

**République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

Université – Saad Dahleb - Blida 1

**Faculté des sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire**

**Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme
de Master en Biologie
Option : Qualité en Productions Animales**

THEME

**Contrôle de la Qualité Bactériologique et Recherche des
Résidus d'Antibiotiques dans le Lait de Vache Cru
Commercialisé dans la Wilaya de Blida.**

Réalisé par :

CHERIF Khadidja & GHEZAL Wafia

Soutenu le : 10/2017

Devant le jury composé de =

Mme BENCHABANE S.	MCB	Université Blida 1	Présidente
Mme DEFFAIRI	MAA	Université Blida 1	Examinatrice
M. BOUKHATEM M.N.	MCA	Université Blida 1	Promoteur

Promotion 2016/2017

REMERCIEMENT

En tout premier lieu, nous devons 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, **Mr BOUKHATEM M.N.** pour la confiance qu'il nous a accordées en nous proposant cette étude et aussi d'avoir accepté de la diriger, nous le remercions pour toute l'aide scientifique et technique qu'il nous a apportée au cours de la réalisation de ce travail et pour sa gentillesse aussi.

Nous tenons à remercier chaleureusement tous les membres du jury,
Mme. BEN CHAABANE pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury de mémoire.
Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.

Mme DEFFAIRI pour avoir accepté d'examiner ce travail, qu'elle trouve ici notre profonde reconnaissance.

Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire d'hygiène de BLIDA ainsi qu'à celle centre de collecte « Danone » Blida, pour leur accueil et leur 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.** et **Mlle ELMAHDI L.** pour leurs soutiens inconditionnels et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

"Merci à tous"

★ ★ ★

Dédicace

*Tous d'abord, je remercie le **bon Dieu** de m'avoir donné le courage pour réaliser ce travail et la patience pour aller jusqu'au bout du parcours de mes études.*

Je dédie le fruit de ma patience, de ma persévérance :

Aux êtres les plus chers au monde,

*à ma raison de vivre et ma fleur de vie, **ma chère mère** qui m'a apporté beaucoup d'amour et d'affection, je la remercie de sa présence dans les meilleurs moments comme les mauvais.*

*Mon **cher père** qui n'a jamais cessé de combattre pour me voir réussir un jour.*

Que dieu leurs accorde une longue vie.

*A mon très cher frère **Amine**, merci d'être toujours à mes côtés.*

*A ma chère sœur **Asma**, son époux **Karim** et leur petit ange **Wael**.*

*A ma chère sœur **Hafsa** et cher frère **Raouf** qui je les souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite inshallah.*

*A toute **ma famille**.*

*A mon binôme **Wafiya** qui m'a accompagnée tout au long de ce mémoire, je la remercie pour son amitié sincère et pour tous les bons moments passés ensemble.*

*A tous mes camarades de promotion, surtout **Wissem, Soumia, Sonia, Wahiba, Sabah et Meriem**,*

*Et plus particulièrement, mes très chères amies **Ibtisem** et **Asma** symbole d'ambiance et de gaieté, vous avez été pour moi durant ce temps passé ensemble plus qu'amies, des sœurs. Toute ma gratitude et ma sympathie pour votre soutien, merci pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et une carrière pleine de gloire inshallah.*

*A tous mes amis, surtout **Loubna, Zineb, Sabrina, Lamia et Abdel**, qui m'ont aidé et encourager chacun à sa façon.*

A tous mes enseignants, je leurs exprime ma profonde gratitude.

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

KHADIDJA

SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des annexes

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Introduction

CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Lait de vache, composition et propriétés physiques

1.1.1. Définitions

1.1.2. Composition du lait

1.1.2.1. Composition chimique

1.1.2.2. Composition cellulaire

1.1.2.2.1. Cellules somatiques

1.1.2.2.2. Micro-organismes du lait

1.1.3. Facteurs influençant la composition du lait

1.1.4. Caractéristiques organoleptiques du lait

1.1.5. Caractéristiques physico-chimiques du lait

1.2. Antibiotiques

1.2.1. Définitions

1.2.2. Résidus d'antibiotiques

1.2.2.1. Définition des résidus

1.2.2.2. Limites maximales des résidus (LMR)

1.2.2.3. Délai d'attente

1.2.2.4. Problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait

1.2.2.4.1. Problèmes sanitaires

1.2.2.4.2. Problèmes technologiques

1.3. Contamination du lait

1.3.1. contamination du lait par les bactéries

1.3.2. contamination du lait par les résidus d'antibiotiques

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

2.1. Objectif de l'étude

2.2. Cadre de l'étude

2.2.1. site de l'étude

2.2.2. période de l'étude

2.2.3. Echantillonnage

2.3. Matériel et méthodes

2.3.1. Matériel

2.3.2. méthodes

2.3.2.1. Analyses bactériologiques

2.3.2.1.1. préparation des dilutions décimales

2.3.2.1.2. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT)

2.3.2.1.3. recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.

2.3.2.1.4. recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

2.3.2.1.5. recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

2.3.2.1.6. recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs

2.3.2.1.7. recherche des salmonelles

2.3.2.2. Recherche des résidus d'antibiotiques « Delvotest® »

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Analyses bactériologiques

3.1.1. Recherche et dénombrement de Flore Aérobie Mésophiles Totales

3.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux

3.1.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

3.1.4. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

3.1.5. Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito- réducteurs

3.1.6. Recherche et dénombrement des Salmonelles

3.2. Résultats de la recherche des résidus d'antibiotiques (ATB)

Conclusion

Recommandations

Références bibliographiques

Annexes

Liste des Tableaux

Titre	Page
Tableau 1.1. Composition chimique du lait (g/L).	4
Tableau 1.2. Acides aminés essentiels et non-essentiels du lait.	5
Tableau 2.1. Caractéristique et objectif de la recherche de la FAMT.	17
Tableau 2.2. Caractéristiques, milieux sélectifs et but de la recherche des coliformes Totaux (CT) et coliformes fécaux (CF) ou thermo-tolérants	18
Tableau 2.3. Caractéristiques, milieux sélectifs et but de recherche des streptocoques fécaux.	20
Tableau 2.4. Caractéristiques, milieux sélectifs et but de recherche des <i>S. aureus</i> .	21
Tableau 2.5. Caractéristiques, milieux sélectifs et but de recherche des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs.	23
Tableau 2.6. Caractéristiques, milieux sélectifs et but de recherche de salmonelles.	24

Liste des Figures

Titre	Page
Figure 2.1. Carte géographique de la wilaya de Blida précisant les différentes communes incluses dans notre étude d'échantillonnage.	15
Figure 2.2. Préparation des dilutions décimales.	16
Figure 2.3. Bouillon VBL pour le dénombrement des coliformes (Test de présomption).	18
Figure 2.4. Test de confirmation des coliformes thermo-tolérants.	19
Figure 2.5. Test de confirmation de la présence d' <i>Escherichia coli</i> .	19
Figure 2.6. Repiquage des streptocoques fécaux dans le milieu Rothe.	20
Figure 2.7. Repiquage des streptocoques fécaux dans le milieu Eva (Test de présomption).	22
Figure 2.8. Enrichissement secondaire et isolement des salmonelles.	24
Figure 2.9. Coffret de Delvotest SP–NT.	25
Figure 2.10. Etapes à suivre en appliquant le Delvotest SP–NT.	26
Figure 2.11. Incubation des ampoules.	27
Figure 2.12. interprétation des résultats Delvotest SP–NT.	27
Figure 2.13. Résultats des analyses par Delvotest.	27

Liste des Abréviations

AFNOR	Association Française de Normalisation
ATB	Antibiotique
CF	Coliformes fécaux
CT	Coliformes totaux
DLC	Date Limite de Consommation
EC	European Community
EPEI	Eau Peptonée Exempte d'Indole
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nation
FMAT	Flore Mésophile Aérobie Totale
FSA	Food Standard Agency
GN	Gélose nutritive
GH	Hormone De Croissance
JORA	Journal Officiel République Algérienne
LTH	Luteotropic <i>Hormone</i>
LH	Hormones Luteotrope
LMR	Limite Maximale des Résidus
MG	Matière Grasse
MS	Matière Sèche
NPP	Nombre le Plus Probable
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONPG	Ortonitrophénol-Bêta-Galacto-Pyranoside
PCA	Plate Count Agar
pH	Potentiel Hydrogène
S/C	Simple Concentration
SFB	Bouillon Sélénite Cysteine
SM	Solution Mère
STH	<i>Hormone</i> Somatotrope
TDA	Tryptophane Désaminase
TIAC	Toxi-Infection Alimentaire Collectives
TSE	Tryptone- Sel- Eau
UFC	Unités Formant Colonie
VBL	Bouillon Lactose Bilié au Vert Brillant

RESUME

Le lait constitue un milieu favorable à la croissance de plusieurs microorganismes dont certains sont pathogènes. Il doit répondre à des normes drastiques, afin d'assurer une qualité irréprochable tant sur le plan microbiologique que toxicologique.

En vue d'apprécier les risques microbiologiques liés à la consommation de cet aliment, nous avons conduit cette étude afin de rechercher les résidus d'antibiotiques et d'apprécier la qualité bactériologique du lait de vache cru commercialisé au niveau de quelques communes de la wilaya de Blida.

Les niveaux de contamination ont été interprétés conformément des critères microbiologiques définis dans la réglementation algérienne en vigueur (Journal Officiel).

L'encadrement zootechnique des acteurs et la vulgarisation des bonnes pratiques d'hygiène, tout au long de la chaîne de production, sont nécessaires pour l'amélioration de la qualité du lait local.

Mots-clés : Lait de vache cru, Qualité hygiénique, Analyses bactériologiques, Delvotest , Résidus d'antibiotiques, Staphylocoques.

ABSTRACT

Milk is an environment favorable to the growth of several microorganisms, some of which are pathogenic. It must meet drastic standards in order to ensure an irreproachable quality, both microbiologically and toxicologically.

In order to assess the microbiological risks associated with the consumption of this food, we conducted this study in order to investigate the residues of antibiotics and to determine the bacteriological quality of raw bovine's milk marketed at some communes of the Blida region.

The levels of contamination have been interpreted according to microbiological criteria defined in the Algerian regulations.

The zootechnical supervision of the actors and the popularization of good hygiene practices throughout the production chain are necessary to improve the quality of local milk.

Keywords: Bovine raw milk, Hygienic quality, Bacteriological analysis, Delvotest, Residues of antibiotics, Staphylococci.

INTRODUCTION

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an. Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des Algériens ; il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière lait connaît une croissance annuelle de 8%. Avec un taux de collecte inférieur à 15%, cette filière reste, cependant, fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (**El Hassani, 2013 ; Belhadia *et al.*, 2014**).

La flambée des prix de cette matière première sur le marché international a conduit les pouvoirs publics à mettre en œuvre un programme quinquennal (2005-2010) d'intensification des productions agricoles, à l'effet d'augmenter la production de lait de vache et de l'intégrer dans les circuits de la production. En effet, selon l'Office National Interprofessionnel du lait en 2009, la production de lait cru a permis, de par son intégration dans le processus de transformation au niveau des laiteries, d'abaisser la facture d'importation de poudre de lait à environ 400 millions de dollars, contre 750 millions en 2008 (**El Hassani, 2013**).

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. Des souches pathogènes pour l'homme et l'animal, pouvant avoir acquis des résistances multiples aux antibiotiques (ATB), peuvent y proliférer (**Ben-Mahdi et Ouslimani, 2009 ; Titouche *et al.*, 2013 ; Mensah *et al.*, 2014**). Une évaluation de la qualité hygiénique du lait permet de rechercher la microflore naturelle et des microorganismes témoins de contaminations extra-mammaires éventuelles.

Différentes études ont été menées pour déterminer les origines de la contamination du lait à la production en vue de mettre en place, au sein de ces filières, des programmes de lutte adaptées et préserver la santé des consommateurs (**Aggad *et al.*, 2009 ; Ghazi et Niar, 2011 ; Hakem *et al.*, 2013**). De ce fait, les connaissances sur la qualité microbiologique du lait en Algérie sont limitées aux données fragmentaires sur les germes aérobies totaux, les lactobacilles, les *Enterobacteriaceae*, les levures et les moisissures (**Ben-Mahdi et Ouslimani, 2009**).

Plusieurs facteurs de risques de contamination du lait aux différents stades de sa production entrent en jeu, ce qui nous a incités à réaliser ce travail, dont l'objectif principal était la mise en évidence de la qualité hygiénique et sanitaire du lait de vaches cru commercialisé au niveau de différentes communes de la wilaya de Blida.

Ce mémoire s'articule sur trois chapitres :

- Chapitre 1 : consacré à une synthèse bibliographique rassemblant des données concernant le lait, ses propriétés ainsi que sa composition et sa qualité hygiénique et sanitaire.
- Chapitre 2 : décrit les techniques expérimentales pour lesquelles utilisées ainsi que le matériel et méthodes analytiques mis en œuvre tout au long de ce travail.
- Chapitre 3 : regroupe l'ensemble des résultats acquis au cours de différentes analyses aux laboratoires avec leurs interprétations et discussion.

Une conclusion générale avec recommandations couronneront le travail effectué.

Chapitre 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Lait de vache, composition et propriétés physiques

1.1.1. Définition

Le lait de vache est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. C'est un fluide complexe contenant de nombreux composants dispersés (**Luquet et Corrieu, 2005**).

Selon le **règlement européen (2004)**, le lait cru est 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.

1.1.2. Composition du lait

1.1.2.1. Composition chimique

Le lait est un mélange complexe constitué à 90 % d'eau, il comprend (**Ennuyer et Laumonnier, 2013**):

- Une solution vraie avec un sucre, des protéines solubles, des minéraux et des vitamines hydrosolubles.
- Une solution colloïdale avec les protéines, en particulier les caséines.
- Une émulsion avec les matières grasses.

La composition chimique moyenne du lait de vache est détaillée dans **l'annexe I**.

1.1.2.1.1. Eau

C'est de loin le composé le plus abondant ; en elle sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de sa matière sèche (**Ennuyer et Laumonnier, 2013**).

1.1.2.1.2. Matière grasse

La matière grasse se présente dans le lait sous la forme de globules d'un diamètre d'environ 3 à 5 µm en émulsion dans la phase aqueuse du lait. Ces globules sont enrobés et protégés par une membrane primaire, essentiellement composée de substances à caractère émulsifiant, notamment des phospholipides, des lipoprotéines et du cholestérol. Elle contribue de ce fait à la répartition régulière des globules gras dans la phase aqueuse.

La matière grasse du lait se caractérise par une très grande variété d'acide gras allant de l'acide butyrique (C4) à l'acide arachidonique (C20) (**Jaques, 1998**).

Les proportions des acides gras du lait sont en détails dans **l'annexe II**

1.1.2.1.3. Protéines

Les protéines du lait représentent 95% des matières azotées totales, la mamelle synthétise 90% des protéines du lait ; caséines et protéines du lactosérum (essentiellement les lactoglobulines). Les caséines sont entièrement synthétisées par la mamelle, alors que les lactoglobulines sont des protéines sanguines modifiées par celle-ci, les 10% de protéines du lait restant (sérum albumines, immunoglobulines) proviennent directement du sang (**Luquet et al, 2005**).

1.1.2.1.4. Lactose

En référant à la matière sèche, le lactose est le composant majeur, il est le plus constant en proportion dans le lait. Le lactose est le seul sucre libre et quasi exclusif du lait, à la concentration de 50 g/L dans le lait de vache, il représente presque la moitié de la matière sèche et son activité osmotique globale est beaucoup plus élevée que celle des autres constituants. Au cours de la fermentation par les bactéries lactiques, ce disaccharide de glucose et galactose est transformé en acide lactique (**Luquet et Corrieu, 2005**).

1.1.2.1.5. Minéraux

Le lait de vache est riche en macroéléments comme le calcium, le phosphore, le magnésium et le potassium, plus précisément, on y trouve les concentrations suivantes :

- Calcium	1,2 à 1,3 g/l
- Phosphore	0,8 à 1 g/l
- Magnésium	100 à 120 mg/l
- Potassium	1,3 g/l

Les concentrations en oligo-éléments sont les suivantes : (**Ennuyer et Laumonnier, 2013**)

- Fer	0,3 mg/l
- Zinc	3,7 mg/l
- Sélénium	37 µg/l
- Sodium	430 mg/l
- Chlorure	1190 mg/l

1.1.2.1.6. Vitamines

Le lait contient des vitamines liposolubles A, D, E et K, leur teneur dépend beaucoup de l'alimentation. Et des vitamines hydrosolubles, dont celles du groupe B sont les plus constantes en proportion, car les vitamines sont synthétisées par les bactéries du rumen (**Leymarios, 2010**).

1.1.2.1.7. Hormones

Elles viennent du sang qui alimente les glandes mammaires (**Jaques, 1998**). Les hormones découvertes dans le lait cru de vache sont :

- Hormones peptidiques
 - Prolactines ou lutéostimuline.
 - Facteur de libération de la thyrotrophine.
 - Facteur de libération de gonadotrophine.
 - Hormones lactogène placentaire.
 - Hormones de croissances ou hormone somatotrope ou somatotrophine.
 - Hormones lutéotrope.
- Hormone stéroïde (essentiellement la progestérone) (**Gyorgi et al., 1974**).
-

1.1.2.1.8. Enzymes

Il en a été répertorié plus d'une soixantaine dans le lait, certaines sont des facteurs de dégradation (utiles ou nuisibles), comme les protéases qui facilitent l'hydrolyse de la caséine, et les lipases, facteurs de rancissement. D'autres possèdent une activité bactéricide ou bactériostatique.

On distingue :

- Les enzymes natives, dites encore naturelles ou intrinsèques.

- Les enzymes d'origine externe, celles des microorganismes ou extrinsèques (**Jaques, 1998**).

1.1.2.2. Composition cellulaire

1.1.2.2.1. Cellules somatiques

Une mamelle saine a toujours un lait contenant peu de cellules somatiques. Celles-ci sont composées de cellules épithéliales, et surtout des globules blancs qui sont naturellement présents dans le pis, où ils participent activement à la défense contre une éventuelle infection.

Dans le cas d'une infection, il y a un afflux important de globules blancs dans le pis, cette réaction est tout à fait normale et salubre pour l'animal car elle lui permet de combattre efficacement l'infection.

L'élévation du taux cellulaire dans le lait est donc liée à un phénomène inflammatoire, une mammite d'origine infectieuse le plus souvent (**Paape *et al.*, 1999**).

Le tableau dans l'**annexe II** regroupe les cellules somatiques du lait.

1.1.2.2.2. Micro-organismes

➤ Flore originelle

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (**Vignola, 2002**). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (**Guiraud, 2003**).

➤ Micro-organismes potentiellement pathogènes

▪ *Salmonella*

Au sein d'un élevage, 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**).

Elles survivent aux basses températures et donc résistent à la réfrigération et à la congélation. En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 sec). Elles sont capables de se multiplier dans une plage de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique, lorsque

celle-ci entraîne des concentrations en acide lactique supérieures à 1% et un pH inférieur à 4,55 (Jay, 2000 ; Guy, 2006).

- ***Listeria monocytogenes***

Les principales voies de contamination par *Listeria monocytogenes* sont les fèces, la peau des trayons, les litières et surtout l'ensilage (Saana, 1994). Selon Zundel (2000), 0 à 80% des vaches d'un troupeau laitier apparemment sain, peuvent être des porteurs et excréteurs de *Listeria* par les matières fécales. La contamination du lait par *Listeria monocytogenes* est d'origine environnementale dans 95% des cas ; alors que l'origine intra-mammaire est peu fréquente (Babadji et Oubrahem, 2003 ; Sanaa, 1993 ; Sanaa *et al.*, 1996).

La prévalence de *Listeria monocytogenes* dans le lait cru est faible mais constitue un risque réel pour la santé du consommateur. En Algérie elle est de 1.96% (Lebres, 2002).

- ***Escherichia coli***

Les *Escherichia coli* sont des commensaux normaux de l'intestin de l'homme et des animaux, elles peuvent se multiplier à des températures comprises entre 4 °C et 46 °C, avec un optimum de croissance à 37 °C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5 (Brisabois *et al.*, 2008).

Elle fait partie des bactéries pathogènes qui peuvent se retrouver dans le lait cru, *E. coli* provient généralement de la peau des mamelles (Richard et Braquehay, 1985). Cette bactérie d'origine fécale peut survivre sur un sol souillé. Son implantation dans le matériel de traite est inhabituelle.

- ***Staphylococcus* à coagulase positive et *Staphylococcus aureus* :**

Ces bactéries du genre *Staphylococcus* se distinguent par la capacité de produire une enzyme appelée coagulase. Celle-ci entraîne la coagulation du plasma sanguin. *Staphylococcus aureus*, encore appelé staphylocoque doré, fait partie de ce groupe de *Staphylococcus* à coagulase positive.

Il est le plus fréquemment mis en cause en cas d'intoxication via les aliments, et représente un des agents le plus souvent incriminés dans les cas de toxi-infections alimentaires. Ce groupe de bactéries produit de nombreuses toxines qui résistent à la chaleur, certaines de ces toxines seulement provoquent des intoxications alimentaires (Anses, 2011 ; Brisabois *et al.*, 1997) Les infections mammaires à *S. aureus* constituent la principale source de contamination du lait à la production. Cette bactérie est responsable d'une proportion importante des mammites sub-cliniques et chroniques chez la vache laitière, et d'environ un tiers des mammites cliniques (Heuchel et Meffe, 2000).

▪ Autres pathogènes humains connus dans le lait cru :

D'autres pathogènes humains sont susceptibles d'être présents dans le lait cru :

Yersinia enterocolitica, *Campylobacter jejuni* ; Bactéries du genre *Mycobacterium*, Bactéries du genre *Brucella*, *Coxiella burnetii*, *Streptococcus agalactiae*, *Clostridium botulinum* et *perfringens*, *Bacillus cereus*, virus (Brisabois, *et al.*, 1997 ; Vignola, 2002 ; Oliver , 2009).

➤ Flore d'altération

▪ Flore thermorésistante

Les composantes de cette flore sont: *Micrococcus*, *Microbactérium* et *Bacillus* dont l'espèce *cereus* produit une entérotoxine. Cette flore est apportée dans le lait par le sol, les ensilages, les fèces et les résidus dus à l'insuffisance de nettoyage et de désinfection des matériels en contact avec le lait. Au même titre que les coliformes, elle est une bonne indicatrice de l'hygiène de la machine à traire (Mourgues *et al*, 1983).

▪ Coliformes

Les coliformes sont des entérobactéries, qui fermentent le lactose avec production de gaz. Il s'agit d'un groupe qui comprend les genres *Escherichia* (avec espèces *coli*, *intermedium*, *freudii*), *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Cuq, 2007). Leur développement est freiné par l'abaissement du pH et leur croissance stoppée lorsque le pH est inférieur à 4,5. Ils sont peu résistants à la chaleur (Le Minor et Richard, 1993).

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts :

- les non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 30°C.
- les fécaux dont l'origine essentielle est le tube digestif, qui sont plus thermo-tolérants (détectés à 44°C), *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe (Cuq, 2007).

▪ Flore psychrotrophe

Le terme « psychrotrophe » désigne des micro-organismes qui ont la faculté de se développer à une température inférieure à +7°C, indépendamment de leur température de croissance plus élevée. Parmi les micro-organismes qui composent ce groupe, nous pouvons citer:

- Gram (-) : *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia*.
- Gram (+) : *Micrococcus*, *Corynebactérium*.

En général, dans le lait et les produits laitiers ; c'est le genre *Pseudomonas* qui domine, il est fortement psychrotrophe et il se multiplie par 100 en 48 heures à +4°C. Ces germes produisent des lipases et des protéases thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables dans les produits laitiers : goût amer, rance, putride (**Leveau et Bouix, 1993**).

▪ Levures et moisissures

Les levures et moisissures sont des cellules eucaryotes rattachées au règne végétal par leurs structures cellulaires. Regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre que dans tous les autres produits laitiers (**Abdessalam, 1984**).

1.1.3. Facteurs influençant la composition du lait

La composition du lait décrite dans l'**annexe I** est soumise à de nombreux facteurs de variation. Le taux de matière grasse, de protéines ainsi que les proportions de caséines, et de protéines lactosériques sont les plus sensibles à certains de ces facteurs (**Luquet et Corrieu., 2005**).

1.1.3.1. Variabilité génétique entre individus

Il est bien connu que la race a un impact sur la concentration des composants du lait (**Cerbulis et Farrell, 1975**). La composition des différents laits d'animaux varie considérablement d'une espèce à l'autre, mais aussi à l'intérieur d'une même espèce, voire à l'intérieur des types ou des races d'espèces identiques (**FAO, 2011**).

1.1.3.2. Stade de lactation

Les teneurs en matière grasse et en matière protéique évoluent de façon inverse à la quantité de lait produite. Elles sont maximales au cours des premiers jours de lactation, minimales durant les 2 ou 3 premiers mois de lactation, et s'accroissent ensuite jusqu'à la fin de la lactation (**Pougheon, 2001**).

L'amplitude de variation est généralement plus importante pour le taux butyreux que pour le taux protéique. Les laits de fin de lactation présentent les mêmes caractéristiques des laits sécrétés par les animaux âgés. En outre, les deux taux, protéique et butyreux, ont tendance à diminuer au cours des lactations successives (**Meyer et Denis, 1999**).

1.1.3.3. Age

Le vieillissement des vaches provoque un appauvrissement de leur lait, ainsi, la richesse du lait en matière sèche tend à diminuer. Ces variations dans la composition sont attribuées à la

dégradation de l'état sanitaire de la mamelle ; en fonction de l'âge, le nombre de mammites croît et la proportion des protéines solubles augmente, en particulier celles provenant du sang (**Mahieu, 1985**).

1.1.3.4. Facteurs alimentaires

Les facteurs alimentaires jouent un rôle non négligeable, et peuvent influencer la composition du lait, dont :

- Une réduction courte et brutale du niveau d'alimentation se traduit par une baisse variable du taux protéique (**Pougheon, 2001**).
- la sous-alimentation entraîne une diminution de la quantité de lait et un amaigrissement de l'animal qui utilise les réserves corporelles pour la sécrétion de lait. La teneur en matière grasse ne diminue que s'il y a une réduction simultanée des apports énergétiques et azotés.
- La suralimentation provoque un accroissement de la production de lait qui est plus importante pour les vaches à potentialité élevée ; mais la composition de lait varie peu (**Alais, 1984**).

1.1.3.5. Facteurs climatiques ou saisonniers

Les pourcentages de gras et de protéines dans le lait sont plus élevés pendant l'hiver que pendant l'été (**Varga et Ishler, 2007 ; Heck et al., 2009; Bauman et al., 2011b**).

Le composant du lait qui varie le moins dû aux saisons est la lactose, et celui qui varie le plus est la MG, avec la protéine qui représente un résultat mitoyen (**Heck et al., 2009**).

Les vaches hautes productrices sont plus vulnérables au stress thermique dû à leur production de chaleur métabolique plus élevée qui est fortement associée à la production laitière (**Renaudeau et al., 2012**) . Le stress thermique réduit la consommation de matière sèche (MS), qui à son tour réduit la consommation d'énergie. C'est cette diminution d'apport en énergie qui affecterait la teneur des composants du lait (**West, 2003; Renaudeau et al., 2012**).

1.1.4. Caractéristiques organoleptiques

1.1.4.1. Couleur

Le lait est un liquide blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates, ou parfois bleuté ou jaunâtres du fait de la bêta carotène ou de la lactoflavine contenue dans la matière grasse (**Jacques, 1998**).

1.1.4.2. Odeur

Selon **Vierling (2003)**, le lait n'a pas d'odeur propre, mais du fait de la matière grasse qu'il contient, il fixe des odeurs animales. Elles sont liées à :

- ✓ l'ambiance de la traite.
- ✓ l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur).
- ✓ la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

1.1.4.3. Saveur

La saveur du lait normal frais est agréable, celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru ; les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée ; il en est parfois de même du colostrum.

L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, peut transmettre au lait des saveurs anormales, en particulier un goût amer ; la saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**Thieulin et Vuillaume, 1967**).

1.1.4.4. Viscosité ou consistance

Le lait est de viscosité variable en fonction de l'espèce animale. C'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**).

1.1.5. Caractéristiques physico-chimiques

1.1.5.1. Masse volumique

La masse volumique est le quotient de la masse d'un certain volume de lait à 20°C par ce volume ; elle s'exprime en g.ml^{-1} . Les valeurs moyennes concernant le lait de vache se situent entre 1.028 et 1.032 g.ml^{-1} (**Mathieu, 1998**).

1.1.5.2. Densité

La densité du lait est exprimée par le rapport du poids d'un volume de lait à une température donnée sur le poids d'un même volume identique d'eau à la même température (**Vierling, 2008**). **Mathieu (1998)** a rapporté qu'un lait normal a une densité spécifique qui varie de 1.023 à 1.040 à 20°C.

Selon **Alais (1984)**, la densité du lait est un paramètre qui varie selon l'espèce.

1.1.5.3. Point d'ébullition

Il est défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la solution est égale à la pression appliquée. Il est légèrement supérieur à celui de l'eau, soit : 100.5°C (**Jean *et al.*, 1993**).

1.1.5.4. Point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une des caractéristiques physiques les plus constantes (**Jaques, 1998**). Sa valeur moyenne est de l'ordre de -0.55°C.

Sa mesure est utilisée pour détecter le mouillage, si le point de congélation est supérieur à -0.53°C on suspectera une addition d'eau (**Mahaut *et al.*, 2000**).

1.1.5.5. pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait ; un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7.

- Cette valeur est due en grande partie aux :
 - ✓ groupements basiques ionisables et acides dissociables des protéines.
 - ✓ groupements esters phosphoriques des caséines.
 - ✓ acides phosphoriques et citriques.
- Il évolue au cours de la lactation : 6.5 ou moins dans le cas du colostrum dont la teneur en protéines peut dépasser 100g par litre.
- Il change avec l'état sanitaire du pis et peut dépasser 7 dans le cas d'une mammite.
- Son abaissement peut être la conséquence de :
 - ✓ la production d'acide lactique à partir du lactose par voie fermentaire.
 - ✓ une addition de substances diverses telles qu'acides, sels de calcium, ou certaines lactones (**Mathieu, 1998**).

1.1.5.6. Acidité de titration

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose ; un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°D. Conservé à la température ambiante, le lait s'acidifie spontanément et progressivement, c'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle (celle qui caractérise le lait frais) d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes (**Mathieu, 1998**).

1.2. Antibiotiques

1.2.1. Définition

Les antibiotiques se définissent comme des molécules antibactériennes synthétiques ou naturelles (d'origine biologique) capables d'inhiber la croissance des bactéries ou les détruire (**Helali, 1999**). Ils ont une toxicité sélective ; ils sont toxiques pour les bactéries mais pas pour l'organisme cible (**Merad et Merad, 2001**).

Les sources principales des antibiotiques sont les champignons, mais aussi les bactéries. Il existe également des antibiotiques entièrement synthétiques (**Ziadi, 2010 ; Guillemot *et al.*, 2006 ; Merad et Merad, 2001 ; Yala *et al.*, 2001**), d'après les mêmes auteurs, les antibiotiques sont définis aussi par leur spectre d'activité, leur toxicité sélective, leur mode d'action, et leurs propriétés pharmacocinétiques.

1.2.2. Résidus d'antibiotiques

1.2.2.1. Définition des résidus

Les résidus sont définis comme toutes substances pharmacologiquement actives, qu'il s'agisse de principes actifs, d'excipients ou de métabolites présents dans les liquides et tissus des animaux après administration des médicaments et susceptibles d'être retrouvés dans les denrées alimentaires produites par ces animaux et susceptibles de nuire à la santé humaine (**Laurentie et Sanders, 2002**).

1.2.2.2. La limite maximale des résidus (LMR)

▪ Définition

C'est la concentration maximale en résidus, résultant de l'utilisation d'un médicament vétérinaire considéré, comme sans risque sanitaire pour le consommateur, et qui ne doit pas être dépassée dans ou sur les denrées alimentaires (**Fabre *et al.*, 2006 ; Abidi, 2004 ; Laurentie et Sanders, 2002**).

1.2.2.3. Délai d'attente

Le temps d'attente est défini comme le délai entre la dernière administration à l'animale de l'antibiotique et le moment où celui-ci ne présente plus de résidus dans ses tissus ou dans ses productions (**Follet, 2007 ; Guillemot, 2006 ; Abidi, 2004 ; Ryckaert *et al.*, 2003 ; Laurentie et Sanders, 2002**).

1.2.2.4. Problèmes liés à la présence des résidus d'antibiotiques :

➤ Allergie

En médecine humaine l'allergie est un effet secondaire reconnu des ATB et en particulier des β lactamines (**Bouchot *et al.*, 1985**). Une proportion notable de la population générale a une sensibilité allergique aux ATB (+ de 7 à 10% due aux traitements médicaux) par contre les cas d'allergie dues aux ATB provenant d'alimentation sont extrêmement rares (**Bouchot *et al.*, 1985**).

➤ Toxicité

La toxicité directe des résidus d'antibiotiques est assez difficile à mettre en évidence car il s'agit en générale de toxicité chronique. Cette dernière ne s'exprime qu'après consommation répétée de denrées alimentaires contenant des résidus du même antibiotique. Certains scientifiques évoquent alors une possible toxicité hépatique (**Jeon *et al.*, 2008 ; Stoltz, 2008**). Elle est donc dans l'ensemble extrêmement limitée, le cas de toxicité potentielle fréquemment cité est celui du chloramphénicol (**Guy *et al.*, 2004 ; Maghuin-Rogister *et al.*, 2001 ; Fabre et Joyes, 2000**) qui a été responsable d'anémies aplasiques chez l'homme (liées à son utilisation en médecine humaine) (**Fabre *et al.*, 2006 ; Châtaigner et Stevens, 2005 ; Guy *et al.*, 2004 ; Labie, 1985 ; karst, 1984 ; Mihaud, 1981 ; Labie, 1981**).

➤ Risques cancérigènes

Certains antibiotiques ont des propriétés carcinogènes connues. Les résidus de ces antibiotiques peuvent avoir un effet carcinogène sur le long terme, suite à une consommation régulière d'aliments contenant ces résidus. Ces antibiotiques sont alors interdits d'utilisation chez les animaux de production (**Stoltz, 2008**).

➤ Risques bactériologiques

Le risque bactériologique lié à la consommation de denrées alimentaires contenant des résidus d'antibiotiques peut être attribué à deux phénomènes (**Gedilaghine, 2005**) :

- **Modification de la flore digestive du consommateur**

Dans le tube digestif vivent en effet des milliards de bactéries saprophytes et commensales. La consommation de produits contenant des résidus d'antibiotiques perturbe cette flore intestinale (**Broutin *et al.*, 2005 ; Châtaigner et Stevens ; 2005 ; Fabre et Joyes, 2000 ; Gedilaghine 2005**) ; en modifiant sa composition par inhibition sélective ; ils dévastent la flore normale et laissent place à des bactéries pathogènes ou opportunistes tels que les entérobactéries, les *Pseudomonas*, les entérocoques, les staphylocoques et les levures (**Stoltz , 2008 ; Abidi, 2004 ; Corpet et Brugere, 1995**).

- **Antibiorésistance**

Par définition, l'antibiorésistance ou la résistance aux antibiotiques est la capacité d'une bactérie à résister à l'action d'un antibiotique, c-à-d, sa capacité de croître, se multiplier malgré la présence de l'antibiotique. Cette résistance peut être naturelle (intrinsèque) ou acquise (**Pougheon, 2001**).

➤ **Problèmes technologiques**

Les résidus représentent un réel problème pour les transformateurs laitiers par leurs conséquences néfastes sur les fermentations lactiques (**Giraudet, 1978 ; Mourot, 1981 ; Labie, 1981 ; Bories, 1993 ; Gaudin, 1999 ; Moretain, 2000 ; Maghuin-Rogister *et al.*, 2001 ; Gedilaghine, 2005 ; Brouillet, 2002**).

Les bactéries lactiques des levains (*Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacelactis* et *Leuconostoc citrovorum*) sont inhibées par divers antibiotiques à faible concentration. Par suite de retard à la formation d'acide, le pH du lait et du caillé frais reste élevé et favorise une forte croissance des bactéries coliformes productrices de gaz qui gâtent le fromage (**Abdussalam et al., 1966**).

1.3. Contamination du lait

1.3.1. Contamination par la flore bactérienne

Le lait peut contenir de nombreuses espèces microbiennes. Pour certaines, il constitue un bon milieu de culture, pour d'autres, il n'est qu'un véhicule ; en fonction de son origine (**Myllyniemi, 2004**).

Le lait traité en conditions d'asepsie n'est pas absolument exempt de bactéries, car le canal du trayon et le pis ne sont jamais tout à fait dépourvus de germes. En types et quantités, la flore microbienne du lait à sa sortie du trayon dépend de l'état de santé de la vache. Le lait issu d'un pis sain normal peut contenir en quantités variables des microcoques et des bacilles. La mammite accroît naturellement la flore bactérienne ; outre les streptocoques normaux, on a observé dans certains cas la présence de microcoques (staphylocoques) et de *Pseudomonas*. Si l'animal n'est pas en bonne santé, on peut trouver dans le lait des bactéries pathogènes : mycobactéries, brucelles et rickettsies (fièvre Q).

Ensuite, pendant la traite, faute de bonnes pratiques d'hygiène, le lait peut se trouver contaminer par le pelage de la vache, les ustensiles de traite, l'air, les aliments, la poussière, et le fumier, cette pollution peut introduire dans le lait nombre d'espèce de germes : ferments lactiques, bacilles

sporulants, coliformes et *Pseudomonas* en particulier. S'il n'est pas convenablement et rapidement refroidi après la traite, le lait peut servir de milieu de culture à ces micro-organismes. Un lait produit dans des conditions satisfaisantes ne doit pas contenir plus de 200000 germes par millilitre au moment de sa livraison au centre de traitement (**Abdussalam *et al.*, 1966**).

1.3.2. Résidus d'antibiotiques

La mauvaise utilisation des antibiotiques par les éleveurs et les vétérinaires ainsi que le non respect des délais d'attente après le traitement des animaux conduisent à la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait et les autres denrées d'origine animale (**Aning *et al.*, 2007**).

Chapitre 2

MATERIEL ET METHODES

Les échantillons, ainsi prélevés, sont transportés dans des flacons en plastiques directement au laboratoire dans les meilleurs délais dans une glacière étanche et hermétique (à +4°C). Les prélèvements sont effectués de façon homogène et aléatoire sur tout le territoire de la wilaya de Blida, à raison de 3 échantillons par commune.

Notre échantillonnage a été fait de façon à obtenir les résultats les plus représentatifs possible, pour cela, trois échantillons ont été prélevés de chaque crémèrie ciblée, à raison d'un échantillon par quinzaine. L'ensemble des crémèries ciblées (10 crémèries) a été divisé en deux groupes dont 5 sont situées à l'est de la wilaya, et 5 à l'ouest ; l'échantillonnage était alternatif entre ces deux groupes (semaine par semaine).

Les informations relatives à la provenance des prélèvements de lait de vaches, sont détaillées sur l'annexe III.

2.3. Matériel et méthodes

2.3.1. Matériel

2.3.1.1. Milieux de culture

Afin de rechercher et d'identifier les germes éventuellement présents dans le lait de vache cru, nous avons utilisé plusieurs milieux de culture : gélose Héktoën, gélose Chapman, gélose Plate Count Agar (PCA), gélose Viande-Foie (VF), bouillon Lactose Bilié au Vert Brillant (VBL) muni d'une cloche de Durham, milieu Rothe simple concentration (Rothe SC) en tubes, bouillon Giolitti Cantoni, Bouillon sélénite cystéine (SFB) simple concentration en tubes, milieu Eva Litsky, Eau Peptonée Exempte d'Indole (EPEI), Tryptone Sel Eau (TSE) et eau physiologique (0.9% NaCl). Tous ces milieux de culture proviennent de la société Ideal-Labo (Béni Mered, Blida).

En outre, des réactifs et additifs ont été utilisés : alun de fer, sulfate de sodium, téllurite de potassium, réactif sélénite cystéine, additif Héktoën, réactif de Kovacs et l'eau oxygénée. Tous ces réactifs ont été fournis par l'Institut Pasteur d'Algérie.

2.3.2. Méthodes

2.3.2.1. Techniques d'analyse et préparation des dilutions

Toutes les manipulations ont été réalisées stérilement et avec le maximum de précaution et de précision. La dispersion des cellules bactérienne est assurée par le TSE comme diluant. Après répartition de 9 ml de diluant dans des tubes à vis préalablement stérilisés (Figure 2.1), un volume de 1 ml de la solution mère (lait cru), convenablement homogénéisée, est introduit dans le premier tube pour obtenir ainsi une dilution à 1/10 ou 10^{-1} . Un volume de 1 ml est prélevé de la première dilution pour être complété par 9 ml du diluant pour obtenir une dilution de 1/100 ou 10^{-2} . L'opération est reproduite pour les différentes dilutions successives.

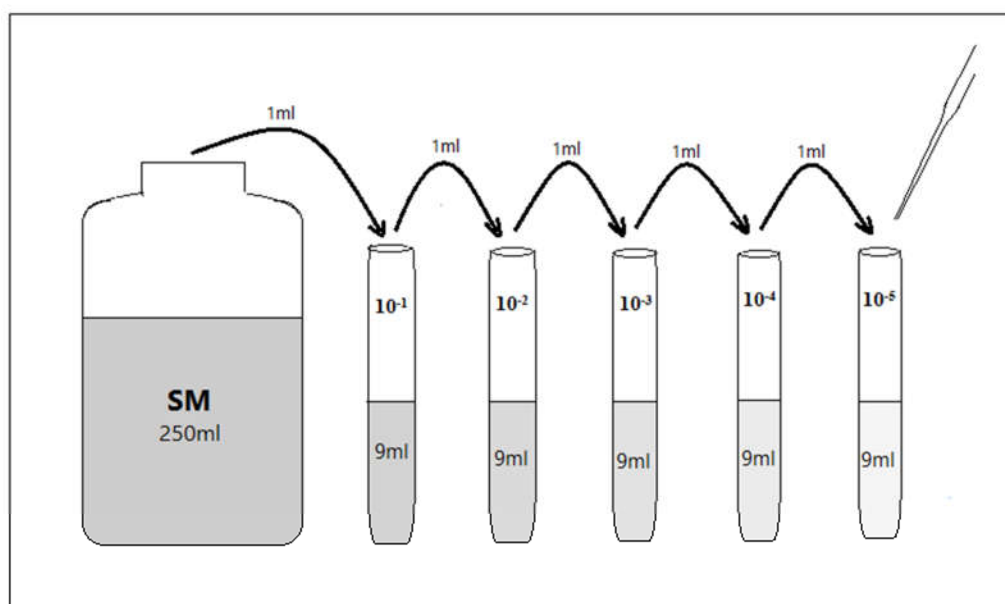


Figure 2.2. Préparation des dilutions décimales (Originale, 2017).

2.3.2.2. Recherche et dénombrement de la Flore Aérobie Mésophile Totale (FTAM)

❖ Technique

Dans ce type de méthodes, les bactéries maintenues dispersées à la surface d'un milieu solide, donnent naissance, dans des conditions favorable, à des colonies isolées les une des autres qui, de ce fait, peuvent être directement comptées. En pratique, 1 ml de chaque dilution, bien homogénéisée, est prélevé et introduit dans une boîte de Pétri en le déposant au centre ou en le répartissant en gouttes au fond de la boîte. La gélose PCA (Tableau 2.1), préalablement liquéfiée et ramenée à 45°C en surfusion, est ensuite coulée aseptiquement dans la boîte. Nous procédons alors à une homogénéisation en imprimant à la boîte des mouvements circulaires. Après solidification sur paillasse, nous ajoutons une deuxième couche de la même gélose. Cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

Tableau 2.1 : Caractéristique et objectif de la recherche de la FAMT (Beuvier, 2005).

Germe	Caractéristiques	But de la recherche	Milieus sélectifs
FAMT	Microorganismes capables de se multiplier en aérobiose, à des températures optimales de croissance comprises entre 20 et 40°C.	Le dénombrement reflète, pour un produit, la qualité globale, l'hygiène générale et les conditions de stockage et de distribution.	Gélose PCA

FAMT : Flore aérobie mésophile totale ; PCA : Plate Count Agar

❖ Incubation, lecture et dénombrement

Les boîtes sont incubées couvercle en bas à 30°C pendant 72h. Les colonies se présentent sous forme lenticulaire en masse. Les boîtes sont examinées, et on choisit celles contenant entre 15 et 300 colonies. Le nombre obtenu pour chaque boîte est multiplié par l'inverse de la dilution correspondante. Le résultat final de dénombrement est interprété en faisant une moyenne arithmétique des colonies comptées entre les différentes dilutions.

2.3.1.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et thermo-tolérants

❖ **Technique** : La technique en milieu liquide fait appel à deux tests (**Tableau 2.2**), à savoir :

- test de présomption, réservé à la recherche des coliformes totaux (**Figure 2.2**).
- test de confirmation, appelé encore test de Mac Kenzie, réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

❖ Test de présomption

La technique NPP consiste à préparer dans un portoir une série de 9 tubes contenant le milieu (VBL) (**Tableau 2.2**) avec une cloche de Durham à raison de trois tubes pour chaque dilution. Alors, un volume de 1 mL de chaque dilution décimale 10^{-1} à 10^{-3} est transféré aseptiquement dans chacun des trois tubes (**Figure 2.3**). En prenant soin de chasser le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham en mélangeant le milieu et l'inoculum.

Tableau 2.2 : Caractéristiques, milieux sélectifs et but de la recherche des coliformes Totaux (CT) et coliformes fécaux (CF) ou thermo-tolérants (Guiraud, 1998).

Caractéristiques	But de la recherche	Milieux
CT : Entérobactéries Gram-, oxydase-, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, fermentation de lactose à 30°C avec production de gaz et d'acide lactique.	L'intérêt est de déterminer pour le produit testé une contamination fécale récente et d'en apprécier l'ampleur, car les coliformes sont des bactéries vivants dans les intestins et en abondance dans les matières fécales des animaux et constituent des indicateurs fécaux de la première importance.	Bouillon VBL (vert brillant et la bile)
CF : croissance avec production d'indole à 44°C.		

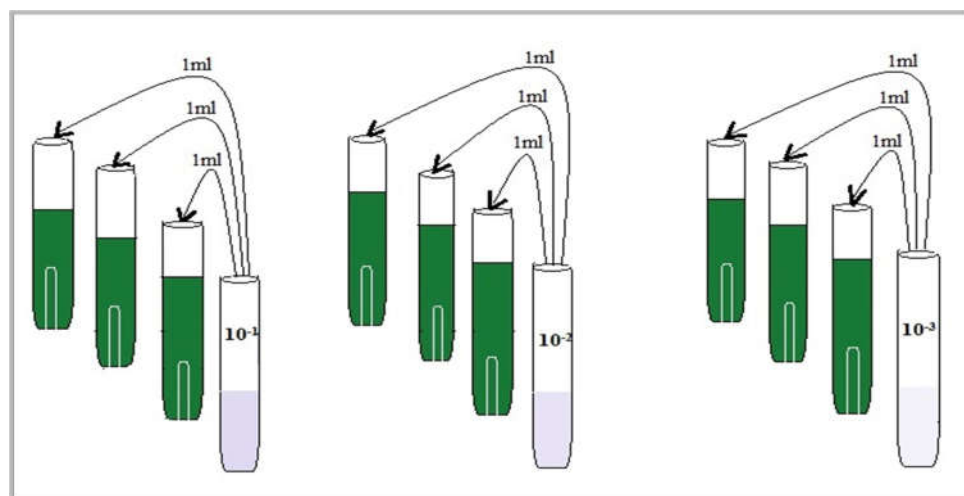


Figure 2.3. Bouillon VBL pour le dénombrement des coliformes (Test de présomption).

❖ Incubation, lecture et dénombrement

Le dénombrement des coliformes totaux se fait selon la méthode du nombre le plus probable (NPP) en utilisant la table de Mac Grady. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Les tubes positifs sont ceux qui présentent à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10^{ème} de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune.

Test de confirmation ou test de Mac Kenzie

Les tubes de (VBL) positifs, trouvés lors du dénombrement des coliformes totaux, feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une pipette stérile dans deux autres tubes l'un contenant le milieu (VBL) avec cloche et l'autre de l'eau peptonée exempte d'indole (EPEI) (Figure 2.4).

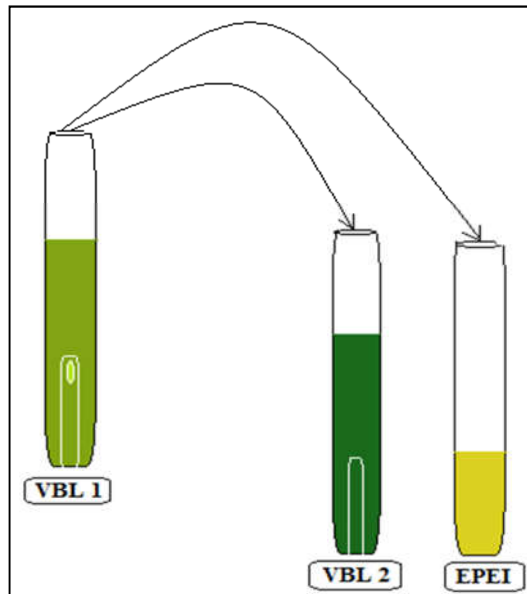


Figure 2.4. Test de confirmation des coliformes thermo-tolérants

❖ Incubation, lecture et dénombrement

Les tubes sont maintenus à l'étuve à 44°C pendant 24 heures. Le résultat est considéré comme positif, seulement s'il y a un virage du (VBL) au jaune avec dégagement de gaz, au moins 1/10^{ème} de la cloche de Durham, et formation d'un anneau rouge après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs au tube de l'eau peptonée exempte d'indole (EPI) (Figure 2.5).

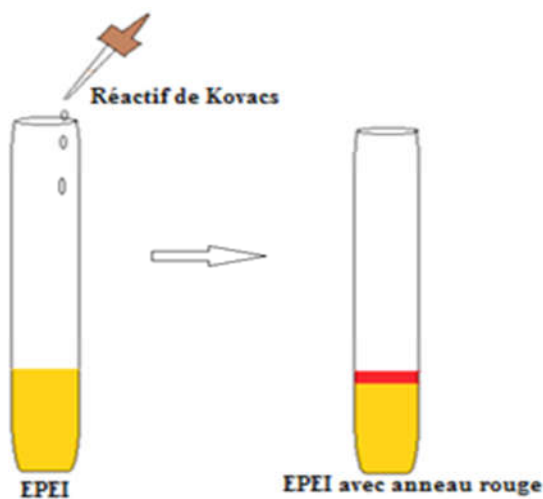


Figure 2.5. Test de confirmation de la présence d'*Escherichia coli*.

2.3.2.4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

❖ Technique

Les dilutions choisies sont 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} . La technique NPP consiste à préparer dans un portoir une série de 9 tubes contenant 10 ml de milieu Rothe s/c (Tableau 2.3) à raison de trois tubes pour

chaque dilution. Alors, 1 ml de chaque dilution décimale 10^{-1} à 10^{-3} , est transféré aseptiquement dans chacun des trois tubes en prenant soin d'homogénéiser l'inoculum avec le milieu (Figure 2.6).

Tableau 2.3. Caractéristiques, milieux sélectifs et but de recherche des streptocoques fécaux
(Bourgeois *et al.*, 1990)

Caractéristiques	But de la recherche	Milieux sélectifs
Cocci gram+, chaînettes, Catalase négative et possédant l'antigène de groupe D.	Sa présence est un signe de contamination fécale récente. Leur présence dans les produits laitiers indique une défectuosité du traitement thermique, de la technologie.	Milieu de présomption: Rothe, contient de l'azohydrate de sodium/ Milieu de confirmation: Litsky, contient de l'azothydrate de sodium et de l'éthyl violet.

❖ Incubation et Lecture

L'incubation des tubes est faite à 37°C pendant 24 à 48h. Les tubes présentant un trouble microbien après incubation, sont considérés comme positifs.

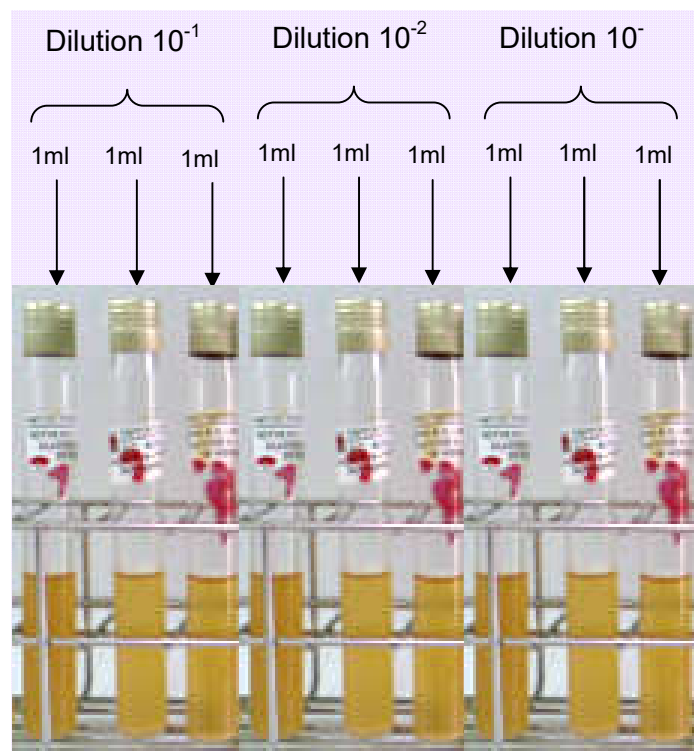


Figure 2.6. Repiquage des streptocoques fécaux dans le milieu Rothe (Test de présomption).

Test de confirmation

A partir des tubes positifs, un repiquage est procédé en transférant, à l'aide d'une pipette stérile, 3 à 4 gouttes vers un tube contenant le milieu Eva Litsky.

❖ Incubation, lecture et dénombrement

L'incubation des tubes est effectuée à 37°C pendant 24h. Les tubes présentant une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube avec un trouble microbien ; sont considérés comme positifs, donc présence de Streptocoque fécaux.

2.3.1.5. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

❖ Enrichissement

A partir des dilutions 10^{-1} à 10^{-3} , on porte 1ml dans des tubes stériles numérotés. Dès lors, 15ml de milieu Giolitti Contoni, additionné d'une ampoule de Téliurite de potassium juste avant son utilisation, sont ajoutés aux tubes et on procède à l'homogénéisation du milieu avec l'inoculum.

❖ Incubation et lecture

Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les tubes positifs sont ceux qui présentent un noircissement, suite à la réduction du Téliurite de potassium.

Tableau 2.4 : Caractéristiques, milieux sélectifs et but de recherche des *S. aureus* (Cauty et Perreau, 2003).

Caractéristiques	But de la recherche	Milieux sélectifs
Cocci à gram+, non sporulés, en amas irréguliers. Catalase +, aéro-anaérobies facultatifs. coagulase+.	Infections mammaires à <i>S. aureus</i> constituent la principale source de contamination du lait à la production.	Milieu d'enrichissement : bouillon de Giolitti Cantoni qui permet une meilleure revivification des souches Milieu d'isolement : Chapman qui a un pouvoir inhibiteur obtenu par une forte concentration de Nacl 7,5%.

❖ Isolement

L'isolement se fait à partir des tubes positifs sur gélose Chapman (préalablement coulée, solidifiée, refroidie et convenablement séchée en boîtes de Pétri) par ensemencement en stries.

❖ Incubation et lecture

Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies des staphylocoques sont petites, lisses, légèrement bombées jaunes (Figure 2.7).

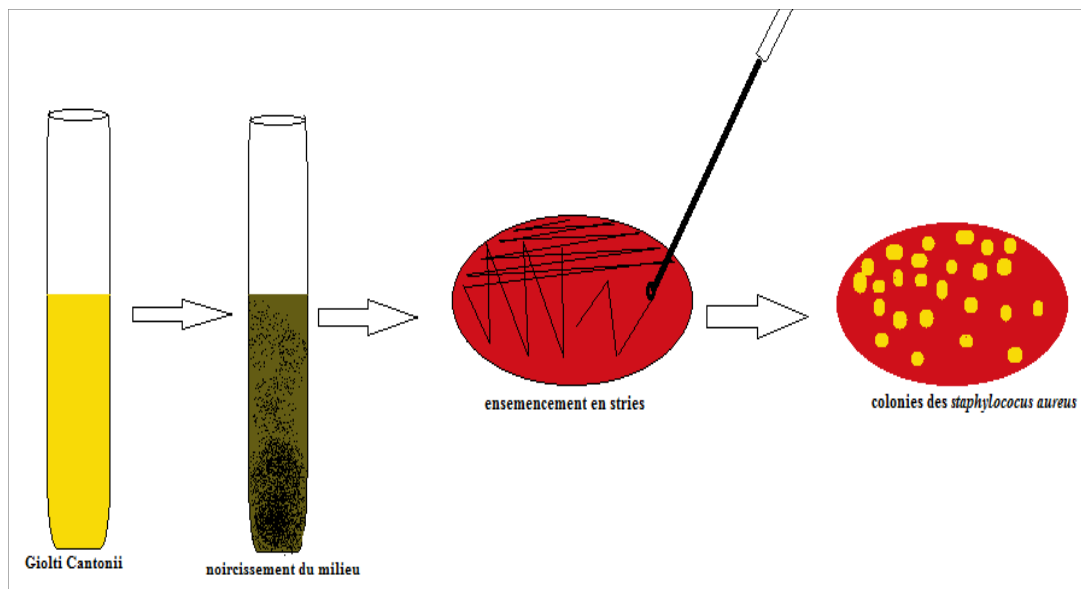


Figure 2.7. Repiquage des streptocoques fécaux dans le milieu Rothe (Test de présomption).

❖ Identification de *Staphylococcus aureus*

- Recherche de la catalase

La mise en évidence de cette enzyme, qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et dioxygène, peut être réalisée à partir d'une seule colonie sur milieu gélosé. La technique consiste à placer séparément deux gouttes d'une solution de peroxyde d'hydrogène sur une lame de microscope. Puis, on prélève une colonie, préalablement sélectionnée sur gélose Chapman, au moyen d'une baguette en verre stérile que l'on émulsionne doucement dans une des deux gouttes. La formation de bulles d'oxygène indique une réaction positive (**Larpent, 1997**).

2.3.2.6. Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs

❖ Technique

Les contenants 1ml des dilutions 10^{-1} à 10^{-2} (dans des tubes en verre) sont soumis à un chauffage, dans un bain mari (figure 2.7.), à $80^{\circ}C$ pendant 10min, puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet. Le chauffage suivi d'un refroidissement brutal (ou trempage) a pour but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

Ainsi, 15ml de la gélose VF (fondue au préalable et maintenue en surfusion à $45^{\circ}C$), supplémentée d'une ampoule de sulfite de sodium (5%) et d'une autre d'alun de fer, sont ajoutés aux tubes contenant les produits traités (dilutions).

Tableau 2.5 : Caractéristiques, milieux sélectifs et but de recherche des *Clostridium* sulfito réducteurs (Guiraud, 1998).

Caractéristiques	But de la recherche	Milieux sélectifs
Bacilles à gram +, anaérobies stricts, capsulés, possèdent des spores résistant au moins 10 min à 80°C, et sont capables de réduire les sulfites en sulfure par la sulfito-réductase.	Les Clostridium sont considérées comme indice de contamination fécale ancienne vu la résistance des spores à l'extérieur.	Gélose Viande-Foie (VF), additionnée de 2 additifs : Alun de fer (fer III comme indicateur de sulfure)/ les sulfites de sodium.

❖ Incubation, lecture et dénombrement

Les tubes sont alors laissés solidifier, puis incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures avec une première lecture à 16 heures. Les colonies de Clostridium sulfito-réducteurs, sont des colonies noires d'un diamètre supérieur à 0,5mm. Le noircissement est dû à la réduction de sulfite en sulfure qui précipite avec les ions de fer. Les résultats sont exprimés en nombre de spores d'anaérobies sulfito-réducteurs par ml de produit analysé (on prend en considération le facteur de dilution).

2.3.2.7. Recherche des salmonelles

Quel que soit la denrée alimentaire, une prise d'essai particulière est nécessaire, car cette recherche se fait sur 25 g de produit solide ou 25 ml de produit liquide.

❖ Pré-enrichissement

Le pré enrichissement s'effectue, dans un flacon stérile, en mélangeant 25ml de lait cru avec 225ml de milieu TSE (Tryptone Sel Eau). L'incubation sera maintenue à 37°C pendant 18 à 24 heures.

❖ Enrichissement primaire

Ce dernier consiste à mélanger 10ml de milieu de pré-enrichissement avec 100ml de bouillon Sélénite-Cystéiné (Flacon SFB supplémentée avec son additif). L'incubation est faite à 37°C pendant 18 à 24 heures. Le contenu du flacon vire en rouge brique en présence de salmonelles.

❖ Enrichissement secondaire et isolement

Le bouillon Sélénite-Cystéine (Tableau 2.6) incubé la veille coloré en rouge brique fera l'objet :

- d'une part, d'un enrichissement secondaire sur bouillon Sélénite-Cystéine en tube de 10ml à raison de 0,1ml par tube ;
- d'autre part, d'un isolement sur gélose Hektoen (H1).

Dans les deux cas, l'incubation se fait à 37°C pendant 24h (Figure 2.8).

Tableau 2.6 : Caractéristiques, milieux sélectifs et but de recherche de salmonelles
(Guiraud, 1998).

Caractéristiques	But de la recherche	Milieux sélectifs
bactéries pathogènes, bacilles, gram négatif, elles sont mobiles grâce à une ciliature péritriche ou immobiles, non sporulés, aéro-anaérobie facultatifs, oxydase -, catalase +, nitrate réductase +.	Leur recherche et leur identification permettent de montrer le danger possible d'un produit. Sa présence dans les produits laitiers provoque de très graves toxi-infections.	Pré-enrichissement et enrichissement: SFB (Sélénite-Cystéine) Milieu d'isolement sélectif : gélose Hektoen. Hektoen.

❖ Lecture et identification

D'une part, le bouillon Sélénite-Cystéine fera l'objet :

- d'un isolement sur gélose Hektoen (H2) ;
- d'autre part, la boîte de gélose Hektoen (H1) subira une lecture en tenant compte du fait que *Salmonella* se présentent sous forme de colonies de couleur grise bleutée à centre noir.

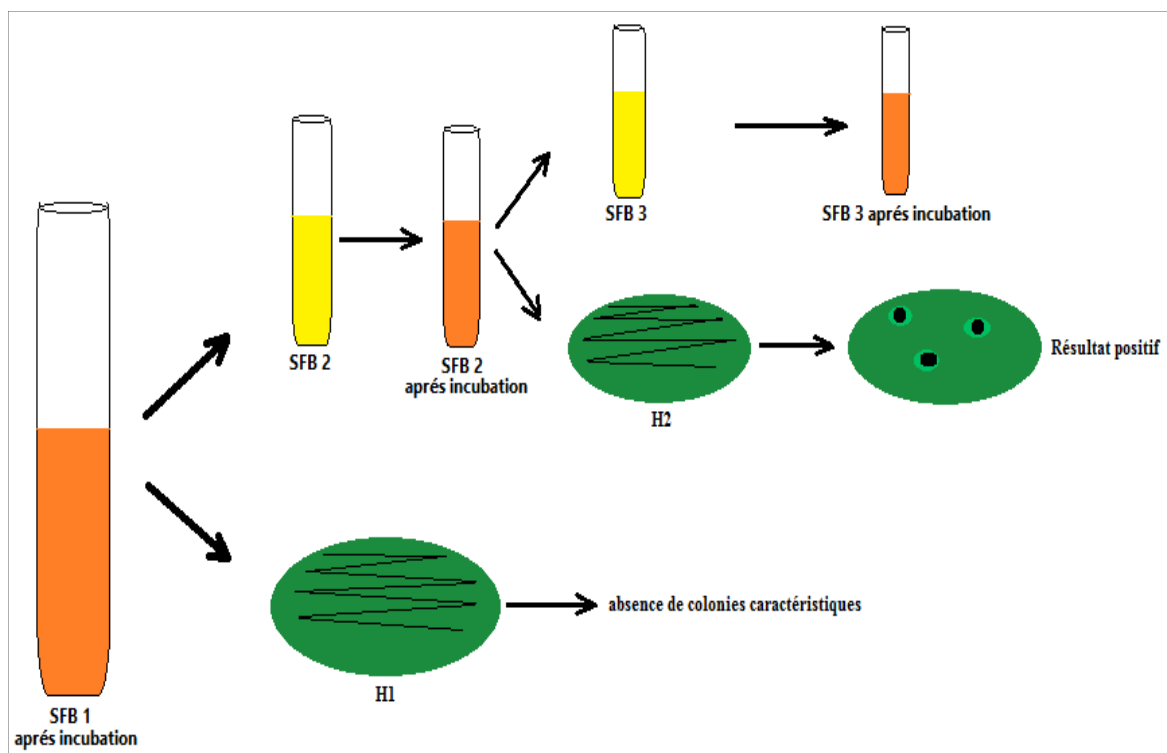


Figure 2.8. Enrichissement secondaire et isolement des salmonelles (Originale, 2017).

Il est indispensable que toutes les colonies caractéristiques doivent faire l'objet d'une identification biochimique. L'absence des colonies de salmonelles, ainsi que l'absence du virage

de coloration du milieu d'enrichissement secondaire indiquent l'absence des salmonelles dans le lait analysé.

2.3.8. Recherche des résidus d'antibiotiques

Dans ce travail, les 30 échantillons collectés, de différentes localités de la région de Blida, ont fait l'objet d'un contrôle de la fréquence de contamination par les molécules inhibitrices susceptibles d'être présentes dans le lait cru. Pour ce fait, la technique adoptée est celle dite : méthode par le Delvotest SP - NT.

2.3.8.1. Kit d'analyse de Delvotest SP-NT

Delvotest SP-NT (Figure 2.9) est un test permettant de détecter dans le lait la présence de substances antibactériennes telles que les antibiotiques et les sulfamides.



Figure 2.9. Coffret de Delvotest SP-NT.

Le coffret de Delvotest SP-NT contient 100 ampoules avec une géloseensemencée par un nombre standardisé de spores de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, des nutriments pour ce micro-organisme et du pourpre de bromocrésol. Le coffret contient aussi une seringue doseuse avec 100 embouts jetables pour prélever les échantillons.

Le Delvotest SP est un test de sélection microbiologique à large spectre, permettant de déceler les résidus de substances anti-infectieuses dans le lait. L'utilisation de ce test permet de déceler au niveau des MRL (Maximum Residue Limit) un certain nombre de substances reprises dans la liste de MRL définies pour le lait dans la législation européenne. L'utilisation du Devotest SP n'exclut

pas que pour certaines molécules utilisées dans des médicaments vétérinaires, leurs résidus peuvent être présents dans le lait à des teneurs supérieures aux MRL, sans pour autant y être décelées, c'est le cas de certaines substances interdites comme le chloramphénicol ou les nitrofuranes (Titouche *et al.*, 2013).

❖ Principe du test

Un échantillon de lait est laissé à diffuser dans un milieu gélosé contenant des substances nutritives, un indicateur de pH et du triméthoprine,ensemencé par des spores de *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis*. Après incubation, la croissance normale du micro-organisme et la production d'acide qui en résulte provoquent le virage de couleur de l'indicateur de pH du pourpre (violet) vers le jaune. En présence de substances inhibitrices, la couleur du milieu gélosé reste pourpre (violet) après la période d'incubation prescrite (Ben-Mahdi et Ouslimani, 2009 ; Mensah *et al.*, 2014).

❖ Précautions à prendre

Ce test étant extrêmement sensible aux substances antibactériennes, il est nécessaire d'éviter tout risque de contamination par de telles substances. Il est recommandé de se laver et se sécher correctement les mains avant l'analyse, de travailler sur une surface propre, de manipuler les ampoules avec délicatesse afin de ne pas décoller le milieu gélosé. Ceci affecterait la qualité de la couleur du test lors de la lecture des résultats.

❖ Mode opératoire

La technique consiste à découper le nombre d'ampoules nécessaire avec une paire de ciseaux ou un cutter en faisant attention de ne pas endommager la feuille d'aluminium couvrant les ampoules adjacentes (Ne pas arracher les ampoules). Pareillement, 0,1 ml de chaque échantillon de lait à tester est prélevé, au moyen d'une seringue à embout de pipette jetable neuf, et introduit dans l'ampoule correspondante (préalablement étiquetée ou numérotée) en tenant soin de verser la totalité de l'échantillon prélevé (pour cela, presser lentement sur le piston pour ajouter la totalité du lait sur la gélose) (Figure 2.10).



Figure 2.10. Etapes à suivre en appliquant le Delvotest SP-NT.

❖ Incubation

Les ampoules sont incubées dans les puits de l'incubateur à $64^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pendant 3 heures. Il est à noter que des températures trop hautes, trop basses, ou variables durant l'incubation affecteront la durée de test et pourront diminuer sa sensibilité (Figure 2.11).



Figure 2.11. Incubation des ampoules.

❖ Lecture

La lecture des résultats (Figures 2.12 et 2.13) est faite après les 3 heures d'incubation (à 64°C). Les résultats doivent être lus dans les 2/3 inférieurs de l'agar. Ainsi :

- Une couleur jaune indique l'absence de substance antibactérienne à une concentration inférieure ou égale à la limite de détection du test.
- Une couleur jaune / violette indique la présence de substances antibactériennes dans l'échantillon de lait analysé à un taux proche du seuil de détection.
- Une couleur violette indique la présence de substances antibactériennes dans l'échantillon de lait analysé à un taux égal ou supérieur au seuil de détection.

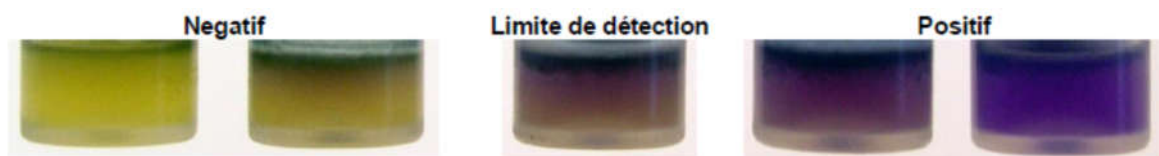


Figure 2.12. interprétation des résultats Delvotest SP-NT.



Figure 2.13. Résultats des analyses par Delvotest.

Chapitre 3. RESULTATS ET DISCUSSION

Ce chapitre, résume tous les résultats d'analyses bactériologiques du lait cru, et de la recherche des résidus d'antibiotiques (Delvotest®).

La discussion des résultats pour chaque analyse est faite séparément.

Le lait destiné à la consommation humaine doit répondre aux normes de la législation en vigueur.

La législation Algérienne préconise un ensemble de critères représentés dans le tableau 3.1, et rapportés en appendice (Décret N° 35 du JORA du 27 mai 1998).

Tableau 3.1. Critères microbiologiques relatifs au lait cru, selon le Journal Officiel de la République Algérienne (**JORA, 2005**).

Lait cru	n	c	m
Germes aérobies à 30°C			10 ⁵
Coliformes fécaux			10 ³
Streptocoques fécaux			Absence /0.1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>			Absence
Clostridium sulfito-réducteurs à 46°C			50
Salmonelles			Absence/25 ml
Antibiotiques			Absence

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

✓ A noter que la recherche de *salmonella* dans le lait cru ainsi que dans les produits laitiers est devenue obligatoire, selon l'arrêté du 13 dhou alhidja 1425 correspondant au 23 janvier 2005 (**JORA, 2005**).

Dans le cas des salmonelles, « **m** » est le nombre des germes présents dans 25ml du lait cru.

3.1. Analyses bactériologiques

3.1.1. Flore aérobie à 30°C

Dans l'analyse microbiologique, la flore aérobie à 30°C ou connu sous le nom « la flore mésophile aérobie totale (F.M.A.T)» constitue le premier paramètre à prendre en considération dans un contrôle bactériologique du lait cru, c'est un indice sensible et pratique dans l'évaluation

de la qualité globale du lait. Elle est considérée comme le facteur déterminant la durée de conservation du lait frais (Delarras, 2014).

L'énumération de cette flore pour les 30 échantillons examinés a montré qu'il y a une contamination importante du lait cru commercialisé dans la wilaya de Blida. Les résultats sont représentés dans le tableau

Tableau n° 2 : Résultats du dénombrement de la FMAT.

Provenance	FMAT UFC/ml			Nombre échantillons contaminés	Pourcentage %
	Ech 1	Ech 2	Ech 3		
Date prélèvement					
Larbaâ	2.10^5	6.10^5	Absence	2	66,7
Bougara	44.10^5	04.10^5	$>3.10^5$	3	100
Bouinan	3.10^5	24.10^5	$>3.10^5$	3	100
Soumaa	24.10^5	48.10^5	$>3.10^5$	3	100
Guerouaou	2.10^5	2.10^5	44.10^5	3	100
Blida	8.10^5	92.10^5	2.10^5	2	66,7
Total				26	86,68

Le dénombrement de la FMAT a montré que parmi les 30 échantillons :

- 4 échantillons (13,32 %) représentaient une flore $< 10^5$ UFC/ml, qui sont donc conformes à la norme de la législation Algérienne.
- Les 26 échantillons restant (soit 86,68 %) ont représenté une flore $> 10^5$ UFC/ml, selon JORA (1998), ces taux de contamination en flore totale dépassent la norme fixée à 10^5 UFC/ml, et sont donc classés comme non conformes, cela laisse dire que ces laits sont de mauvaise qualité.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que les laits crus examinés contiennent une charge variable de la FMAT, située entre $0,92.10^5$ et $2,8.10^5$ UFC/ml, avec une moyenne de $1,6.10^5$ UFC/ml dont 86,68 % ne rependent pas à la norme (seulement les boites présentaient un nombre de colonies compris entre 15 et 300 qui sont prises en considération).

Donc, on conclut que les laits destinés à l'analyse sont de qualité **médiocre**.

Une charge microbienne nettement inférieure aux normes peut s'expliquer par les bonnes pratiques d'hygiène lors de la traite et la manipulation du lait, ainsi que les bonnes conditions hygiéniques d'élevage et de production (**Jeantet *et al.*, 2008**). Tandis que le non respect des bonnes pratiques d'hygiène conduit à l'altération de la qualité hygiénique du lait, et donc l'élévation des taux de contamination par la FMAT.

La contamination par la FMAT est très importante, car 86,68% des laits analysés ont montré une flore supérieure à 10^5 UFC/ml. Contrairement aux résultats rapportés par **Boor *et al.* (1998)** à New York et en Bretagne par **Raynaut (2005)** où seulement 5% et 2% respectivement des laits des élevages comportaient une flore supérieure à 10^5 UFC/ml.

En Algérie, **Ghazi et Niar (2011)** ont rapporté une contamination de l'ordre de 81,2% au niveau de la wilaya de Tiaret. En revanche une autre étude algérienne au niveau de la wilaya de Blida et Jijel (**Hamiroune *et al.*, 2014**) a rapporté un taux de contamination élevé avec 98,9% d'échantillons positifs.

Nos échantillons sont de mauvaise qualité au vu de la norme algérienne qui fixent le seuil de contamination à 10^5 UFC/ml. Ce qui révèle un manque de respect des bonnes pratiques de production et de stockage du lait de la traite du soir qui va ensuite être mélangé avec le lait de la traite du lendemain matin, et au niveau de la multitude des transvasements (**Amhoury *et al.*, 2010**). Le meilleur moyen de réduire la charge microbienne serait d'améliorer l'hygiène de la traite et de la collecte, et d'assurer la conservation rapide du lait au froid (**FAO, 2004**).

3.1.2. Coliformes totaux et thermo-tolérants

Le dénombrement des coliformes permet de mettre en évidence une contamination fécale. Leur présence, même à des niveaux faibles témoignerait de conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours du transport.

Pour les coliformes totaux, un résultat positif est traduit par un dégagement de gaz (supérieur à 1/10 de la hauteur de la cloche), ainsi qu'à l'apparition d'un trouble microbien accompagné ou non de virage du milieu au jaune (**figure 3.1**).



Figure 3.1. tube VBL représentant un résultat positif indiquant la présence des coliformes totaux (photo originale, 2017).

Les teneurs en coliformes (totaux et fécaux) trouvées sont consignés dans le **tableau n° 3**.

Tableau n° 3 : résultats de dénombrement des coliformes totaux et thermo-tolérants :

Provenance	Coliformes Totaux			Nombre d'échantillons contaminés	Pourcentage %
	Ech1 NPP pour 1ml	Ech 2 NPP pour 1ml	Ech 3 NPP pour 1ml		
L'arbâa	0	0	0	0	00
Bougara	0	$1,1.10^3$	4	1	33,3
Bouinane	$1,1. 10^3$	4	7	1	33,3
Somâa	3	$1,5.10^2$	$1,1.10^3$	1	33,3
Guerouaou	$1,4.10^3$	4	0	1	33,3
Affroune	$1,1.10^3$	0	4	1	33,3
Mozaïa	$1,1.10^3$	15	0	1	33,3
Total				8	26,7

D'après le tableau ci-dessus, nous constatons que :

- Le nombre des coliformes totaux varie entre l'absence du germe et $1,4.10^3$ UFC/ml comme valeur maximale, avec une moyenne de $0,31.10^3$ UFC/ml.
- La recherche des coliformes fécaux, a indiqué leur absence totale dans tous les échantillons testés.

En comparant nos résultats avec ceux rapportés par d'autres études ; **Afif et al. (2008)**, **Hamama et Bayi (1991)** et **Labioui et al. (2009)** ont trouvé des taux beaucoup plus élevés, avec des moyennes de $3,2.10^5$ UFC/ml, $1,8.10^5$ UFC/ml et 2.10^4 UFC/ml respectivement.

Donc, par rapport à ce critère, on peut considérer la qualité des échantillons testés comme acceptable.

La présence des coliformes n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier.

D'après **Magnusson et al. (2007)**, les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes, et la prévalence de mammites dans ce cas augmente, suggérant une contamination des trayons et du lait plus importante. D'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite.

Dans le but de réduire la contamination de lait cru par les coliformes, il est recommandé de respecter les bonnes pratiques d'hygiène pendant la traite et lors du transport.

Streptocoques fécaux

La présence des streptocoques fécaux est un signe de contamination fécale (**Guiraud, 2003**). Ils peuvent provenir de l'environnement, les canaux galactophores des vaches, les équipements de traite et de stockage de lait (**larpent, 1997**).

La présence de ces germes indicateurs de contamination fécale a été confirmée par la présence d'une pastille blanchâtre au fond du tube contenant le milieu Eva Litsky (**Figure 3.2**) , accompagnée ou non d'un trouble microbien (**Figure 3.3**).

Figure 3.2. tube Eva litsky représentant une pastille blanchâtre (**photo originale, 2017**).



Figure 3.3. milieu Eva litsky avec trouble microbien (photo originale, 2017).

Le **Tableau n ° 5** illustre les résultats de dénombrement des streptocoques fécaux, en milieu liquide par la méthode NPP.

Tableau n° 5 : Résultats de la recherche et du dénombrement des streptocoques fécaux.

Provenance	Echantillons			Nombre échantillons contaminés	Pourcentage %
	Ech 1	Ech 2	Ech 3		
	NPP (pour 0,1ml)	NPP (pour 0,1ml)	NPP (pour 0,1ml)		
L'arbâa	2,80	2,00	2,70	3	100
Bougara	0,00	0,00	2,70	1	33,33
Bouinane	140,0	2,90	140,0	3	100
Somâa	0,00	1.10	2,00	2	66,7
Guerouaou	2.90	0,00	2.70	2	66,7
Affroune	140,0	2,90	2 ,90	3	100
Total				24	80

La norme algérienne pour les streptocoques fécaux est l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru (**JORA, 1998**); parmi les 30 échantillons analysés, 24 (soit 80%) présentent une charge supérieure à cette norme, et sont donc considérés comme laits "non conformes".

Des charges en streptocoques fécaux dépassant les normes ont été également observées par **Baazize (2006)** qui a rapporté un taux de 91,09%. En effet, **PissangTchangaï, 1991**, **Bonfoh et al., 2003** et **Ghazi et Niar (2011)** ont rapporté des taux de 70% , 67% et 80,64% respectivement. La présence des streptocoques fécaux dans le lait au taux de 80 % reflète les mauvaises conditions d'hygiène des exploitations (**Baazize, 2006**).

3.1.3. *Staphylococcus aureus*

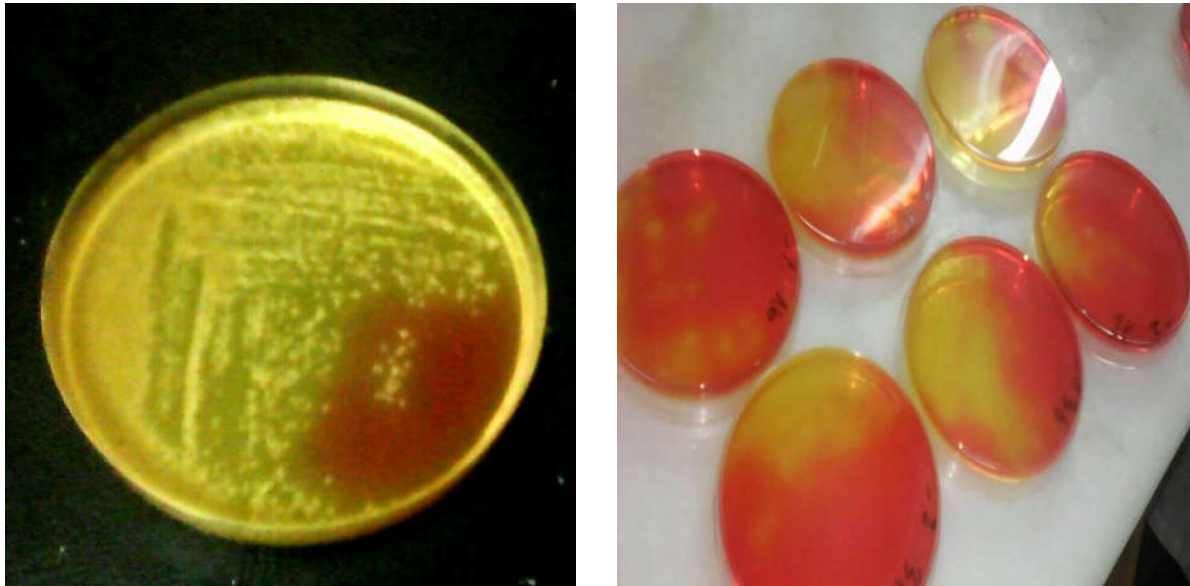
Les staphylocoques dorés sont les germes potentiellement pathogènes les plus présents dans le lait ; ils proviennent surtout des mamelles infectées, mais ils vivent aussi sur la peau des trayons, et même sur les mains des trayeurs, particulièrement dans les plaies. Ils peuvent coloniser le matériel de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

A noter que la présence de cette espèce pathogène a été présumée par le noircissement du milieu Giolitti Cantoni (**figure 3.4**) et confirmée ensuite par un isolement sur milieu Chapman (**figure 3.5**), puis par le test de catalase.



Figure 3.4. Noircissement du milieu Giolitti Cantoni après incubation
(photo originale, 2017).

Figure 3.5. Colonies pigmentées sur gélose Chapman avec virage de milieu au jaune



(Photos originales, 2017).

Les résultats obtenus des colonies caractéristiques sur gélose Chapman et après le test de la catalase, sont rapportés dans le **tableau n° 8**.

Tableau n°6 : Résultats de la recherche des *Staphylococcus aureus*.

Commune	Nombre d'échantillons	Nombre échs contaminés	Pourcentage %
L'arbaa	03	2	66,7
Bougara	03	2	66,7
Bouinane	03	3	100
Somàa	03	1	33,3
Guerouaou	03	2	66,7
Affroune	03	3	100
Total	30	22	73,3

A partir de ce tableau nous constatons que :

- Sur la totalité des 30 échantillons analysés, seulement 8 ne contiennent pas de *Staphylococcus aureus*, et par conséquent répondaient aux normes en vigueur.
- Le reste, soit 22 échantillons, présentent une contamination. Les laits analysés sont donc classé comme non conformes.

Ce germe pathogène constitue un risque réel pour la santé publique dans les produits transformés, comme il peut produire, dans certaines conditions, des entérotoxines thermostables qui peuvent résister aux traitements thermiques (Ashnafi , 1996).

Les principales sources de contamination sont, en premier lieu la mamelle ; les infections mammaires à staphylocoque représentent la principale source de contamination du lait à la production, d'autres sources de contamination sont également à considérer, tel que la machine à traire qui peut en effet infecter les vaches qui suivent la traite d'une vache infectée (**Thieulon, 2005**).

Fourichon et al., (2004) (cité par **Bouaziz (2005)**) montrent que le nettoyage incomplet de la machine à traire permet la survie des agents pathogènes dans les gobelets trayeurs qui contamineraient le trayon en début de traite. La contamination du lait devient un problème majeur de santé publique surtout avec la présence des *Staphylococcus aureus* qui sont responsables des intoxications alimentaires.

La contamination par *Staphylococcus aureus* au taux de 73.3% des échantillons de lait cru est inquiétante.

Des valeurs inférieures aux nôtres ont été rapportées par **Jayarao et al., 1998, Desmasures et al. 1997 et Baazize, 2006**, qui ont indiqué la présence de *Staphylococcus aureus* avec un taux de 12%, 62%, et 58% respectivement.

En revanche, d'autres études ont révélé des taux plus élevés, comme est le cas de **Adesiyun 1994**, qui a rapporté un taux de contamination des laits de mélange par *Staphylococcus aureus* à l'ordre de 94,3%.

Étant donné son habitat et sa fréquente mise en cause dans les mammites, la présence des staphylocoques dans le lait paraît quasi inévitable. L'éleveur devra s'attacher à réduire le niveau de contamination du lait par des pratiques qui visent à réduire le risque d'infection tant sur les trayons qu'à l'intérieur de la mamelle, à éviter toute dissémination des staphylocoques au sein du troupeau et à supprimer tout risque de multiplication au cours du stockage du lait à la ferme (**Fatet, 2004**), La pasteurisation serait efficace sur ce germe.

3.1.4. *Clostridium* sulfito-réducteurs

Ces bactéries anaérobies sulfito-réductrices sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux, mais on les rencontre fréquemment dans la nature et en particulier dans le sol (bactéries telluriques), et dans les matières organiques en cours de putréfaction. Ces germes sont très résistants en raison de leur caractère sporulé (**Cuq, 2007**).

Les *Clostridium* Sulfito-réducteurs peuvent contaminer et dégrader les produits alimentaires dans des conditions d'anaérobies (**Guiraud, 2003**).

Les résultats des analyses bactériologiques pour la recherche des clostridiums ont montré que le germe était absent dans 29 échantillons.

Concernant l'échantillon restant, le nombre des *Clostridium* trouvé était inférieur à 50 UFC/ml.

De point de vue qualité, les laits analysés peuvent être considérés de qualité satisfaisante par rapport à ce critère.

A noter que les colonies présumés être appartenant aux spores anaérobies sulfite réducteurs apparaissent colorées en noir dans la masse de la gélose VF (**Figure 3.6**).



Figure 3.6. Colonie noir des spores du *Clostridium* sulfite-réducteurs dans la gélose Viande-Foie (photo originale, 2017).

Le lait cru dans notre étude est conforme aux normes à 100%, dont on a constaté une absence dans la quasi-totalité des prélèvements testés. L'absence de *clostridium* indique une bonne santé des vaches, et une bonne hygiène de la traite.

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (Leyral et Vierling, 2007).

3.1.5. Recherche et dénombrement des Salmonelles

Bien que les *Salmonella* soient la première cause de toxi-infections alimentaires, le lait et les produits laitiers sont rarement responsables de cas de salmonelloses.

Une étude de l'institut de l'élevage français réalisée en (2000) a démontré que la prévalence de l'excrétion mammaire de *Salmonella* est d'environ 0,6%, faisant de cette voie une source de contamination rare mais pas exceptionnelle.

La norme fixée par la législation algérienne exige que le lait cru doit être exempt de toute contamination par les salmonelles (absence totale) (**JORA 2005**).

Dans la présente étude, l'analyse microbiologique de ce groupe microbien pathogène n'a pas montré de contamination (**figures 3.7 et 3.8**) , ce qui est conforme à la réglementation algérienne.

L'absence totale de *salmonella* dans tous les échantillons analysés répond aux normes.



Figure 3.7. milieu SFB s/c après virage de couleur au rouge brique (**photo originale, 2017**).

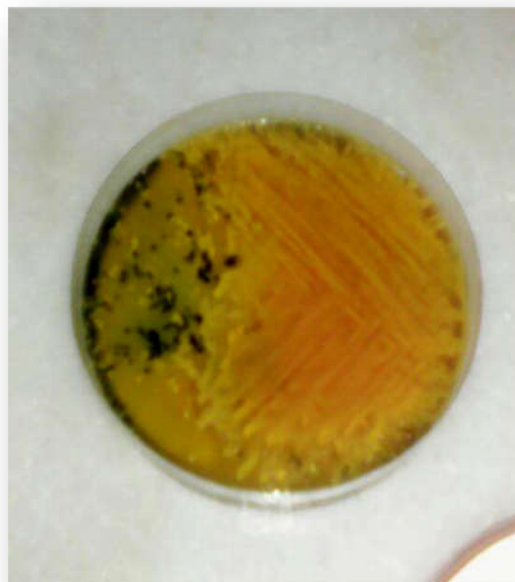


Figure 3.8. colonies d'entérobactéries sur milieu Hektoen avec absence de colonies caractéristiques de *salmonella* (**photo originale, 2017**).

Nos résultats concernant l'absence des bactéries du genre *salmonella* dans le lait concordent avec ceux de **Srairi et Hamama (2006)**, **Affif et al. (2008)**, au Maroc, **Ndiaye (1991)** au Sénégal.

La principale source de contamination serait l'excrétion fécale des salmonelles, 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**).

3.2. Recherche des résidus d'antibiotiques « Delvotest® »

Le Delvotest® est l'un des premiers tests d'inhibition microbiologique, utilisé directement sur les tanks de lait, pour la recherche des résidus d'antibiotiques. C'est le meilleur test d'inhibition microbiologique, largement utilisé dans beaucoup de pays (**Alomskien et al., 2002**).

Malgré son aspect qualitatif, la recherche de résidus d'ATB par la technique microbiologique (Delvotest®) reste une technique simple à mettre en œuvre et peu coûteuse comparée aux techniques immunologiques et chromatographiques, dont le coût considérablement plus élevé ne permettrait certainement pas leur généralisation dans le cadre du contrôle laitier en Algérie (**Riediker et al., 2001 ; Jank et al., 2012**).

Dans la présente étude, 30 échantillons de lait de vache ont été analysés par le Delvotest® en vue d'une recherche qualitative des résidus d'antibiotiques. A l'issue des analyses, un seul échantillon (soit 3,33%) était positif.



Figure 3.9. Résultat négatif de Delvotest® (photo originale, 2017).

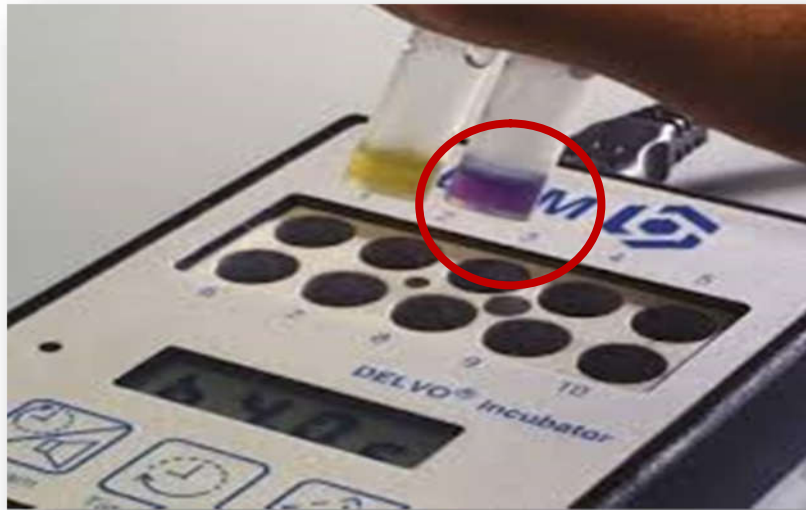


Figure 3.10. Résultat positif de Delvotest®.

La lecture est interprétée sur la base de virement de la couleur où la couleur violet indique que le résultat est positif, quand la couleur est jaune c'est négatif et quand elle est entre les deux, c'est douteux.

Le test est composé essentiellement de spores de *Bacillus stearothermophilus* variété *calidolactis*. Le choix de cette bactérie est justifié par :

- ✓ son utilisation en industrie laitière, en particulier dans la production du yaourt.
- ✓ La thermophilie de cette bactérie.
- ✓ sa sensibilité aux antibiotiques est d'un grand avantage.

Le principe repose sur une addition de nutriments et une incubation à 64°C, les spores germent et produisent l'acide lactique responsable du virage d'un indicateur de pH coloré (pourpre de bromocrésol).

En comparant nos résultats avec d'autres, nous constatons une diversification de données :

nos résultats (3,33% d'échantillons positifs) concordent avec ceux de l'étude établie en 2013 à Oran par **Beldjil et al.** Sur 105 échantillons, où 4,76 % seulement étaient positifs.

En comparant nos résultats avec ceux des travaux algériens plus anciens, une diminution remarquable dans les taux de contamination est observée. cela peut être expliqué par une amélioration réelle au niveau de l'application des bonnes pratiques d'élevages et l'augmentation

de la sensibilisation des éleveurs qui ont devenus plus conscients des dangers de l'utilisation irrégulière des antibiotiques ; ainsi qu'à la généralisation de la recherche des résidus d'antibiotiques dans les laiteries qui refusent directement tout lait contaminé.

Comme ça peut être dû à l'insuffisance du nombre d'échantillons testés lors de cette étude pour que le résultat soit représentatif et considérable.

En revanche, nos résultats sont supérieurs à ceux de certains travaux réalisés dans les pays de l'union européenne, où les pourcentages des résultats positifs sont très bas, ils sont inférieurs à 0,5 % dans les pays de l'ouest (**Hillerton et Berry, 2004**) ; où en Belgique et Danemark, ils sont de 0,1 % (**FSA, 2006**). De tels résultats témoignent de longues années de contrôle d'inhibiteurs dans le lait.

En revanche, dans les pays de l'Europe de l'est, les pourcentages sont un peu plus élevés. Ainsi en république Tchèque le pourcentage de contamination est de 0,5% et en Lituanie il est de 0,8 % (**Communauté Européenne, 2001 ; Žvirdauskiene et al., 2004**).

En analysant les valeurs avancées plus haut, nous constatons que les pourcentages de contamination sont nettement élevés dans les pays où le contrôle n'est pas régulier et les bonnes pratiques d'élevage ne sont pas correctement appliquées, comparés à ceux des pays où le contrôle des résidus est appliqué de manière rigoureuse, les contaminations sont minimales.

pour aboutir à une meilleure protection de la santé du consommateur, et prévenir les différents problèmes liés à la présence des résidus d'ATB dans le lait, une application de mesures d'hygiène et de contrôle est recommandée.

CONCLUSION

Le lait constitue un milieu favorable à la croissance de plusieurs germes microbiens dont certains sont pathogènes et peuvent être à l'origine de plusieurs intoxications ou toxi-infections alimentaires. Il doit répondre à des normes drastiques, afin d'assurer une qualité irréprochable tant sur le plan microbiologique que toxicologique.

La mise en évidence de la qualité du lait de vache cru a permis de prouver que le produit, mis sur le marché ou entre les mains des industriels, est fortement contaminé. Certains prélèvements peuvent même contenir une association de germes. La totalité des échantillons ne répond pas à la norme recommandée dans ce domaine (critères microbiologiques fixés par le Journal Officiel), ce qui signe des mauvaises conditions d'hygiène entre le moment de la traite et celui de la réception des échantillons par le laboratoire.

La grande variabilité de la contamination des échantillons du lait dévoile une situation alarmante de la qualité de ce produit. La majorité des échantillons peuvent être qualifiés de qualité non satisfaisante car ils dépassent de loin la norme recommandée, notamment en ce qui concerne la flore indicatrice de qualité hygiénique. La présence de germes responsables d'intoxication alimentaire tels que *Staphylococcus aureus* peut devenir un problème de santé publique si des mesures ne sont pas prises pour éviter les contaminations. Le développement de la filière lait avec l'organisation des producteurs, la création de centres de collecte et l'utilisation de la chaîne de froid peut permettre de réduire les contaminations.

L'amélioration de la qualité du lait local ne peut se faire que par des mesures d'hygiène adaptées. La mauvaise qualité hygiénique du lait local pouvant constituer un risque pour la santé publique, les autorités chargées du contrôle des denrées alimentaires devraient mettre en place une politique de qualité avec la vulgarisation des bonnes pratiques d'hygiène et un encadrement zootechnique de tous les acteurs de la filière. De plus, la diffusion d'un avis recommandant à la population de faire bouillir le lait local avant toute consommation devrait être faite.

Par ailleurs, 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 en rien la qualité bactériologique du lait, il ne fait que la conserver. Cependant cette conservation doit être de courte durée (ne pas dépasser les 48 heures).

Il est essentiel de garder les animaux en bonne santé afin de produire du lait sain et de bonne qualité. Une vigilance particulière devrait être portée à la mamelle pour prévenir les mammites, principales pathologies du bovin laitier.

Références bibliographiques

1. Aboutayeb R. 2009. Technologie du lait et dérivés laitiers. Azaquar, 3-35p.
2. Affif A, Faid M, Chigr F, Najimi M. 2008. Survey of the microbiological quality of the raw cow milk in the Tadla area of Morocco. *International Journal of Dairy Technology*, 61, 4.
3. Afif A., Faid M. et Najimi M. (2008). Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 7(1): 2-7.
4. AFNOR, Association Française de Normalisation. (1980). lait et produits laitiers, méthodes d'analyse. Paris (France).
5. Aggad H, Mahouz F, Ahmed Ammar Y, Kihal M. 2009. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 160, 590-595.
6. Alais C. 1984. Science du lait : principes des techniques laitières, Edition Sepaic: Paris, France, 207-476.
7. Alais C, Linden. 1997. Abrège de biochimie alimentaire. 6^{ème} Edition Masson, Paris, France, p 535.
8. Alais C, Linden G, Miclo L. 2003. Biochimie alimentaire. 5^{ème} édition de l'abrégé, Paris, France, p165.
9. Ameer A, Rahal K, Bouyoucef A. 2012. Evaluation du nettoyage des tanks de réfrigération dans les fermes laitières de la région de Freha (Algérie). *Revue Nature & Technologie*, 6, 81.
10. Amhour F, Saidi B, Hamama A, Zahar M. 2010. Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la région d'Errachidia. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 18(1), 31-35.
11. Arimi SM, Omare AO, Dermot J. 2000. Risk of infection from *E. coli* O157:H7 through informally marketed raw milk in Kenya. Oral presentation at the 3 All Africa Conference on animal agriculture.
12. Aumaitre A. 1999. Quality and safety of animal products. *Livestock Product Science*, 59, 113–124.
13. Baazize D. 2005. Qualité hygiénique et sanitaire du lait cru de vache. Mémoire de Magistère en hygiène et qualité du lait, Université Saad Dahleb de Blida (Algérie).
14. Badinand F. 1994. Maitrise du taux cellulaire du lait. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 170, 7, 419-427.
15. Beerens H, Luquet FM. 1987. Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers. Technique et Documentation Lavoisier, France.
16. Beldjil A., Benlahcen K., Guessas B., Aggad H., Kihal M. (2013). Evaluation of microbiological and sanitary quality of ewe's raw milk in Western of Algeria and detection of antibiotic residue by Delvotest. *Advances in Environmental Biology*, 7(6), p 1027-1033.
17. Belhadia M, Yakhlef H, Bourbouze A, Djermoun A. 2014. Production et mise sur le marché du lait en Algérie, entre formel et informel. Stratégies des éleveurs du périmètre irrigué du Haut-Cheliff. *New mediterranean Journal of Economics, Agriculture and Environment*, 13(1), 41-49.
18. Ben Hassen S, Messadi L, Ben Assen A. 2003. Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. In *Annales de médecine vétérinaire* (Vol. 147, No. 1, pp. 41-47). Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire.

19. Ben-Mahdi MH, Ouslimani S. 2009. Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'Algérois. *European Journal of Scientific Research*, 36, 357-362.
20. Beuvier E. 2005. Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage. INRA- Unité de Recherche en Technologie et Analyse Laitières, 6p.
21. Bonfoh B, Fane A, Steinmann P, Traore AN. 2004. Lait sain pour le Sahel. *Etudes et Recherches Sahelhiennes*. N. Spécial no. 8/9, 7–216. Bamako, Mali.
22. Boor KJ, Brown DP, Murphy SC, Koslowski SM, Bandlar DK. 1998, Microbiological and chemical band quality of raw milk in New York state. *Journal of Dairy Science*, 81, 1743-1748.
23. Bouise M, Leveau JY. 1993. Microbiologie industrielle: les microorganismes d'intérêt industriel. Collection Science et Techniques, Edition Techniques et Documentation, Lavoisier, France.
24. Bourgeois CM, Mesale JF, Zucca J. 1990. Microbiologie alimentaire: Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Techniques et alimentation, Lavoisier, Paris, France, p422.
25. Bourgeois CM, Leveau JY. 1991. Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires : Le contrôle microbiologique. Edition Tec & doc, Lavoisier, Paris, France, p454.
26. Bourgeois CM, Larpent JP. 1996. Microbiologie alimentaire : Aliment ferments et fermentation alimentaire, collection Science et Techniques Agro-alimentaire, 2^{ème} édition, France.
27. Brouillet P. 1994. Maîtrise de la présence d'inhibiteurs dans le lait, recueil de médecine vétérinaire, Maison Alfort: p 492.
28. Butel M, & Ouzrout R. 2012. Prévalence des principales bactéries responsables de mammites sub-cliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 65(1-2).
29. Cauty I, Perreau JM. 2003. la conduite du troupeau laitier. Edition France Agricole, 62, 288.
30. Cayot PH, Lorient D. 1998. Structures et techno fonctions des protéines du lait. Edition Tech &Doc, Lavoisier, Paris, 363 p.
31. Chye F.Y., Aminah A., Mohd Khan A. 2004. Bacteriological quality and safety of raw milkin Malaysia. *Food Microbiology* 21, 535–541.
32. Cuq JL. 2007. Microbiologie Alimentaire: Les relations microorganismes/aliments/consommateurs, Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaires. Université Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc. p, 2-17.
33. Debry G. 2001. Lait, nutrition et santé. Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris, France, 24, 37.
34. Delarras C. 2014. Pratique en microbiologie de laboratoire? Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Lavoisier, Paris, France.
35. Desmaures N, Bazin F, Gueguen M. (1997). Microbiological composition of raw milk from selected farms the camembert region. *Journal of Applied Microbiology*, 83(1):53-58.
36. Dewdney JM, Maes L, Raynaud JP. (1991). Risk assissment of antibiotic residues of betalactams and macrolides in food product with regard to their immuno- allergic potential. *Food and Chemical Toxicology*, 29(7): 477-83.

37. Dieng M. 2001. Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse de Médecine Vétérinaire, Dakar, Sénégal, n°10, 91 p.
38. Durel L, Goby L, Boringher I. 2010. Un regard pratique sur les mammites contagieuses. Groupe de défense sanitaire des animaux de la Manche : NMC, organisation mondiale pour le contrôle de la mammite et la qualité du lait, 8p. Site Internet du NMC : www.nmconline.org
39. El Hassani SK. 2013. La Dépendance Alimentaire en Algérie: Importation de Lait en Poudre versus Production Locale, Quelle Evolution?. *Mediterranean Journal of Social Sciences*, 4(11), 152.
40. FAO (Food Agriculture Organization of the United Nation). 1998. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaines: Alimentation et nutrition, Rome, Italie, n° 20.
41. Farhan M, Salik S. 2007. Evaluation of Bacteriological Contamination in Raw (Unprocessed) Milk Sold in Different Regions of Lahore (Pakistan). *Journal of Agriculture & Social Sciences*, 3, 104–106.
42. FSA (2001). Food Standard Agency of UK, Report of the national study on the microbiological quality and heat processing of cows' milk. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/milksurvey.pdf#page=2>, date de consultation le 12-6-2010.
43. Ghazi K, Niar A. 2011. Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura*, 29(4), 193-196.
44. Grenon C, Fournier S, Goulet J. 2004. Lait de qualité : Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ : Centre de Recherche en Agriculture et Agroalimentaire du Québec, Canada, 33p.
45. Guillet F, Bonnefoy C, Leyral G, Verne-Bourdaïs É. 2002. Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Wolters Kluwer France.
46. Guiraud JP. 1998. Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, Paris, France.
47. Hakem A, Yabrir B, Khelef D, Laoun A, Mouffok F, Nazek EG, Aissa RB. 2013. Evaluation of Microbial Quality of Raw Milk into two Dairies Mitidja's Farms (Algeria). *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 69(1-2).
48. Hamama, M. Bayi, "Composition and microbiological profile of two Moroccan traditional dairy products: raïb and jben", *Journal of Society of Dairy Technology*, vol. 44, no. 4, pp.118-120, 1991.
49. Hamiroune M., Berber A. , Boubekour S. Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. *Ann. Méd. Vét.*, 2014, 158, 137-144 .
50. Hanzen CH. 2009. Lait et production laitière. Faculté de Médecine Vétérinaire, Service de Thériogenologie des animaux de production.
51. Heuchel V, Meffe N. 2000. Contamination du lait de vache par les bactéries pathogènes : principaux facteurs de risque à la production - dangers liés à la traite. Institut de l'Elevage, Paris, France, 5p.
52. Hillerton. J.E, Berry E.A (2004). Quality of the milk supply: European regulation versus practice. NMC 43rd Annual Meeting Proceedings, 207-214, Charlotte, NC, USA, 1- 4. February,
53. Jank L, Hoff RB, Tarouco PC, Barreto F, Pizzolato TM. 2012. β -lactam antibiotics residues analysis in bovine milk by LC-ESI-MS/MS: a simple and fast liquid–liquid extraction method. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(4), 497-507.

54. Jayarao B.M. & Henning D.R., 2000, Prevalence of food borne pathogens in bulk tank milk, J. Dairy Sci. 84, 10, 2157-62.
55. Joly B, Reynaud A. 2003. Entérobactéries, systématique et méthode de diagnostic. Edition Lavoisier, Paris, France, p 356.
56. JORA (1998). Arrêté Interministériel n° 35 du 27 Mai 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées. Ministère du commerce, Algérie.
57. JORA (2005). Arrêté du 13 Dhou El Hidja 1425 correspondant au 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode de recherche des *Salmonella* dans le lait et les produits laitiers. Ministère du Commerce, Algérie.
58. Kouamé-Sina SM, Bassa A, Bonfoh, B. 2010. Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire). Revue Africaine de Santé et de Productions Animales (RASPA), 35-42.
59. Labie C. 1981. Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. Recueil de Médecine Vétérinaire, France.
60. Labioui H, Elmoualdi L, Berny H, Ouhssine M. 2009. Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. Bulletin de la Société Pharmaceutique de Bordeaux, 148, 7-16.
61. Larpent JP. 1997. Microbiologie alimentaire technique de laboratoire. Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p 705-729.
62. Leyral G, Vierling E. 2007. Microbiologie et toxicologie des aliments. Wolters Kluwer, France.
63. Luquet FM. 1986. Lait et produits laitiers. Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris, France, 70-445.
64. Magnusson M., Christiansson et Svensson B. (2007). *Bacillus cereus* spores during housing of dairy cows: factor affecting contamination of raw milk . journal of dairy science. n° 90. pp: 2745-2754.
65. Mahaut M, Jeautet R, Schuct P, Brule G. 2005. Les produits industriels laitiers. Edition Tech & Doc, Paris, France.
66. Mathieu J. 1998. Initiation à la physicochimie du lait. Edition Tec & DOC, Paris, France, 179, 181, 204.
67. Mc Dowell RM, Mc Elvaine MD. 1997. Séquelles chroniques des toxi-infections alimentaires. Rev Sci Tech, 162.
68. Mennane Z, Ouhssine M, EL Yachoui M. 2007. Hygienic quality of raw cow's milk feeding from domestic waste in two regions in Morocco. International Journal of Agriculture and Biology, 9, 46–48.335
69. Mensah SEP, Aboh AB, Salifou S, Mensah GA, Sanders P, Abiola FA, Koudandé OD. 2014. Risques dus aux résidus d'antibiotiques détectés dans le lait de vache produit dans le Centre Bénin. Journal of Applied Biosciences, 80(1), 7102-7112.
70. Mhone TA, Matope G, Saidi PT. 2011. Aerobic bacterial, coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. International Journal of Food Microbiology, 151(2), 223-228.
71. Mitchell JM, Griffiths MW, McEwen SA, McNab WB, Yee AJ. 1998. Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. Journal of Food Protection, 61(6), 742-756.

72. Mocquot G. et Guittonneau G. (1939). Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée aux contrôle de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. Le lait n°182.pp :114-139.
73. Moll M, Moll N. 1995. Sécurité alimentaire du consommateur. Edition Lavoisier, Paris, France, p300.
74. Mwangi A, Kang Ethe EK, Omoro AO. 2000, Assurance of marketed milk quality in Kenya, Paper presented at the faculty of veterinary medicine Biennial Scientific Conference, University of Nairobi, Kenya.
75. 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.
76. Ngabet Njassap VH. 2001, Contribution à l'étude de la qualité microbiologique du lait fermenté commercialisé dans les rues de Yaoundé, Cameroun. Thèse Médecine Vétérinaire, Dakar, Sénégal, n°11.
77. OMS, FAO. 2007. Lait et produits laitiers, 1^{ère} édition. Codex Alimentarius, Rome, Italie, 258.
78. Pawelczak K, Makowski M, Golos B, Rode W, Rzeszotarska B. 2002. Sulfamide antifolates inhibiting thymidylate synthase: synthesis, enzyme inhibition and cytotoxicity.
79. Pougheon SIA. 2001. Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, France, 102p.
80. Raynaut S. 2005. Etude sur la contamination du lait par les bactéries coliformes en Bretagne, Rapport final, Institut d'élevage, France.
81. Scholl D. 2009. La recherche sur la mammite - Quoi de neuf. Réseau canadien de recherche sur la mammite bovine, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Canada, 16p.
82. Srairi MT, Hamama A. Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, concepts, état des lieux et perspectives d'amélioration. Transfert de technologie en agriculture, 2006, 137, 1-4.
83. Sutra L, Federighi M, Joue L-M., 1998. Manuel de bactériologie alimentaire. Polytechnica.
84. Titouche Y, Hakem A, Houali K, Yabrir B, Malki O, Chergui A, Fit N. 2013. Detection of Antibiotics Residues in Raw milk Produced in Freha Area (Tizi-Ouzou), Algeria. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine, 70(1), 83-87.
85. Vignola CL. 2002. Science et technologie du lait. Edition Presses Internationales Polytechniques, Canada, 29, 54, 55.

Annexe I

Composition chimique moyenne du lait de vache (**Jaques, 1998**).

	Substances	Teneurs en g/l
Constituants minéraux	Eau	902
	Constituants salins minéraux	6.9
	Gaz dissous	0.1
Constituants organiques	Constituants salins organiques	1.7
	Lactose	49
	Matière grasse	38
	Protéines ou constituants azotés protéiques :	32
	- caséines	26
	- protéines dites solubles	6
	Constituants azotés non protéiques Autres constituants	1.5

Annexe II

Proportions des acides gras du lait (Ennuyer et Laumonnier, 2013).

Degré de saturation	Pourcentage (%)
Acides saturés	63
Acide butyrique (C4 :0)	3.6
Acide caproïque (C6 :0)	2.3
Acide caprylique (C8 :0)	1.3
Acide caprique (C10 :0)	2.7
Acide laurique (C12 :0)	3.3
Acide myristique (C14 :0)	10.7
Acide pentadécanoïque (C15 :0)	1.2
Acide palmitique (C16:0)	27.6
Acide stéarique (C18 :0)	10.1
Acide arachidique (C20 :0)	0.2
Acides mono-insaturés	30
Acide myristoléique (C14 :1)	1.4
Acide palmitoléique (C16 :1)	2.6
Acide oléique (C18 :1)	26.0
Acides polyinsaturés	4.2
Acide linoléique (C18 :2 _(t) - 6)	2.5
Acide α linolénique (C18 :3 ₍₃₎ -3)	1.4
Acide arachidonique (C20 :4 _(t) -6)	0.3

Annexe IV

Table de MAC Grady pour les Entérocoques fécaux (Guiraud, 1998)

<i>Nombre caractéristique Indice NPP</i>	<i>Nombre de germes par 100ml</i>
000	0.00
001	0.30
010	0.30
011	0.61
020	0.62
030	0.94
100	0.36
101	0.72
102	1.10
110	0.74
111	1.10
120	1.10
121	1.50
130	1.60
200	0.92
201	1.40
202	2.00
210	1.50
211	2.00
212	2.70
220	2.10
221	2.80
222	3.50
223	4.00
230	2.90
231	3.60
232	4.00
300	2.30
301	3.80
302	6.40
310	4.30
311	7.50
312	12.0
313	16.0
320	9.30
321	15.0
322	21.0
323	29.0
330	24.0
331	46.0
332	110.0
333	140.0

Annexe V

Nombre Le Plus Probable (NPP) pour trois séries parallèles (**JORA, 2004**).

Index tubes positifs de :			NPP (pour 1ml)
1ml	0.1ml	0.01ml	
0	0	0	0
0	0	1	0,3
0	1	0	0,3
0	1	1	0,6
0	2	0	0,6
1	0	0	0,4
1	0	1	0,7
1	0	3	1,1
1	1	0	0,7
1	1	1	1,1
1	2	0	1,1
1	2	1	1,5
1	3	0	1,6
2	0	0	0,9
2	0	1	1,4
2	0	2	2,0
2	1	0	1,5
2	1	1	2,0
2	1	2	3,0
2	2	0	2,0
2	2	1	3,0
2	2	2	3,5
2	2	3	4,0
2	3	0	3,0
2	3	1	3,5
2	3	2	4,0
3	0	0	2,5
3	0	1	4,0
3	0	2	6,5
3	1	0	4,5
3	1	1	7,5
3	1	2	11,5
3	1	3	16,0
3	2	0	9,5
3	2	1	15,0
3	2	2	20,0
3	2	3	30,0
3	3	0	25,0
3	3	1	45,0
3	3	2	110,0

Glossaire

Acide lactique :

Un élément organique. Il se forme dans le muscle durant un effort intense pour produire de l'énergie. L'acide lactique se retrouve également dans le vin, les produits laitiers et certains légumes après fermentation.

Activité osmotique :

La diffusion de la matière mis en évidence lorsque les molécules de solvant traversent une membrane semi-perméable séparant deux solutions dont les concentrations en soluté sont différentes ; le transfert global de solvant se fait de la solution la moins concentrée vers la solution la plus jusqu'à l'équilibre.

Aérobie :

Qualificatif d'un microorganisme qui a besoin d'oxygène pour se développer. Il peut être aérobie strict (condition nécessaire de développement) ou facultatif (peut se développer aussi en l'absence d'oxygène).

Anaérobie :

Qualificatif d'un microorganisme qui se développe en l'absence d'oxygène. Il peut être anaérobie strict ou facultatif.

Anémie aplasique :

Une forme très rare d'anémie, due à l'absence de reconstitution des hématies à l'intérieur de la moelle osseuse, généralement associée à une insuffisance de régénérescence : des globules blancs de type granulocytes.

Bactéries telluriques :

Désigne la famille des bactéries qui se trouvent naturellement dans le sol. L'introduction de certaines d'entre elles dans des plantes peut rendre ces dernières résistantes aux insectes.

Bactéricide :

Une substance bactéricide est une substance possédant la capacité de tuer des bactéries. Les propriétés bactéricides sont variables d'une substance à l'autre. Elles sont directement dépendantes du spectre d'action du produit bactéricide.

Bactériostatique :

Se dit de tout phénomène ou de toute substance, notamment antibiotique (tétracyclines, chloramphénicol, macrolides), capable d'inhiber la multiplication des bactéries sans les tuer.

Beta carotène :

parfois appelé provitamine A, désigne la forme la plus répandue de carotène, c'est-à-dire un pigment de couleur orange présent dans certains végétaux (carottes notamment) et synthétisée en vitamine A par le foie lorsque l'organisme en a besoin.

Bourgeonnement :

le mode de reproduction par voie asexuée de certains organismes animaux ou végétaux inférieurs, comme les micro-organismes.

Bouse :

L'excrément des mammifères ruminants. Une vache adulte produit en moyenne 12 bouses par jour (d'environ 3 kg chacune).

Canal galactophore :

Le canal qui conduit le lait à l'extérieur de la glande mammaire.

Caséinates :

Issus de la caséine acide, les Caséinates sont des protéines utilisées pour leurs propriétés émulsifiantes, moussantes, stabilisantes ou épaississantes, et pour leurs qualités nutritionnelles en diététique.

Cellules somatiques :

les cellules somatiques présentes dans le lait sont principalement constituées de globules blancs, lesquels sont produits par la vache pour détruire les bactéries ayant pénétré dans le pis et responsables de la mammite, ainsi que pour régénérer les tissus endommagés.

Coagulase :,

Également appelée staphylocoagulase, est une enzyme qui permet d'identifier le bacille du *Staphylococcus aureus*. Elle a pour particularité de faire coaguler le plasma sanguin.

Colostrum :

Liquide jaunâtre sécrété par la glande mammaire les premiers jours suivant l'accouchement, avant la montée de lait.

Créatine :

Est une molécule dérivée d'acides aminés présente dans l'organisme (muscles, cerveau).

Créatinine :

Une substance issue de la dégradation de la créatine. Elle est fabriquée par le foie, les reins et peut être apportée par l'alimentation au niveau des cellules musculaires. Elle n'est finalement qu'un simple déchet organique, qui doit normalement être évacué par voie urinaire après passage par les reins.

Crémeries :

Magasin où l'on vend principalement du lait, des produits laitiers, du fromage et des œufs.

Disparate :

Un ensemble formé d'éléments divers très dissemblables, qui ne sont pas assortis.

Emulsion :

Suspension de particules très fines d'un liquide dans un autre, qui normalement ne se mélangent pas (eau dans la graisse ou graisse dans l'eau).

Ensilage :

Procédé de conservation de végétaux frais utilisant la fermentation lactique et consistant à les placer dans un silo ou à les mettre en tas et à les presser après les avoir hachés. Produit, destiné à l'alimentation du bétail, conservé par cette méthode (conservation par voie humide). C'est une méthode de conservation des fourrages alternatifs au foin.

Fermentation :

Transformation que subissent certaines matières organiques sous l'action d'enzymes sécrétées par des micro-organismes.

Hormones peptidiques :

Une classe de peptides sécrétés dans le sang qui ont des fonctions endocrines chez les animaux.

Lactoflavine :

Synonyme de vitamine B2.

Lactones :

Nom générique des esters, dont le groupe fonctionnel —CO—O— fait partie d'un cycle. (De formule générale $(\text{CR}_2)_n\text{CO—O}$, les lactones se forment à partir des acides-alcools ou des oxydes-phénols, ou encore par oxydation ménagée des cyclanones.

Lactosérum :

Liquide obtenu après coagulation du lait. Il est appelé aussi le petit-lait ou sérum.

Lait de rétention :

Le lait Accumulé dans la mamelle par espacement des traites, blessure, vidange incomplète. Ce lait de rétention est interdit à la consommation humaine.

Micelles :

Réseau formé par les caséines du lait et des minéraux.

Milieu sélectif :

Un milieu qui permet de sélectionner le type de bactéries qui pourront pousser sur celui-ci, alors que tous les autres micro-organismes présents sont inhibés.

Öse :

Dans un contexte de culture microbienne un ose désigne une pipette en verre, généralement de petite taille dont la partie inférieure est fermée à la flamme.

Psychrotrophe :

un micro-organisme adapté et capable de survivre à des basses températures, jusqu'à -5°C et ayant une température optimale de croissance à 25°C .

Pullulation:

Multiplication rapide et abondante.

Putréfaction :

Processus de décomposition des matières organiques animales ou végétales sous l'action de ferments microbiens, avec production de substances toxiques et de gaz fétides, résultat de ce processus.

Rincure :

Eau dans laquelle on a rincé de la vaisselle.

Rumen :

Première des poches qui constituent l'estomac des ruminants.

Scissiparité :

Mode de division des êtres unicellulaires consistant à doubler de longueur, puis à se partager en deux cellules identiques qui peuvent se séparer, comme le font de nombreuses bactéries.

Solutions colloïdales :

Des mélanges (liquide, gel) qui contiennent, en suspension, des particules. Ces particules, ou objets colloïdaux, ont une taille supérieure aux molécules qui les constituent, mais suffisamment petites pour que le mélange demeure homogène.

Spore :

Forme cellulaire résistante. Certaines bactéries forment des spores dans des conditions défavorables. Une fois les conditions favorables retrouvées, la bactérie peut se développer à nouveau à partir de ces spores.

Stress thermique :

Est une accumulation de chaleur dans l'organisme qui empêche le travailleur de maintenir une température corporelle normale. Un travailleur qui ne peut pas refroidir son corps par la transpiration s'expose à de graves troubles dus à la chaleur.

Toxicité chronique :

Effet à long terme pouvant être relié à un changement dans la croissance, le métabolisme, la reproduction et la résistance aux maladies ou conduisant à la mort. Désigne souvent des effets qui se manifestent au cours d'une période au moins égale au dixième de la vie d'un organisme.

Trayon :

Extrémité de la mamelle des femelles laitières, de forme cylindrique ou tronconique, permettant au lait de sortir soit à l'occasion de la tétée, soit par la traite.

Vulnérables :

La vulnérabilité est le caractère de ce qui est vulnérable, fragile, précaire, de ce qui peut être attaqué, blessé, endommagé.