Giolitti Cantoni homogénéiser le milieu et l'inoculum et incubé à 37°C pendant 24h.

J2 : Lecture

Les tubes ayant virés au noir sont présumés positifs (figure 12).



Figure 09 : Virage du milieu de Giolitti Cantoni après incubation 24 h (Photo originale).

Isolement

Ces tubes positifs font l'objet d'un isolement sur gélose Chapman, (préalablement coulé, solidifié, refroidie et convenablement séché en boîtes de Pétri) par ensemencement en stries. Incuber 37°C pendant 24 à 48 h.

J3. Lecture

Trois types de colonies peuvent être isolés :

- Celles apparaissant de couleur doré avec un virage du milieu vers le jaune qui se caractérisent par la fermentation du Mannitol (Mannitol positive).
- Des colonies de couleur doré sans virage du milieu qui se caractérisent par la non fermentation du Mannitol (Mannitol négative).
- Celles apparaissant de couleur blanchâtre sans virage du milieu qui se caractérisent par la non fermentation du Mannitol (Mannitol négative).

Purification

A partir des boîtes de culture, nous avons prélevé une colonie pour chaque type. Ces colonies ont été ensemencées sur une gélose Chapman et mise en incubation 37°C pendant 24h à 48h.

J4. Identification biochimique des staphylocoques

L'identification biochimique des Staphylocoques est basée essentiellement sur l'identification du genre par la recherche de la catalase et la coloration de Gram et l'identification de l'espèce *Staphylococcus aureus* sur la recherche de la coagulase libre et la fermentation du mannitol sur la gélose Chapman. Pour les colonies coagulase négative et les autres colonies mannitol négatif nous avons réalisé l'identification biochimique par galerie Api Staph.

a. Coloration de Gram

La technique (Cf. coloration de Gram des Salmonelles). Les bactéries observées sont des coques à Gram positifs. Elles sont groupées en diplocoques ou en amas sous forme de grappe de raisin de couleur violet.

b. Recherche de catalase

Principe

Mise en évidence de l'enzyme qui empêche l'accumulation de l'eau oxygéné H_2O_2 et qui aurait une action létale pour la cellule bactérienne. Ce test permet de différencier les colonies appartiennent au genre *Staphylococcus* de ce qui appartiennent au genre *Streptococcus*.

Technique

- Mettre une goutte d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 10 volumes sur une lame de verre ;
- prélever une fraction d'une colonie caractéristique avec une pipette pasteur et la déposer sur la goutte.

Lecture

On observe l'apparition de bulle d'air, c'est une catalase positive, les *Staphylococcus* sont catalase positive.

c. Recherche de la coagulase libre

Principe

Le plasma de lapin est utilisé pour la recherche de l'enzyme staphylocoagulase. Elle est capable de coaguler le plasma de lapin. Sa mise en évidence permet d'identifier l'espèce *Staphylococcus aureus*.

Nous avons utilisé le plasma obtenu à partir de sang frais de lapin centrifugé offert par nos confrères de l'institut vétérinaire de l'université de Blida

Technique

- Prélever une partie de chaque colonie sélectionnée et l'ensemencer dans un tube contenant 1 ml de plasma de lapin, incubé à 37°C.
- Examiner la coagulation du plasma à partir de 6h d'incubation. Ré-incuber et réexaminer de nouveau à 24 heures au plus tard.

Lecture

Le test est considéré comme positif lorsqu'on observe une prise en masse totale du plasma ou quelque fois un caillot moins compact. *Staphylococcus aureus* sont coagulase positive.

d. Identification biochimique

L'identification par galeries API Staph a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Préparation de la galerie ;
- préparation de l'inoculum et ensemencement : réalisation d'une suspension bactérienne dans le médium selon la densité correspondante ;
- procéder ensuite à l'ensemencement et suivre les étapes prescrites dans la notice accompagnant les galeries utilisées ;
- incubation à 37°C pendant 24h ;
- lecture de la galerie :
 - Lecture macroscopique des puits de la galerie ;
 - lecture numérique à l'aide d'un catalogue analytique : rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

II.3. La recherche d'*Escherichia coli*

II.3.1. Préparation du culot

La plupart des procédés connus utilisent une étape de centrifugation à concentrer les bactéries et les séparer de la masse du lait. La plupart utilise une série de traitements chimiques et enzymatiques couplés avec centrifugation pour séparer les bactéries cibles à partir de la majorité de la matrice de lait (Herman et *al.*, 1995 ; Mc Killip et *al.*, 2000).

Technique

- Centrifuger la quantité restante de l'échantillon (34 ml) à 6000 rpm pendant 10min ;
- éliminer la couche de matière grasse et le surnageant ;
- laver le culot obtenu avec du PBS à pH 7,4, vortexer puis centrifuger à 6000 rpm pendant 10min ; éliminer le surnageant, rajouter PBS et vortexer ;
- reprendre cette opération deux fois de suite ;
- ajouter au culot obtenu 1 ml de TSE, 100 µl de DMSO puis congeler.

II.3.2. Séparation immunomagnétique (IMS) : Selon la norme ISO 16654

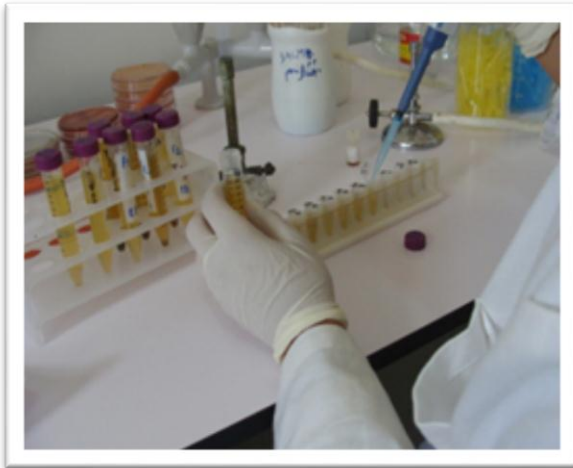
J1. Enrichissement

Ajoutez 15 ml du bouillon Trypticase soja au culot congelé et incubez à 37°C pendant 6 heures.

Immuno concentration (IMC)

- Charger le dispositif Dynal MPC-M avec les tubes Eppendorf identifiés ;
- transférer stérilement 15µl du réactif Dynabeads anti-*E. coli* O157 dans chaque tube Eppendorf ;

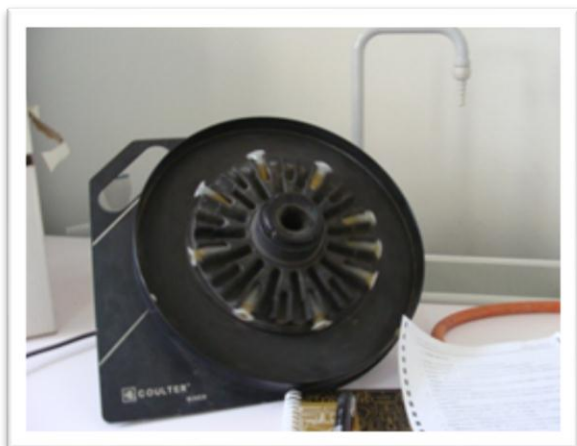
- ajouter 1ml de la suspension mère pré-enrichie dans chaque tube Eppendorf puis vortexer ;
- placer les tubes Eppendorf dans le mixer Coulter et laisser sous agitation rotative lente pendant 30 minutes pour une bonne homogénéisation ;
- placer à nouveau les tubes Eppendorf dans le dispositif Dynal MPC-M et remuer pendant 2 à 3 minutes jusqu'à ce qu'une tache brune se forme sur la paroi des tubes ;
- vider aseptiquement le contenu des tubes sans léser la tache formée, ajouter 1ml du tampon de lavage PBS-Tween. Vortexer et remettre les tubes dans le dispositif Dynal MPC-M ;
- remuer à nouveau le dispositif Dynal MPC-M pendant 2 à 3 minutes jusqu'à ce qu'une autre tâche se forme sur la paroi, et éliminer le contenu ;
- répéter les opérations 6 et 7 ;
- débarrasser le dispositif Dynal MPC-M de sa paroi à aimant et rajouter dans chaque tube Eppendorf 100 μ l de tampon PBS-Tween, puis vortexer ;
- la suspension de complexe billes-bactéries ainsi obtenue servira pour l'isolement sur la gélose



Mac conkey sorbitol (SMAC).

a : Transfert de suspension mère pré-enrichie

b : Homogénéisation



c : Mixage

d : Phase de concentration

Figure 10 : Étapes de l'immuno-concentration (photos originales).

Isolement

Prélever stérilement 60µl et 40µl de la suspension obtenue, étaler respectivement sur deux boîtes de gélose SMAC et mettre en incubation à 37°C pendant 24h.

J2. Lecture

Deux types de colonies peuvent être isolées : celles apparaissant de couleur rougeâtre qui se caractérisent par la fermentation du sorbitol (Sorbitol positive) et celles apparaissant de couleur blanchâtre qui se caractérisent par la non fermentation du sorbitol (Sorbitol négative).

Purification

A partir des boîtes de culture, nous avons prélevé pour purification :

- Trois colonies à partir des boîtes ne comportant qu'un seul type de colonie (soit sorbitol positive, soit sorbitol négative).
- Trois colonies de chaque type (sorbitol positive et sorbitol négative) à partir des boîtes comportant les deux types de colonies.

Il est à noter que chaque colonie a étéensemencée sur une boîte de gélose SMAC et mise en incubation à 37°C pendant 24h.

J3. Identification

A partir de chaque boîte de culture (culture pure), nous avons réalisé systématiquement :

- Une orientation de l'identification par la coloration de Gram et la recherche d'oxydase suivie d'une identification biochimique préliminaire au moyen d'une mini galerie (TSI, ONPG, Urée-Indole, VP, RM, Nitrate)
- Une identification biochimique au moyen de la galerie API 20^E.
- Une identification sérologique.

A. Identification préliminaire par mini galerie

Les tests de la coloration de Gram, la recherche d'Oxydase, TSI, Urée Indole et ONPG ont été décrits partie précédente (Cf. identification des salmonelles) auxquelles nous avons rajouté les tests suivants :

a. Bouillon Nitrate**Principe**

La Nitrate réductase est une enzyme qui permet la réduction des nitrates « NO_3 » en nitrites « NO_2 »

Technique

Ensemencer, à partir d'une suspension bactérienne préalablement préparée le milieu en tube. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

Après rajout de 5 gouttes du réactif Nitrate réductase (NR I) et 5 gouttes de (NR II), voir s'il y a apparition d'une coloration rouge traduisant une réaction positive.

b. Bouillon Clark et Lubs**Principe**

Cette étude consiste à différencier entre la fermentation acides mixtes et la fermentation butane diolique.

La réaction RM : Cette réaction permet de caractériser la fermentation des acides mixtes que ce soit en aérobiose ou en anaérobiose. On obtient à partir du plurivate des acides aminés à courtes chaînes qui provoquent l'alcalinisation du milieu.

La réaction VP : Cette réaction permet de caractériser la présence de fermentation butane diolique par la formation d'un composé intermédiaire « l'acétoïne ».

Technique

Ensemencer, à partir d'une suspension bactérienne préalablement préparée le milieu en tube. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

Répartir le milieu dans deux tubes distincts, puis :

- Ajouter dans le premier tube quelques gouttes du réactif Voges proskauer (VP I) et (VP II) et voir s'il y a apparition d'une coloration jaune traduisant une réaction négative ;
- ajouter dans le second tube quelques gouttes du réactif de Rouge de méthyl (RM) et voir s'il y a apparition d'une coloration rouge traduisant une réaction positive.

B. Identification biochimique avec galerie Api 20^E

Technique et lecture voir partie précédentes (Cf. Identification biochimique par galerie API 20^E des salmonelles).



Figure 11 : Inoculation de la galerie
(photo originale).



Figure 12 : Résultat après 24h
(photo originale).

C. Identification sérologique

Le sérotypage d'*E. coli* O157 et des EPEC (*E. coli* entéro-pathogènes) est réalisé grâce à une technique d'agglutination active directe sur lame, mettant en jeu les bactéries à tester avec différents anti-sérums d'*E. coli* O157 et des EPEC. Cette méthode a été réalisée au niveau de laboratoire « d'Entérobactérie » de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), Annexe Dély Brahim (Alger). Cette technique nécessite :

- Une culture pure de la souche d'*E. coli* sur gélose TSI.
- Sérum monovalent O157 (EHEC).
- 1 sérum nonavalent contenant des anticorps dirigés contre les 9 antigènes O d' EPEC (1er, 2ème et 3ème mélanges),
- 3 sérums trivalents (I, II, III) contenant chacun des anticorps dirigés contre 3 antigènes O différents,
- Les sérums monovalents contenant un seul type d'anticorps contre l'antigène O d' EPEC.

Les différents types d'antigènes O permettent de classer les EPEC en 3 mélanges :

- 1^{er} mélange : O111, O55, O26.
- 2^{ème} mélange : O86, O119, O127.
- 3^{ème} mélange : O125, O126, O128.

Technique

- Déposer une goutte d'antisérum sur une lame en verre parfaitement propre ;
- prélever 1 ose d'une culture pure et fraîche d'*E. coli* ;
- mettre ces bactéries en suspension dans la goutte de sérum en prenant soin de faire une suspension homogène par adjonction progressive des bactéries dans le sérum ;

- Observer le mélange à l'œil nu au-dessus d'une surface sombre ou au-dessus d'un miroir concave.

Lecture

Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une agglutination massive et immédiate. Toute agglutination apparaissant plus de 5 secondes après la mise en suspension ne doit pas être prise en considération.

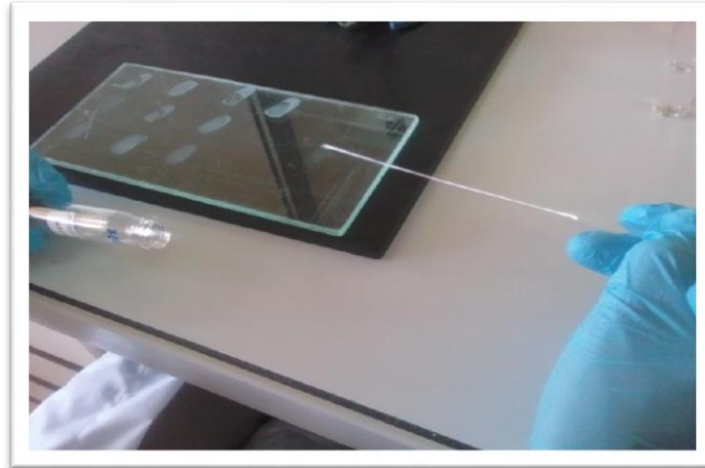


Figure 13 : Séro-agglutination d'EPEC (photo originale).

II. RÉSULTATS ET DISCUSSION

II.1. RÉSULTATS

II.1.1. Résultats des analyses bactériologiques

A partir des 71 échantillons de lait de tank et de l'ben de la région de Blida, nous avons obtenu les résultats rapportés en annexe VI, la synthèse de ces résultats est rapportée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7 : Les résultats des analyses bactériologiques sont présentés selon l'absence ou la présence du germe.

Echantillons		Nombre d'échantillons	Echantillons positifs		Echantillons négatifs	
			N	n	%	n
Lait	Vache	38	38	100	0	0
	chèvre	06	06	100	0	0
L'ben	vache	27	27	100	0	0
Total		71	71	100	0	0

Il en ressort que tous les échantillons (lait et l'ben) sont contaminés avec au moins un des germes recherchés.

II.1.1.1. La recherche des Salmonelles

a. Résultats préliminaires

L'identification préliminaire par mini galerie des colonies caractéristiques sur gélose Hektœn a révélé les résultats rapportés dans le tableau 9.

Tableau 8 : La répartition de la prévalence des souches suspectes de Salmonelles selon le type d'échantillon.

Echantillons		Souches suspectes	
		n	%
Lait	Vache (n=38)	10	26,31
	Chèvre (n=06)	1	16,67
L'ben	Vache ou reconstitué (n=27)	9	33,33
Total		20	28,17

Il en ressort que :

Vingt (20) souches de Salmonelles suspectes réparties comme suit :

- Dix (10) échantillons de lait de vache sont positifs pour la présence des souches suspectes de Salmonelles, soit un taux de 26,31%.
- Un (01) échantillon de lait de chèvre est positif pour la présence de souche suspecte de Salmonelles, soit un taux de 16,67%.
- Neuf (09) échantillons de l'ben sont positifs pour la présence des souches suspectes de Salmonelles, soit un taux de 33,33%.

b. Les résultats obtenus après identification biochimique par galerie API 20^E

Sur l'ensemble des souches testées (20), aucune n'a été caractérisée comme souche *Salmonella*. Ces résultats indiquent que le lait (vache, chèvre) et le l'ben étudiés sont exempts de salmonelles.

II.1.1.2. La recherche des staphylocoques

a. Les résultats de l'identification genre *Staphylococcus*

Les résultats obtenus des colonies caractéristiques sur gélose Chapman et après identification de Gram et le test de la catalase, sont rapportés dans le tableau 10.

Tableau 9 : La répartition de la prévalence des staphylocoques selon le type d'échantillon.

Echantillons		Echantillons positifs		Echantillons négatifs	
		n	%	n	%
Lait	Vache (n=38)	24	63,15	14	36,84
	Chèvre (n=06)	04	66,66	02	33,33
L'ben	Vache ou reconstitué (n=27)	17	62,96	10	37,03
Total		45	63,38	26	36,62

A partir de ce tableau nous constatons :

- Vingt-quatre (24) échantillons de lait de vache sont positifs pour la présence des staphylocoques, soit un taux de 63,15%.
- Quatre (04) échantillons de lait de chèvre sont positifs pour la présence des staphylocoques, soit un taux de 66,66%.
- Dix-sept (17) échantillons de l'ben sont positifs pour la présence des staphylocoques, soit un taux de 62,69%.

b. Les résultats de l'identification biochimique

L'isolement sur gélose Chapman nous a permis d'obtenir à partir de 45 échantillons positifs 48 souches. Après la recherche de la coagulase libre sur plasma de lapin (Figure 14) pour l'identification de l'espèce *S. aureus* et l'identification biochimique par galerie API Staph pour les autres espèces. Nous avons obtenu les résultats rapportés dans les tableaux 11 et 12.

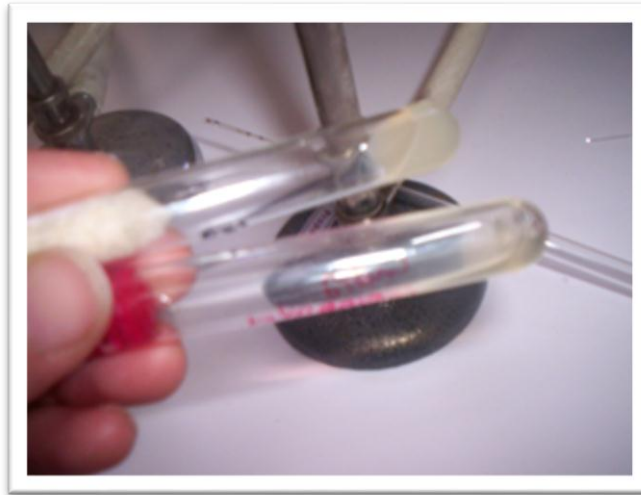


Figure 14 : Résultats de coagulase libre (photo originale).

Tableau 10 : Distribution des souches de staphylocoques isolées dans les échantillons de lait et l'ben en fonction des résultats de la coagulase.

Echantillons		Staphylocoque coagulase positive (SCP)		Staphylocoque coagulase négative (SCN)	
		n	%	n	%
Lait	Vache	17	35,42	10	20,83
	Chèvre	03	6,25	01	2,08
L'ben		16	33,33	01	2,08
Total		36	75	12	25

Les résultats montrent :

- Trente-six (36) souches de Staphylocoques coagulase positive réparties comme suit :
 - Dix-sept (17) souches dans le lait de vache.
 - Trois (03) souches dans le lait de chèvre.
 - Seize (16) souches dans l'ben.
- Douze (12) souches Staphylocoques coagulase négative réparties comme suit :
 - Dix (10) souches dans le lait de vache.
 - Une (01) souche dans le lait de chèvre.

- Une (01) souche dans l'ben.

Tableau 11 : Distribution des souches de staphylocoques selon les espèces.

Echantillons		SCP				SCN			
		<i>S. aureus</i>		<i>S. hyicus</i>		<i>S. chromogenes</i>		<i>S. carnosus</i>	
		N	%	n	%	n	%	n	%
Lait	Vache	14	29,17	3	6,25	9	18,75	1	2,08
	Chèvre	02	4,17	1	2,08	1	2,08	0	0
L'ben		16	33,33	0	0	0	0	1	2,08
Total		32	66,67	4	8,33	10	20,83	2	4,16

D'après les résultats, il en ressort que les 48 souches du genre *Staphylococcus* sont réparties comme suit :

- *S. aureus* : 32 souches sont réparties selon la nature de l'échantillon comme suit :
 - Quatorze (14) souches dans le lait de vache.
 - Deux (02) souches dans le lait de chèvre.
 - Seize (16) souches dans l'ben.
- *S. hyicus* : 04 souches sont réparties comme suit :
 - Trois (03) souches dans le lait de vache.
 - Une (01) souche dans le lait de chèvre.
 - Aucune souches dans l'ben.
- *S. chromogenes* : 10 souches sont réparties comme suit :
 - Trois (09) souches dans le lait de vache.
 - Une (01) souche dans le lait de chèvre.
 - Aucune souches dans l'ben.
- *S. carnosus* : 02 souche sont réparties comme suit :
 - Une (01) souche dans le lait de vache.
 - Aucune souche dans le lait de chèvre.
 - Une (01) souche dans l'ben.

II.1.1.3. La recherche et la caractérisation d'*Escherichia coli*

a. Les résultats de l'isolement des souches après IMS

A l'isolement sur gélose SMAC et après un examen macroscopique nous avons obtenu (71) cultures. Ces cultures (71) ont permis l'obtention de 213 souches à sorbitol positif.

Tableau 12 : Isolats obtenus après culture sur gélose SMAC.

	Colonies isolées (n=213)	
	n	%
Isolats à sorbitol (-)	0	0
Isolats à sorbitol (+)	213	100

Nous remarquons que les (213) souches isolées sont toutes de couleur rose (sorbitol positive) et absence des colonies blanches.

b. Résultat de l'identification préliminaire et des tests biochimiques par galeries API 20^E

Après purification des 213 souches isolées, les résultats du test biochimiques (Oxydase) pour identification de la famille des Enterobacteriaceæ sont rapportés dans le tableau 14 ci-dessous

Tableau 13 : Isolats obtenus après le test Oxydase pour identification de la famille des Enterobacteriaceæ.

	Colonies isolées (n=213)	
	n	%
Enterobacteriaceæ	104	48,83
Non Enterobacteriaceæ	109	51,17

Il en ressort qu'à part de 213 souches sorbitol positif nous avons obtenu 104 souches appartenant à la famille des Enterobacteriaceæ.

Les résultats de l'identification préliminaires, la coloration de Gram et les tests biochimique pour orientation (TSI, urée indole, TDA, ONPG, Nitrate Réductase et Clark et Lubs) ont permis de classer les souches d'Enterobacteriaceæ en deux catégories :

- 50 souches d'*Escherichia coli* présomptif, soit un taux de 48,08%.
- 54 souches non *Escherichia coli*, soit un taux de 51,92%.

L'identification par galerie API 20^E a permis la caractérisation de 50 souches appartenant à l'espèce *Escherichia coli*.

c. Résultats du sérogroupage

- Séro-agglutination *E. coli* O157 :

Les résultats de la recherche du séro-groupe O157 par séro-agglutination n'ont révélé aucune réaction positive pour 33 souches testées. Il en résulte qu'aucune souche n'appartient à ce séro-groupe O157.

- Séro-agglutination d'*E. coli* O111 ; O55 ; O26 ; O86 ; O119 ; O127 ; O125 ; O126 ; O128.

Les résultats de la recherche de ces séro-groupes par séro-agglutination sont rapportés dans le tableau 15 ci-dessous

Tableau 14 : Répartition des souches d'*Escherichia coli* par séro-groupe.

Séro-groupes		O11	O55	O26	O86	O119	O127	O125	O126	O128	AA	NA
Souches	N	0	0	0	0	0	2	0	0		02	29
	%	0	0	0	0	0	6,06	0	0	0	6,06	87,88

AA : Auto-agglutinable, NA : Non Agglutinable.

Il en résulte que deux (2) souches seulement appartiennent aux séro-groupe O127, les vingt-neuf (29) sont non agglutinables et deux sont auto-agglutinable.

II.2. DISCUSSION

Les résultats de l'évaluation de la qualité bactériologique du lait cru et du lait fermenté (l'ben) par la recherche des germes pathogènes ont montré l'absence des salmonelles dans l'ensemble des échantillons analysés. Les staphylocoques sont présents avec un taux de 63,38%, dont 75% des souches isolées sont SCP et 25% sont SCN répartis comme suit : pour le lait (33,33% *S. aureus*, 8,33% des souches sont *S. hyicus* et 20,83% sont *S. chromogenes* et 2,08% sont *S. carnosus*), pour le l'ben (33,33% des souches sont *S. aureus* et 2,08% sont *S. carnosus*). *Escherichia coli* a été mis en évidence dans 48,08% des souches isolées avec des taux de 28,85% et 19,23% pour le lait et l'ben respectivement. L'identification sérologique des 33 souches d'*E. coli* a montré l'absence des séro-groupes O157 et O111 ; O55 ; O26 ; O86 ; O119 ; O125 ; O126 ; O128 et la présence de seulement deux souches appartenant au séro-groupe O127.

Pour le lait, nos résultats sont confortés par les travaux de Srairi et Hamama (2006), Affif et al. (2008) au Maroc, Ndiaye (1991) au Sénégal qui ont rapportés un taux nul de Salmonelles. En effet selon Affif et al. (2008), en général, l'isolement des salmonelles dans le lait cru est difficile à mettre en évidence. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la présence d'autres flores contaminantes qui croient sur les milieux utilisés en empêchant ainsi le développement de *Salmonella* (Eck, 1984). Cependant de nombreuses études montrent la présence de *Salmonella* dans le lait avec des taux variables. En Algérie, dans la même région, Mazari Abdessamad et Khouri (2007), ont rapporté la présence de *Salmonella* dans le lait avec un taux de 5%. Au Maroc, selon Hamama et El Mouktafi (1990), les salmonelles sont détectées dans 21% des échantillons de lait cru sur un total de 42 échantillons provenant des centres de collecte de lait. Aux États-Unis, d'après Jayarao et Henning (2001), *Salmonella* a été isolé dans 8 prélèvements des 131 échantillons de lait soit un taux de 6,1%. La principale source de contamination du lait par les salmonelles serait l'excrétion fécale et la dissémination de la bactérie dans l'environnement, puis contamination de la peau des mamelles et du matériel de traite et enfin passage dans le lait (Guy, 2006). En effet, une étude de l'institut de l'élevage français réalisée par Heuchel et Meffe (2000) a démontré que la prévalence de l'excrétion mammaire de salmonelles est d'environ 0,6%, faisant de cette voie une source de contamination rare mais pas exceptionnelle.

Nombreuses études ont montré la présence de *Staphylococcus* particulièrement *S. aureus* dans le lait avec des taux variables. A l'échelle nationale des taux de 80,13% et 70% ont été rapportés par Baazize (2006) et Chaalal (2013) dans les régions de Blida et d'Oran respectivement. En Afrique, les travaux de Bonfoh et al. (2002) et Kouamé-Sina et al. (2010) ont révélés des taux de 64% au Mali et de 20% à Abidjan.

D'autres études dans le monde ont rapportés des taux différents de 9,4% ; 66,7% et 75% respectivement (Korpysa-Dzirba et Osek, 2014 ; André et *al.*, 2008 ; Jorgensen et *al.*, 2005). Pour le lait de chèvre, Jorgensen et *al.* (2005) ont rapporté un taux de 96,2% de *S. aureus* en Norvège et Valle et *al.* (1990) ont montré que 48,8% des souches de *S. aureus* isolées du lait de chèvre était toxigène.

Cependant, pour les SCP, *S. hyicus* a été trouvé par Bendahou et *al.* (2009) dans le lait cru et les produits laitiers traditionnels marocains. Il est à noter que *S. hyicus*, a été décrit par certains auteurs comme entérotoxigène (Adesiyun et *al.*, 1984 ; Bergdoll, 1989). La contamination du lait peut survenir lors de la traite par défaut d'hygiène mais aussi par des contaminations liées aux mamelles et secondairement par l'eau de traite et les mains des trayeurs (Kouamé-Sina et *al.*, 2010). En plus la qualité hygiénique des récipients utilisés dans la filière et de l'absence d'une chaîne de froid favorisent la contamination du lait par *S. aureus* qui présente un problème majeur pour la santé publique (Ashenafi, 1996 ; Godefay et Molla, 2000). En dehors de ces sources, les infections mammaires à *S. aureus* constituent la principale source de contamination du lait à la production. En effet, *S. aureus* est la bactérie la plus fréquemment isolée à partir de mammite bovine dans le monde entier (André et *al.*, 2008) ; elle est responsable d'environ 40% de tous les cas de mammites en Algérie (Kaidi et *al.*, 2011). Par ailleurs, Srairi et Hamama (2006), ont démontré que les pratiques de tétée préalables à la traite, auraient pour incidence une chute de la contamination par les staphylocoques dans le lait, car les premiers jets de lait sont les plus fortement contaminés en microorganismes présumés pathogènes, surtout en cas de mammites. Cependant, l'utilisation des lavettes individuelles, trempées dans l'eau javellisée pour nettoyer la mamelle, limite la contamination microbienne des trayons (Agabriel et *al.*, 1995).

Les SCN dits pathogènes mineurs contagieux sont des hôtes normaux des animaux. Plusieurs espèces ont été isolées sur le canal du trayon, la peau et d'autres sites extra mammaire mais peuvent constituer un potentiel danger pour la santé animale car ils sont souvent associés aux mammites (Matos et *al.*, 1991 ; Matthews et *al.*, 1992). Les différentes études ne prennent pas en considération leur prévalence dans le lait de mélange destiné à la consommation car ils sont considérés comme non pathogènes pour le consommateur.

La présence d'*E. coli* reflète fréquemment une contamination fécale pouvant impliquer la présence d'autres entérobactéries dans l'échantillon (El-zyney et Al-Turky, 2007). La présence d'un taux de 48,08% dans nos échantillons révèle une mauvaise qualité hygiénique de nos produits. Cette situation, de contamination des laits par *E. coli* est décrite et estimée à 17,80% à Blida (Baazize, 2006), 36,67% au Togo (PissangTchangai, 1992) et à 80% en Normandie (Desmaures et *al.*, 1997), mais seulement de 3,8% aux Etas Unis (Jayarao et Henning, 2001).

Cependant, l'implication de certaines souches pathogènes d'*E. coli* dans des maladies d'origines alimentaire à porter l'intérêt sur la recherche de certains sérotypes. En effet, la présence d'*E. coli* O157 :H7 dans le lait a été rapporté à des taux différents 33,5% 2,21% 0,7% (Chye et al. 2004 ; Solomakos et al., 2009 ; De Reu et al. 2004) et un taux de 0,65% dans le lait de caprin par Solomakos et al.(2009).

E. coli existant dans notre environnement va trouver dans le lait un substrat idéal pour leur développement (Chye et al., 2004). Ainsi, la présence de nombreux facteurs de croissance favorisent la multiplication d'*E. coli* provenant de mauvaises conditions d'hygiène, sans oublier l'état sanitaire de l'animal (Coorevits et al., 2008). Selon Kouamé – Sina, (2013), *E. coli* intervient dans la contamination du lait à partir des mains des trayeurs (7,2%), de l'eau (4,4%), de l'environnement (4,4%), des ustensiles de traite (13,2%), et des mamelles des vaches (4,9%). Cependant, Perreau et Cauty (2003) affirment qu'un lavage soigneux des trayons avant la traite des équipements adaptés correctement nettoyé et entretenue et un stockage du lait à 4°C à la ferme permettant dans la majorité des cas d'obtenir des niveaux de contaminations acceptable.

Pour le lait fermenté (L'ben), aucune souche de Salmonelles n'a pu être isolée dans 27 échantillons. Leur absence dans nos échantillons est expliquée par la production d'acide par les bactéries lactiques qui inhibent la croissance des pathogènes par un abaissement du pH du milieu (Tamagnini et al., 2006). Aussi, d'après Benkhalfoune et Kebli (2014), les bactéries lactiques peuvent produire des substances antibiotiques appelées « probiotiques » doté d'un large spectre d'action contre les germes à gram positif et négatif.

Nos résultats sont différents de ceux rapportés par Katinan et al. (2012) dans la ville de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) où la microbiologie des laits caillés (laits fermentés artisanaux) ont montré la présence de *Salmonella* spp. dans 57% des échantillons analysés. Cette situation a été expliquée par les faibles valeurs de l'acidité des échantillons d'une part et, d'autre part, à l'absence d'une étape de pasteurisation dans le processus de fabrication du lait caillé artisanal.

Pour les staphylocoques, normalement un produit fermenté (yaourt) présentant un pH inférieur ou égale à 4 et contenant 1% d'acide lactique est un milieu inhabitable pour les bactéries pathogènes (Bourgeois et Larpent, 1996). Mais selon Morot-Bizot (2006), les staphylocoques sont des micro-organismes qui sont compétitifs avec les bactéries lactiques, c'est-à-dire qu'ils arrivent à croître significativement avant que la chute de pH provoquée par les bactéries lactiques soit suffisante pour empêcher leur croissance. Elles sont fréquentes dans de nombreux produits fermentés. Dans notre cas il est probable que cette contamination du l'ben pourrait résulter d'une contamination des produits laitiers pendant la préparation ou par manque de bonne pratique d'hygiène corporelle, environnementale et sanitaire d'une part et, d'autre part, à l'eau et aux ustensiles utilisés

(Seydi et Ndiaye, 1993 ; Katinan et *al.*, 2012). En Italie, une étude a révélé la présence de *S. aureus* avec un taux de 17% dans le lait et ses dérivés (Normanno et *al.*, 2007).

La présence *E. coli*, a été mise en évidence dans nos échantillons avec la présence de deux souches de sérogroupes O127 appartenant aux EPEC (*Escherichia coli* entéropathogènes) considéré comme pathogènes pour l'homme. Donc le lait ainsi que ses dérivés sont considérés comme des produits à risque. Cette contamination des laits fermentés a été rapportée par Katinan et *al.* (2012) dans la ville de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) où la microbiologie des laits caillés (laits fermentés artisanaux) ont montré la présence d'*E. coli* dans 51% des échantillons analysés.

La contamination des laits fermentés par *E. coli* peut être expliqué par le fait que les procédés de leurs production sont généralement primitive (Isono et *al.*, 1994 ; Dirar , 1997) et les principaux facteurs de risque sont l'utilisation des matières premières contaminées, le manque de pasteurisation, utilisation des fermentations naturelles et les mauvaises conditions de stockage (Nout, 1994). En effet, le lait nécessaire à la fabrication peut être contaminé dans différents points et par différentes manières. Sans étape de destruction des bactéries comme une pasteurisation, ces bactéries peuvent se développer dans le lait (Savoie, 2013).



Conclusion



Le lait est un aliment dont l'importance nutritionnelle n'est plus à démontrer. Il est à la base des produits laitiers parmi lesquels figure le l'ben obtenu par la fermentation. Cependant, la qualité bactériologique du lait est importante pour sa conservation voire sa transformation. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à la recherche des bactéries pathogènes dans le lait cru et le lait fermenté (l'ben) dans la région de Blida. Globalement, la présence de cette diversité de flore, n'est que le résultat de l'absence des mesures d'hygiène, ainsi que le non-respect et la méconnaissance des conditions d'élevage, en particulier celles liées à la propreté des animaux et leur environnement et bien sûr les conditions de stockage et la livraison de lait.

Sachant que les laits crus issus des élevages et laits fermentés (l'ben) issus des crèmeries échappent à tout contrôle sanitaire et sont destinés à la consommation sans subir de traitement thermique, ils peuvent donc présenter un réel danger sur le plan sanitaire.



Recommandation



A l'issue de la présente étude, pour garantir un aliment sain au consommateur sans risque pour sa santé, nous recommandons les mesures suivantes :

- Dépister précocement chez l'animal les maladies à l'origine des zoonoses.
- Il faut instaurer une politique de qualité avec la vulgarisation des bonnes pratiques d'élevage et insister sur la propreté des animaux, de leur environnement immédiat et la salubrité de la traite.
- Il faut améliorer les conditions de la traite et les opérations de préparation pour la transformation du lait car ce lait ne subit aucun traitement thermique.
- La mise en place de formations à destination des différents acteurs intervenant dans le secteur (éleveurs et convoyeurs), en vue d'améliorer l'hygiène du lait.
- Interdire la vente des laits crus et laits fermentés dans les crémeries sans contrôle hygiénique et sanitaire.
- Le consommateur doit être informé des conséquences du non-respect des consignes de conservation ou de stockage des produits laitiers.
- Ne consommer que du lait pasteurisé ou bouilli.



*Références
bibliographiques*



- **Adesiyum, A.A., Tatini, S.R., Hoover, D.G. (1984).** «Production of enterotoxin by *Staphylococcus hyicus*». *Vet Microbiol*, 9, 487–495.
- **Affif, A., Faid, M., Najimi, M. (2008).** «Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc ». *Reviews in Biology and Biotechnology*, n°1, Vol 7, 2-7.
- **Agabriel, C., Coulon, J.B., Brunshwig, G., Sibra, C., Nafidi, C. (1995).** «Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations ». *INRA Prod. Anim.*, n° 4, P251-258.
- **Agabriel, C., Coulon, J.B., Journal, C., Rancourt, B. (2001).** « Composition chimique du lait et systèmes de production dans les exploitations du Massif central », *INRA Prod. Anim.*, V. 14, 119-128.
- **Ahmed, A.I., Mohammed, A.A, Faye, B., Blanchard, L., Bakheit, S.A. (2010).** « Assessment of quality of camel milk and gariss, north Kordofan State, Sudan ». *J. Anim. and Vet.Sciences*, 5(1), P18-22.
- **André, M.C., Campos, M.R.H., Borges, L.J., Kipnis, A., Pimenta, F.C., Serafini, A.B. (2008).** « Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsedfield gel electrophoresis following digestion». *Food Control*. 19, 200-207.
- **Ashenafi, M. (1996).** «Effect of Container Smoking and Incubation Temperature on the Microbiological and some Biochemical Qualities of Fermenting Ergo, a Traditional Ethiopian Sour Milk». *International Dairy J.*, 6, P 95-104.
- **Baazize, D. (2006).** « Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru de vache dans la région de la Mitidja ». Thèse de magister, université de Blida 1, Blida. 160 P.
- **Bachta, M.S. et Ghersi, G. (2004).** Agriculture et alimentation en Méditerranée : Les défis de la mondialisation. *Ed Karthala*, Ciheam et Iresa, Maroc 201 P.
- **Badinand, F. (1994).** « Maitrise du taux cellulaire du lait ». *Rec. Méd. Vét.* n° 6/7, 419-427.
- **Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005).** « Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Sci. Technol.*, 23, 30-37.
- **Beisson, G., Martinez, V. (2009).** « Spécification technique de l'achat public : Laits et produits laitiers ». *Spécification technique*, n° B3-07-09, 1-47.
- **Bendahou, A., Abid, M., Bouteldoun, N., Catelejine, D., Lebbadi, M. (2009).** «Enterotoxigenic coagulase positive *Staphylococcus* in milk and milk products, Iben and jben, in northern Morocco». *J Infect Dev Ctries*, 3, 169–176.

- **Benkerroum, N., Oubel, H., Zahar, M., Dlia, S. and Filali-Maltouf, A. (2000).** « Isolation of a bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and application to control *Listeria monocytogenes* in Moroccan jben ». *J. Appl. Microbiol.* 89: 960-968P.
- **Benkhalfoune, R. et Kebli, N. (2014).** « Evaluation sensorielle et quantitatif du lait fermenté préparé par une matière végétale (Pois chiche) ». Mémoire de Master, Université d'Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen. 69 P.
- **Bergdoll, M.S. (1989).** « *Staphylococcus aureus*. In: *Foodborne pathogens* », M.P. Doyle, New York, 139–162.
- **Bonfoh, B., Fané, A., Traoré, N.A., Coulibaly, Z., Simbé, C. F., Alfaroukh, O. I., Nicolet, J., Farah, Z., Zinsstag, J. (2002).** « Qualité Microbiologique Du Lait Et Des Produits Laitiers Vendus En Saison Chaude Dans Le District De Bamako Au Mali ». *Inter. Sci. de la Vie et de la Terre*, n° spécial, 242-250.
- **Boudier, J.F. et Luquet, F.M. (1978).** Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, *APRIA*, Paris 236 P.
- **Bourgeois, C.M., Mescle, J.F, Zucca, J. (1996).** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Tome 1, Lavoisier Paris, Tec & Doc, 672P.
- **Bourgeois, C.M et Larpent J.P. (1996).** Microbiologie alimentaire T2 : aliments fermentés et fermentations alimentaire. Tec & Doc, 523 P.
- **Bouton, Y., Guyot, P., Vacheyrou. M., Normand, A.C., Piarroux, R., Beuvier, E. (2007).** Etude des flux bactériens dans les étables de production laitière de Franche-Comté. Exemple des LHF. 15eme colloque du Club des Bactéries Lactiques, 13-15 novembre, Rennes.
- **Braverman, Y., Chizov-Ginzburg, A., Saran, A., Winkler, M. (1999),** « La mouche commune (*Musca domestica*) vecteur passif de *Cornebacterium pseudotuberculosis* dans les élevages laitiers en Israël », *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, n°3, 681-690.
- **Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buyser, M.L., Collette, C., Garin-Bastuji B. Thorel., M.F. (1997).** « Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe ». *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1), 452-471.
- **Callewaert, R., De Vuyst, L. (2000).** « Bacteriocin production with *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 is improved and stabilized by fed-batch fermentation ». *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(2), 606-613.
- **Carter, M.E., Cordes, D.O., Carmen, M.G. (1983).** « Observation en acute salmonelloses in four waikato dairy herds ». *New Zealand Vet. J.* 31, 10-12.

- **Cécile, L. (2011).** « Microflore du lait cru : Vers une meilleure connaissance des écosystèmes microbiens du lait et de leurs facteurs de variation ». *Cnaol*. 1-131.
- **Chaalal, W., (2013).** « Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires ». Thèse de Magister, Université d'Es-Senia, Oran, 74 P.
- **Cammas, G.I., Saliba, R. and Béal, C. (2006).** «Characterization of the fermented milk « Laban » with sensory analysis and instrumental measurements». *J. Food Sci.* 71,156-162.
- **Chatelin, Y.M. et Richard, J. (1981).** « Etude de quelques cas de contaminations microbiennes importantes du lait à la ferme ». *Le lait*, n° 61, 80-94.
- **Chilliard, Y. et Lamberet, G. (1984), « La lipolyse dans le lait : les différents types, mécanismes, facteurs de variation, signification pratique », *Journal le lait*, n° 64, 544 - 578.**
- **Chye F.Y, Abdullah A, Ayob M.K. (2004).** « Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia ». *Food Microbiology*, 21, 535 - 541.
- **Codex alimentarius. (2008).** Production animale. *Organisation mondiale de la santé*, 215P.
- **Conte, S. (2008).** « Evolution Des Caractéristiques Organoleptiques, Physico-Chimiques Et Microbiologiques du lait caillé traditionnel ». Mémoire de diplôme d'études approfondies de productions animales, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar. 31 P.
- **Coorevits, A., De Jungles, V., Vandrommed, J. (2008).** « Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms ». *Systematic and applied microbiology, Elsevier*. 140 P.
- **Cremona, M., (2003).** Problèmes de qualité du lait : Causes possibles et mesures à prendre. *brochure 1^{ère} édition*, Paris. 321 P.
- **Crognon, T., Jeantet, R., Brulé, G. (2008).** Fondements physicochimiques de la technologie laitière. *Tec & Doc*, Lavoisier 185 P.
- **D'Aoust, J.V. (1989).** - *Salmonella*. In *Foodborne bacterial pathogens* (M.P. Doyle, édit.). Marcel Dekker Inc, New York, 327-445.
- **De Buyser ML, Dufour B, Maire M, Lafarge V. (2001).** « Implication of milk and milk products in food borne diseases in France and in different industrialised countries ». *Int. J. Food Microbiol.* V 67, 1-17.
- **De Reu, K., Grijspreedt, K., Herman, L. (2004).** « A Belgian survey of hygiene indicator bacteria and pathogenic bacteria in raw milk and direct marketing of raw milk from products». *J. Food Safety*, 24, 17-36.
- **De Roissart, H.B. (1986).** Bactéries lactiques dans le lait et produits laitiers. *Tech et Doc*, Lavoisier. Paris, 445 P.

- **De Roissart, H.B. et Luquet, F.M. (1994).** Bactéries lactiques. *Lorica Uriage*, 600 P, Paris.
- **Debry, G. (2006).** Lait, nutrition et santé. *tec & doc*, Lavoisier Paris 566 P.
- **Dellaglio, F., Desmazeud, M., Weber, F. (1994).** Bactérie lactique : Aspects fondamentaux et technologie, vol 2. *Lorica Uriage*, Paris, 605 P.
- **Desmaures, N., Bazin, F., Gueguen, M. (1997).** «Microbiological composition of raw milk from selected farms the camembert region of Normandie». *J. Appl. Microbiol.*, V. 83, n° 1, 53-58.
- **Dirar, H.A., 1997.** Introduction. In: Dirar H.A. (Ed.). Food processing technology for Africa. United Nations Industrial Development Organization, Vienna, p: 1-10.
- **Dortu, C. et Thonart, P. (2009).** « Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêt pour la bioconservation des produits alimentaires ». *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 13, 143-154.
- **Drucea, R. G., Thomas, S.B. (1972).** « Bacteriological studies on bulk milk collection: Pipeline milking plants and bulk milk tanks as sources of bacterial contamination of milk”, *J. Applied Bacteriology*, n° 35, 263-270.
- **Dubeuf, B. (1995).** « Relation entre les caractéristiques des laits de troupeaux, les pratiques d'élevage et les systèmes d'exploitation dans la zone de production du Beaufort ». *INRA. Production. Animal.*, V. 8, n° 2, 105-116.
- **Duboc, P., and Mollet, B. (2001).** «Applications of exopolysaccharides in the dairy industry». *Int. Dairy J.* 11, 759-768.
- **Eck, A. (1987).** Le fromage. Tech & doc, Lavoisier, Paris, 540 P.
- **El Baradei, G., Delacroix-Buchet, A. and Ogier, J.C. (2008).** «Bacterial biodiversity of traditional Zabady fermented milk». *Int. J. Food Microbiol*, 121, 295-301.
- **El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Hadji-Sfaxi, I., El-Mecherfi, K.E., Bazukyan, I., Choiset, I., Rabesona, H., Sitohy, M., Popov, Y. G., Kuliev, A. A., Mozzi, F., Chobert, J. M., Haertlé, T. (2011).** «Potential use of lactic bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods». *Trends in Food Sci. Technol.*, 22, 509-516.
- **El-Zyney, M. G. and AL-Turky, A.I. (2007).** « Microbiological quality and safety assessment of camel milk (Camelus dromedaries) in Saudi Arabia (Qassim region) ». *App. Bio. Envir. Research*, 5(2), 115-122.
- **Fanica, P. O. (2008).** Le lait, la vache et le citadin: du XVIIe au XXe siècle. *Quæ*, Versailles Cedex, 489 P.
- **FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. *Collection FAO : Alimentation et nutrition*, n° 28, Rome, 271 P.

- **Favier, J.C. (1985).** Composition du lait de vache-Laits de consommation, <http://www.horizon.documentation.fr>
- **Festy, D. (2009).** Nous avons tous besoins de probiotiques et de prébiotiques : Allergies, immunité, mycoses, candidoses, minceur, etc. *Leduc*, Paris, 365P.
- **Franklin, J. G. (1969).** « Some bacteriological problems in the market milk industry in the U.K ». *J. Soc. Dairy Technol.* n° 22, 100 P.
- **Fredot, E. (2006).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, *Tec & Doc*, Lavoisier , 397 P.
- **Ghazi, K., Niar, A. (2011).** “Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie) ”. *Tropicultura.* 29, n°4, 193-196.
- **Godefay, B., Molla, B. (2000).** «Bacteriological quality of raw cow's milk from four dairy farms and a milk collection centre in and around Addis Ababa». *Berliner Und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 113, 276-278.
- **Gonzalez, R.N. (1986).** «Relationship between mastitis pathogen numbers in bulk tank milk and bovine udder infections», *J. American, Vet , Medicines. Association*, n° 189, 347-442.
- **Gret, A. (2002).** Transformer les produits laitiers frais à la ferme. *Educagri*, 233 P.
- **Guiraud, J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire, Tech & Doc ; *Dunod*, 615 P.
- **Guiraud, J. P. (2003).** Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie, *Dunod*, série Agro-alimentaire, Paris, 652 P.
- **Guy, F.I. (2006).** « Elaboration d’un guide méthodologique d’intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central ». Thèse doctorat d’état, université Paul-Sabatier de Toulouse, France. 17 P.
- **Hamama ,A ., El Mouktafi ,M. (1990).** « Étude de la qualité hygiénique du lait cru produit au Maroc », *Maghreb Vét*, V. 5, n° 23, 17-20.
- **Hamama, A. (2002).** « Hygiène et prophylaxie dans les étables laitières .cours de Formation des techniciens de l'office régionale de Mis en valeur agricole L'haouz.Marrkech. ». 80-110.
- **Hanchi, H., SaiedKourda, R., Ben Hamida, J. (2009).** « Étude comparative de la microflore industrielle et artisanale des laits caillé « raieb » et fermenté « leben » tunisiens ». *Revue de l'Association africaine de microbiologie et d'hygiène alimentaire*, vol. 21, n° 62,73-78.
- **Hartheiser, M. (1994).** « La maîtrise de le contamination du lait par les spores butyriques ». *Rec. Med. Vét.*, 170, n° 6/7, 429-436.

- **Herman, L. M., De Block, J. H., Moermans, R. J. (1995).** «Direct detection of *Listeria monocytogenes* in 25 milliliters of raw milk by a two-step PCR with nested primers ». *App. Env. Microbiology*, 61, 817-819.
- **Heuchel, V., Marly, J., Meffe, N. (2003).** « Origines, diagnostic et moyens de maîtrise de la contamination du lait de vache par les salmonelles ». Actes des 8^{ème} Rencontres Recherches Ruminants (3R), 87-90.
- **Heuchel, V., Meffe, N. (2000).** Origines et moyens de maîtrise à la production de la contamination du lait de vache par les salmonelles. Institut de l’Elevage. C.R. n° 2003108, 67 P.
- **Hylckama, J. E. T., Huguen, J. (2007).** « Mining natural diversity of lactic acid bacteria for flavour and health benefits ». *International Dairy Journal*, 17, 290–1297.
- **Isono, Y., Shingu, I., Shimizu, S. (1994).** Identification and Characteristics of lactic acid bacteria isolated from Masai fermented milk in Northern Tanzania. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58: 660-664.
- **Jakob, E., Winkler, H., Schaeren, W., Amrein, R., Geinoz M. (2011).** “La qualité du lait cru un défi permanent ». *Agroscope Liebefeld-Posieux forum*, n°78,5-17.
- **Jayarao, B.M., et Henning, D.R., (2001).** «Prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk». *J. Dairy Sci*, 84, 2157-2162.
- **Jorgensen, H.J., Mork, T., Caugant, D.A., Keams, A., Rorvik, L.M. (2005).** “Genetic variation among *Staphylococcus aureus* strains from Norwegian bulk milk”. *Applied and Environmental Microbiology*, 168, 8352-8361.
- **Jose, R.P., Bigras-Poulin, M. (1999).** « Développement d’indices agro-écologiques pour évaluer la pression hygiénique de la production animale dans les régions rurales du Québec ». Thèse de Magister, Université de Montréal, 129 P.
- **Katinan, C. R., Sadat, A. W., Olivier Chatigre, K., Bohoussou, K. M., Assidjo, N.E. (2012).** « Évaluation de la qualité chimique et microbiologique des laits caillés artisanaux produits et consommés dans la ville de Yamoussoukro, Côte d’Ivoire". *J. Appl. Biosci.* 55, 4020– 4027.
- **Korpysa-Dzirba W., Osek J. (2014).** “Detection of classical genes and enterotoxins of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk in the south-east region of Poland”. *Bull Vet Inst Pulawy*, 58, 559-561.
- **Kouame – Sina, S. M. (2013).** « Contribution à la gestion des risques de contamination microbienne et diversité génotypique des espèces du genre *Bifidobacterium* isolées de la chaîne

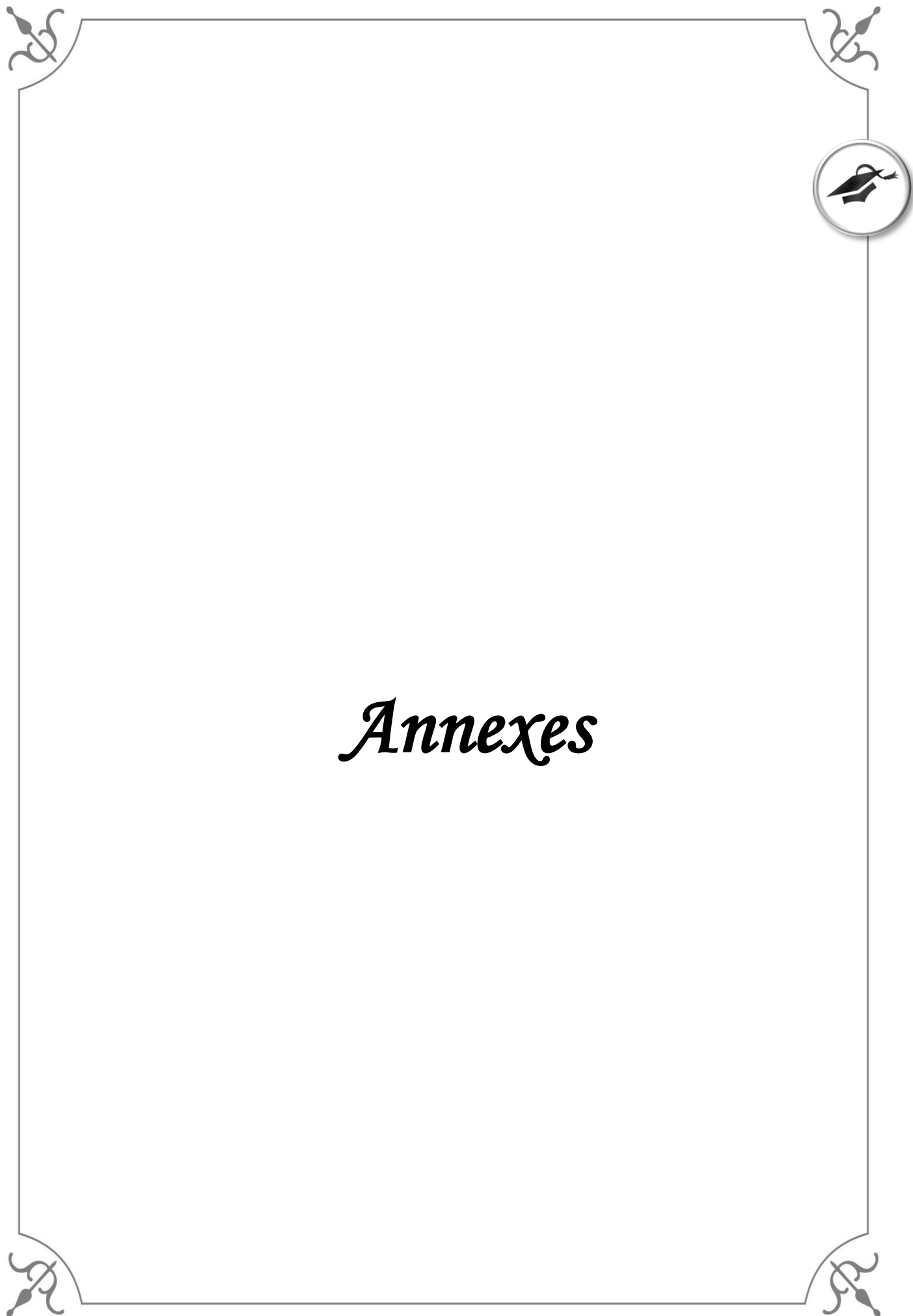
- de production du lait local à Abidjan ». Thèse de Doctorat, Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire. 144 P.
- **Kouamé-Sina , S.M., Bassa, A., Dadié, A., Makita , K., Grace , D., Dje M., Bonfoh, B. (2010).** « Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire) ». *RASPA*. V.8 n°S, 35-42.
- **Labioui, H., Elmoualdi, L., Benzakour, A., El Yachioui, M., Berny, E., Ouhssine, L. (2009).** “Étude physicochimique et microbiologique de laits crus ”. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 148, 7-16.
- **Labioui, H., Elmoualdi, L., El Yachioui M., Ouhssine, M. (2005).** « Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes ». *Bull.Soc. Pharm. Bordeaux*, 144 (3-4), 237-250.
- **Labrie, S. (2012).** “L’impact de la qualité microbiologique du lait sur les produits laitiers ». *STELA/INAF*. Québec, 29-31.
- **Larpent, J.P. (1990).** Lait et produits laitiers non fermentés. Dans *Microbiologie alimentaire*. (Bourgeois C.M., Mescle J.F.et Zucca J.) Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Tec & Doc. Lavoisier.201-215 P.
- **Larpent, S.P. (1997).** *Microbiologie alimentaire. Techniques de laboratoire.* Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 729 P.
- **Lee, C.S, Wooding, F.B.P, Kemp, P. (1980).** “Identification, properties and differential counts of cell populations using microscopy of dry secretions, colostrum and milk from normal cows ». *J. Dairy Res*, , 47, 39-50 P.
- **Lemire, G. (2007).** Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régie biologique. *L’envol lait biologique*. Québec. 329 P.
- **Lenoir, J. (1985).** « Les caséines du lait ». *Rev lait franç*, 440, 17-23.
- **Leroy, F., De Vuyst, L. (2004).** « Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry ». *Trends Food Science and Technology*, 15, 67–78.
- **Levesque, P. (2004).** La traite des vaches laitières : Etape par étape vers la qualité : Guide pratique. *Educagri*. Québec.28 P.
- **Leyral G. et Vierling E. (2007).** *Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires*. 4^{ème} édition *Biosciences et techniques*, Bordeaux, 387 P.
- **Luquet F.M. (1985).** Lait et produits laitiers : vache-brebis-chèvre, vol1 : Les laits de la mamelle à la laiterie, *Tec & Doc*, Lavoisier Paris, 397 P.
- **Marc, C. M., Loosdrecht, V., Lykleman, J. (1990).** “Influence of interfaces on microbial activity”, *Microbial reviews*, V. 54, 75-87.
- **Mathieu, J. (1998) .** *Initiation à la physicochimie du lait*. Tec & Doc, Lavoisier Paris, 220 P.

- **Matos, J.S., White, D.G., Harmon, R.J., Langlois, B.E. (1991).** « Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland”. *J. Dairy Sci.*, 74, 1544-1549.
- **Matthews, K.R., Harmon, R.J., Langlois, B.E. (1992).** “Prevalence of *Staphylococcus* species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows”. *J. Dairy Sci*, 75, 1835-1839.
- **Mazari Abdessamad, F., Khouri, M. (2007).** « La recherche des salmonelles dans le lait cru de vache ». Thèse d'étude Universitaire Supérieur en biologie, Université Blida 1, Blida. 49 P.
- **Mc Killip, J. L., Jaykus, L. A., & Drake, M. A. (2000).** “A comparison of methods for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 from artificially-contaminated dairy products using PCR”. *J. App. Microbiology*, 89, 49-55.
- **Mc Larty, R., M., Robb, J., Petric, M. (1968).** Farm tanker milk cause concern , *Dairy Industry*, n° 33, 536 P.
- **Meyer, C. et Denis, J. P. (1999).** Elevage de la vache laitière en zone tropicale. *Educagri*, 317 P.
- **Michel, V., Hauwuy, A., Chamba, J.F. (2001).** « La flore microbienne des laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production », *Le lait*, n° 81,575-592.
- **Monsallier, G. (1994).** « Maitrise de la teneur en germes mésophiles totaux du lait à la production », *Rec. Méd. Vét.*, 170, n° 6/7, 411-418.
- **Morot-Bizot S. (2006).** « Les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons ». Thèse de doctorat, Université Blaise Pascal (Clermont Ferrand), 141 P.
- **Nakasaki, K., Yanagisaw, M., Kobayashi, K. (2008).** “Microbiological quality of fermented milk produced by repeated-batch culture. *Journal of Bioscience and bioengineering*”, 105(1), 73 –76.
- **Nannen, N.L., Huntkins, R.W. (1991).** “Proton-translocating adenosine triphosphatase activity in lactic acid bacteria”. *J. Dairy Sci*, 74: 747-751.
- **Ndiaye, M. (1991).** « Contribution à l'étude comparée de la qualité microbiologique des laits crus-laits caillés et laits en poudre commercialisés dans la région de Dakar Sénégal. Thèse de docteur vétérinaire ». Université Cheikh ANTA. Ecole des sciences et médecine vétérinaires. Dakar.
- **Neville , M.C et Jensen, R.G. (1995).** « The physical properties of human and bovine milks In Jensen R., *Handbook of milk composition-General description of milks, Academic* ». *Press,Inc*, 82 , 919 P .

- **Normanno, G., Corrente, M., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Parisi, A., Greco, G., Bellacicco, A.L., Virgilio, S., Celano, G.V. (2007).** « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy ». *International Journal of Food Microbiology*. 117, 219-222.
- **Nout M.J.R. (1994).** Fermented foods and food safety. *Food Res. Int.*, 27: 291-298.
- **Novel, G. (1993).** Les bactéries lactiques in : Microbiologie industrielle ; les microorganismes d'intérêt industriel. *Tech & Doc*, Lavoisier Paris, 614 P.
- **Orla-Jensen. (1919).** "The lactic bacteria hosled son". *Copen Hagen*. 74, 131-142.
- **Ouadghiri, M., (2009).** « Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine ». Thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V–agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc, 132 P.
- **Patrignani, F., Lanciotti, R., Mathara, J. M., Guerzoni, M. E. and Holzapfel. W. H. (2006).** "Potential of functional strains, isolated from traditional Maasai milk, as starters for the production of fermented milks", *Int. J. Food Microbiol.* 107, 1-11 P.
- **Perreau, J. M., Cauty, I., (2003).** La conduite de troupeau laitier. *France Agricole*, 288 P.
- **Pissang Tchangaï, D. (1992).** « Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits et produits laitiers commercialisés au Togo », Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- **Portmann, A. (1955).** « Influence respectives de la propreté des ustensiles et du refroidissement après la traite sur la qualité bactériologique du lait cru », *Le lait* V° 35, n° 343-344,132-150.
- **Pougheon, S. et Goursaud, J. (2001).** Le lait et ses constituants : Caractéristiques physico-chimiques, In : Debry, G., Lait, nutrition et santé, *Tec & Doc*, Paris, 42 P.
- **Pradal, M. (2012).** La transformation fromagère caprine fermière : bien fabriquer pour mieux valoriser ses fromages de chèvre. *Ed tec et doc*, Lavoisier, 294 P.
- **Reboux, G., Piarroux, R., Mauny, F., Madroszyk, A., Million, L., Bardonnnet, K., Dalphin, J.C. (2001).** « Role of moulds in farmer's lung disease in Eastern France". *Am. J. Resp. Crit. Care Med*, 163, 1534-1539.
- **Rendos, J.J., Eberhart, R.J., Kesler, E.M. (1975).** "Microbial population of teat ends of dairy cows and bedding materials". *J. Dairy Sci.* 58, 1492-1500.
- **Rheotest, M. (2010).** Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK – Produits alimentaires et aromatisants <http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>.
- **Richard, J. (1983).** « Nature de la flore microbienne dominante et sous-dominante des laits crus très pollués ». *Le lait*, n°63, 148-170.

- **Robinson, R. K. (1990).** « Dairy microbiology », V. 1, *Elsevier Science Publishers*, London, 163-208.
- **Sakho, M., Crouzet, J. (2009).** Transformation, conservation et qualité des aliments. Edition des archives contemporaines. Paris. 323 P.
- **Sutra, L., Federighi, M. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. *Polytechnica*, Paris, 908 P.
- **Savoie, F. (2013).** « Optimisation du protocole de recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments ». Thèse de Doctorat, Université De Bourgogne, France. 197 P.
- **Schalm, O.W., Lasmanis, J. (1968).** The leukocytes: Origin and functions in mastitis. *J A. V.M. A.* 135 P.
- **Schleifer, K. H. and Ludwig, W. (1996).** “Phylogeny of the Genus *Lactobacillus* and Related Genera”. *Syst. Appl. Microbiol.* 18:461-467.
- **Serieys, F. (1996).** Efficacité des spécialités de pré et post-trempage des trayons : les essais de terrain. Bulletin des GTV 520, 7-18.
- **Seydi, M., NDIAYE, M. (1993).** “Acidity and microbial flora contaminating Senegalese reconstituted curdled milk produced on small scale”. *Bull. De la Societe Medicale d'Afrique Noire de Langue Francaise*, 38, 61-67.
- **Sherman, J.M. (1937).** “The streptococci”. *Bact Rev* 1, 3-97.
- **Solomakos, N., Govaris, A., Angelidis, A.S., Pournaras, S., Burriel, A.R., Kritas, S.K., Papageorgiou, K.D. (2009).** “Occurrence, virulence genes and antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from raw bovine, caprine and ovine milk in Greece”. *Elsevier*. 865–871.
- **Sommeillier, L., Heuchel, V. (1999).** « Caractérisation microbiologique et aptitudes technologiques des laits ultra-propres ». Compte rendu, Institut de l'élevage, n° : 9983.
- **Srairi, M. T., Hamama, A. (2006).** Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. Transfert de technologie en agriculture, 2006, 137 P.
- **Tamagnini, L.M., De Sousa, B.G., González, R.D., Budde, C.E. (2006).** « Microbiological characteristics of Crotting goat cheese made in different seasons. *Small Ruminant Research*”, 66, 175 –180.
- **Tantaoui-Elaraki, A. and El Marrakchi, A. (1987).** « Study of the Moroccan dairy products: L'ben and smené”. *Mircen J.* 3, 211-220.

- **Tantaoui-Elaraki, A., Berrada, M., El Marrakchi, A. and Berramou, A. (1983a).** « Préparation de leben Marocain a l'aide de souches bactériennes sélectionnées ». *Actes de l'Int. Agro. Vet.(Maroc)* **3** : 49-58.
- **Tantaoui-Elaraki, A., Berrada, M., El Marrakchi, A. and Berramou, A. (1983b).** « Etude sur le leben marocain ». *Le lait* **63**, 230-245 .
- **Thieulin G. et Vuillaume R. (1967).** Eléments pratiques d'analyse d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris, 388 P.
- **Valle, J., Gomez-Lucia, E., Piriz, S., Goyache, J., Orden, J.A, Vadillo, S. (1990).** « Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats ». *Appl. Env. Microbiol.* **56**, 1323-1326.
- **Veisseyre, R. (1975).** Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait ; 3^{ème} édition, *la maison Rustique*, Paris, 714 P.
- **Vierling, E. (2008).** Aliments et boissons: Filières et production. 3^{ème} édition *Biosciences et techniques*, Paris, 387 P.
- **Vignerou, P.M. (1965).** « Quelques usages des ferments lactiques lyophilisés en médecine vétérinaire ». *Th. Méd. Vété.*, Toulouse, n° 22.
- **Vignola, C.L. (2002).** Sciences et technologie du lait : transformation du lait. *Presse Internationale polytechnique*, Paris, 600 P.
- **Walstra, P., Geurtes, T. J., Noomen, A., Jeellema, D., Van Boekel, M. A. J. S. (1999).** Technology: Principles of milk properties and process, Marcel Dekker, New York Basel, 120 P.
- **Weber, F. (1985).** Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. *Collection FAO Alimentation et nutrition*, n°47. 130 P.
- **Williams, B.M. (1975).** "Environmental considerations in salmonellosis". *Vét. Rec.* **96**, 318-321.
- **Yildiz, F. (2010).** Developpement and manufacture of yougurt and other dairy products, *CRC Press Taylor & Francis Group*, USA, 435 P.
- **Zarour, K., Benmechernene, Z., Hadadji, M., Moussa-Boudjemaa, B., Henni, J. E. et Kihal, M. (2012).** « Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle d'Algérie ». *Nature and Techn*, **8**, 39-47.



Annexes

Annexe I- Principales propriétés physiques du lait de vache et de chèvre (Croguennec et *al.*, 2008 ; Bonassi et *al.*, 1998).

Propriétés physico-chimiques du lait.	Vache	Chèvre
Pression osmotique	700.10 ³ Pa	
Activité de l'eau	0,993	
Point d'ébullition	100,15 °C	
Point de congélation	-0,51 °C à -0,55 °C	-0,04 °C
Densité	1,028 à 1,036	1,03 à 1,05
Indice de réfraction	1,3440-1,3485	
Masse volumique (à 20 °C)	1030 kg.m ⁻³	
Conductivité spécifique	0,0050ohm ⁻¹ .cm ⁻¹	
Force ionique	0,08 M	
Tension interfaciale (à 20°C)	47-53 N.m ⁻¹	
Viscosité (lait non homogénéisé), L'homogénéisation multiplie la viscosité du lait de 1,2 à 1,4.	2,0.10 ⁻³ Pa.s	
Conductibilité thermique (à 20°C) (Lait à 3% de matière grasse)	0,56 W.m ⁻¹ .k ⁻¹	
Diffusion thermique (à 15-20°C)	1,25.10 ⁻⁷ m ² .s ⁻¹	
Chaleur spécifique	3900 J.kg ⁻¹ .k ⁻¹	
pH (à 20 °C)	6,6-6,8	6,4-6,8
Acidité titrable	15-17°D	12-14°D
Coefficient d'expansion thermique (273K-333K)	0,0008m ³ .m ⁻³ .k ⁻¹	
Potentiel d'oxydoréduction (20 °C, pH=6,6 et en équilibre avec l'air)	+0,25 à +0,35 V	
Poids du litre	1032 g/kg de lait	1030 g/kg de lait

Annexe II- Composition moyenne de lait de vache et lait de chèvre (Vignola, 2002).

Composition (%)	Lait de vache	Lait de chèvre
Eau	87,5	87
Matière grasse	3,7	3,8
Protéines	3,2	2,9
Glucides	4,6	4,4
Minéraux	0,8	0,9

Annexe III- Matériel de laboratoire.

Appareillage

- Etuve réglée à 37°C (BINDER)
- Etuve réglée à 42°C (memment)
- Réfrigérateur
- Bain marie
- Congélateur
- Microscope optique
- Centrifugeuse
- Vortex
- Micropipettes (20, 50,100 et 1000 µl)
- L'embout (20, 50,100 et 1000 µl)

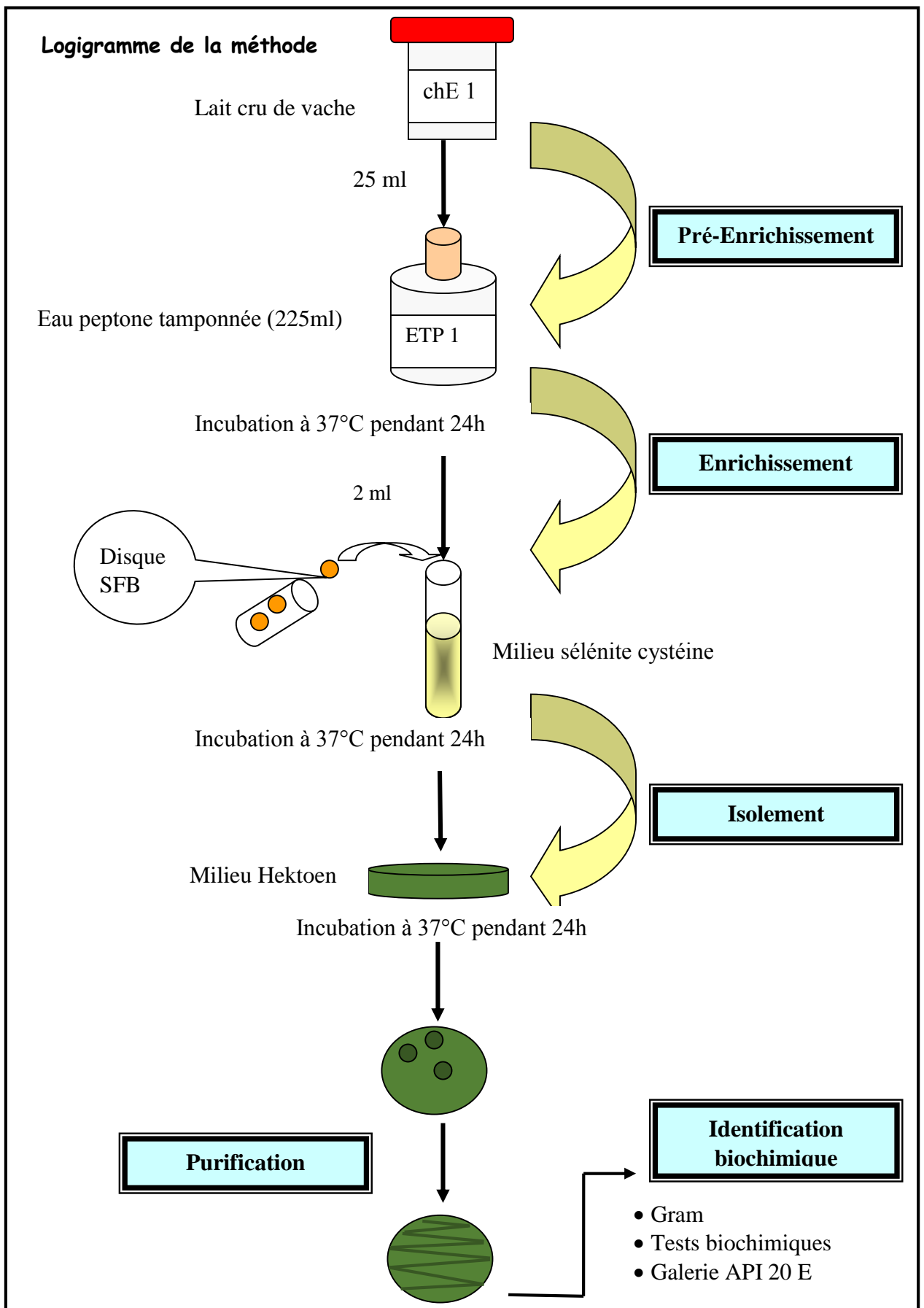
Verrerie

- Tubes à vis stériles
- Flacons à vis
- Pipettes pasteur
- Lame
- Lamelles

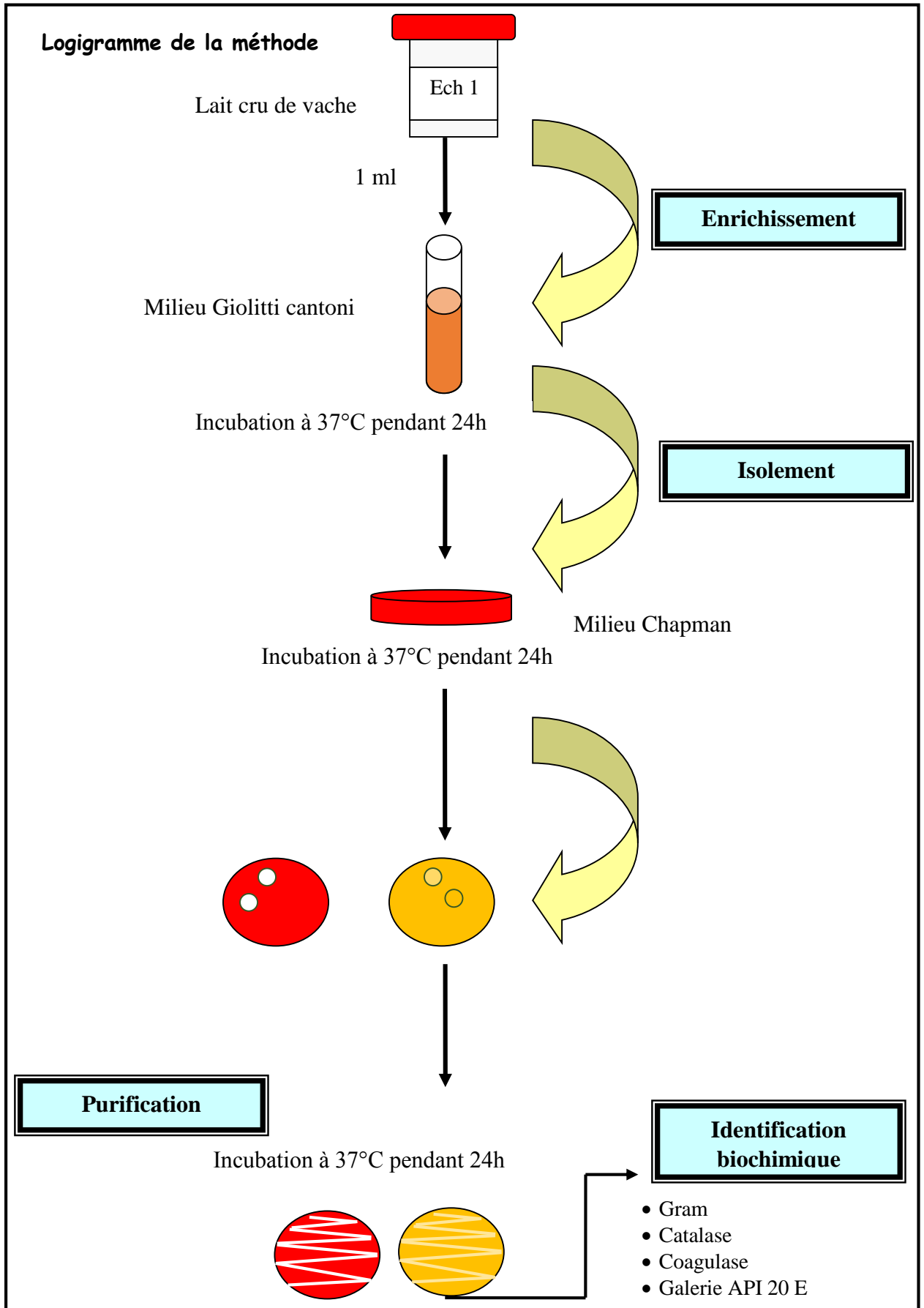
Autres

- Portoirs
- Bec Bunsen
- Boites de pétri
- Pots de prélèvements en plastique stériles de 60ml étiquetés
- Tubes de 14 ml en plastique pour la centrifugation
- Tubes Eppendorf

Annexe IV- Recherche des Salmonelles.



Annexe V- Recherche des Staphylocoques.



Annexe VI- Les résultats globales des analyses bactériologiques sont présentés selon l'absence ou la présence du germe pour chaque échantillon.

Type d'échantillons	Nombre d'échantillons	Salmonelles		Staphylocoques		<i>Escherichia coli</i>		
		Isolement	Identification	Isolement	Identification	Isolement	Identification	Sérogroupe
Lait de vache	1	-	-	+	<i>S. carnosus</i>	+	+	non agglutinable
	2	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-	-
	3	-	-	-	-	+	-	-
	4	-	-	-	-	+	+	non agglutinable
	5	-	-	-	-	+	-	-
	6	-	-	-	-	+	-	-
	7	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	
	8	+	-	+	<i>S. hyicus</i>	+	-	-
	9	+	-	+	<i>S. hyicus</i>	+	+	non agglutinable
	10	-	-	+	<i>S. hyicus et S. aureus</i>	+	-	-
	11	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-	-
	12	+	-	+	<i>S. chromogenes</i>	+	+	
	13	+	-	+	<i>S. chromogenes</i>	+	+	

	14	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-	-
	15	+	-	+	<i>S. chromogenes</i> <i>et S. aureus</i>	+	+	Non agglutinable
	16	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	
	17	-	-	-	-	+	+	
	18	-	-	+	<i>S. chromogenes</i>	+	-	-
	19	-	-	+	<i>S. chromogenes</i>	+	-	-
	20	-	-	-	-	+	+	non agglutinable
	21	-	-	+	<i>S. chromogenes</i>	+	+	non agglutinable
	22	-	-	+	<i>S. chromogenes</i> <i>et S. aureus</i>	+	+++	non agglutinable, Autoagglutination
	23	-	-	-	-	+	+	
	24	-	-	+	<i>S. chromogenes</i>	+	+	non agglutinable
	25	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-	-
	26	-	-	+	<i>S. chromogenes</i>	+	+	non agglutinable
	27	-	-	-	-	+	+	non agglutinable
	28	-	-	-	-	+	-	-
	29	-	-	-	-	+	-	-

	30	-	-	-	-	+	+	non agglutinable
	31	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-	-
	32	-	-	-	-	+	+	non agglutinable
	33	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	
	34	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	
	35	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	non agglutinable
	36	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	++	non agglutinable
	37	-	-	-	-	+	+	non agglutinable
	38	-	-	-	-	+	-	-
	Lait de chèvre	39	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-
40		-	-	-	-	+	+	non agglutinable
41		-	-	-	-	+	+	non agglutinable
42		-	-	+	<i>S. hyicus</i>	+	-	-
43		-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	
44		-	-	+	<i>S. chromogenes</i>	+	+	non agglutinable
	45	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	non agglutinable
	46	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	non agglutinable

	47	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	non agglutinable
	48	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	Agglutination O127
	49	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	non agglutinable
	50	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	++	Autoagglutinable, Agglutination O127
	51		-	+	<i>S. aureus</i>		+	non agglutinable
	52	-	-	-	-	+	+	non agglutinable
	53	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-	-
	54		-	-	-		+	non agglutinable
	55		-	-	-		-	-
	56	+	-	-	-	+	+	
	57		-	+	<i>S. aureus</i>		++	non agglutinable
	58	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-	-
	59	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	non agglutinable
	60	+	-	-	-	+	-	-
	61	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	
	62	-	-	+	-	+	+	
	63	-	-	+	-	+	-	-

	64	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	+	
	65	+	-	+	<i>S. aureus</i>	+	++	non agglutinable
	66	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-	-
	67	-	-	+	<i>S. aureus</i>	+	-	-
	68	-	-	-	-	+	-	-
	69	-	-	-	-	+	+	non agglutinable
	70	-	-	-	-	+	-	-
	71	+	-	+	<i>S. carnosus</i>	+	-	-