

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA  
TERRE



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2017

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV      Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Technologie agroalimentaire et contrôle de la qualité

Présenté par : *HADJ AHMED Ilhem*

*Thème*

*Les risques de contamination du lait infantile  
Dus à des défauts de conditionnement et à son inadéquate  
conservation*

Soutenu le : 28 / 06/ 2018

Devant le jury composé de :

*Grade*

*M. BOUBEKKA Nabila*

*MCB*

*Univ. de Bouira    Président*

*Mme. DOUMANDJI Waffa*

*MAA*

*Univ. de Bouira    Promoteur*

*M. IAZOUGHANE*

*MCB*

*Univ. de Bouira    Examineur*

*Année universitaire :*

*2017/2018*

## Remerciements

*Je commence tout d'abord par rendre grâce à ALLAH le tout puissant de m'avoir illuminé et ouvert les portes du savoir, et m'avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.*

*Le présent travail n'aurait pu être effectué sans l'accord, le soutien et l'aide de plusieurs personnes.*

*Je remercie ma promotrice Mme Doumandji pour sa précieuse aide, ses orientations et le temps qu'elle m'a accordé pour mon encadrement.*

*Je remercie très respectueusement les membres du jury, Mme Izoughane Mme Boubekka, d'avoir accepté de juger mon travail.*

*Je remercie profondément tous les enseignants qui m'ont encouragé et soutenu pendant mon cursus.*

*Ma gratitude va également à toutes celles et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

*J'exprime ici toute ma reconnaissance à l'ensemble du personnel du laboratoire de QuaQ, en particulier Mme... , pour leur précieuse assistance.*

*Mes vifs remerciements et gratitude à tous les enseignants, ainsi que les travailleurs de la faculté SNVST, particulièrement ceux de la spécialité TAA.*

*A toutes et à tous, merci pour votre aide.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mon cher père, un homme qui a vécu pour  
sa famille.*

*« J'espère mon père que tu es fier de moi »*

*A ma chère mère, une femme qui a sacrifié sa  
vie pour ses enfants.*

*« J'espère ma mère que je serai toujours à la  
hauteur de tes attentes »*

*A mes chers frères ; Ahmed, Halim, Ibrahim  
et leurs femmes ; Naima, Zahia et Sarah.*

*A mes chères sœurs ; Fatiha, Malika et  
Meriem.*

*et leurs poussins ; Hocine, Aïd et Yacine.*

*A mes amies ; Amina, Fatima, Imen, Rima,  
Amira et surtout ma chère Nerimene.*

*A tous les étudiants de la spécialité TAA.*

*A toutes les personnes qui me sont très chères.*

Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Période et l'appellation réglementaire des différentes catégories du lait standard (ISPED ,2010)
<b>Tableau 2</b> : Lois et recommandations des préparations pour nourrisson. (Follain C ,2015)
<b>Tableau 3</b> : Apports nutritionnels pour conseillés les nourrissons (CHEVALLIER B, 1996)
<b>Tableau 4</b> : Flore originelle du lait cru (VIGNOLA, 2002).
<b>Tableau 5</b> : Flore du lait cru (BRISABOIS <i>et al</i> , 2009)
<b>Tableau 6</b> : Caractéristiques d'Aspergillus flavus (4) (COMACLE P, 2013) .(LADJAL S, 2012)( GAUTHIER A ,2016)
<b>Tableau 7</b> : Spécificités microbiologiques du lait déshydraté ou instantanés à consommer après adjonction de liquide : [lait infantile] (J.O, 1998).
<b>Tableau 8</b> : Résultats des dénombrements selon l'AFTAM.
<b>Tableau 9</b> : Résultats de recherche et dénombrement des moisissures.

Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Aspect microscopique d'Aspergillus flavus (ANSES, 2012) et leur taxonomie
<b>Figure 2</b> : Aspect macroscopique de A flavus
<b>Figure 3</b> : Aspect microscopique de A flavus (4)
<b>Figure 4</b> : Structures et nomenclature des aflatoxines de A. Flavus (GAUTHIER A ,2016) (9)
<b>Figure 5</b> : Diagramme des différentes étapes de prélèvement
<b>Figure 6</b> : Photos illustratives relatives à la préparation des dilutions
<b>Figure 7</b> : Diagramme relatif à de la méthode utilisée pour la préparation de la solution mère et les dilutions
<b>Figure8</b> : Photos illustratives relatives aux résultats des dénombrements selon l'AFTAM
<b>Figure 9</b> : Diagramme de recherche et dénombrement des germes aérobies à 30°C
<b>Figure 10</b> : Photo illustrative relative au dénombrement des Coliformes totaux
<b>Figure 11</b> : Représentation graphique du mode opératoire
<b>Figure12</b> : Diagramme représentant le test confirmatif et la méthode de recherche d'Escherichia Coli
<b>Figure 13</b> : Photo illustrative relative aux résultats de la recherche et au dénombrement des Staphylococcus
<b>Figure 14</b> : Photo illustrative relative à la recherche des Clostridium sulfito-réducteur
<b>Figure 15</b> : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs
<b>Figure 16</b> : Photo illustrative relative aux résultats de la recherche et au dénombrement des levures et des moisissures
<b>Figure 17</b> : Photo illustrative relative à l'aspect macroscopique de l'A. Flavus
<b>Figure 18</b> : Photo illustrative relative à l'aspect microscopique de l'A. Flavus
<b>Figure 19</b> : Diagramme de recherche et de dénombrement des levures et moisissures
<b>Figure 20</b> : Photo illustrative relative aux <u>résultats de la recherche des salmonelles</u>
<b>Figure 21</b> : Diagramme de recherche des salmonelles
<b>Figure 22</b> : Diagramme de fabrication du lait en poudre
<b>Figure 23</b> : Représentation graphique des résultats du dénombrement de la FTAM
<b>Figure 24</b> : Représentation graphique des résultats de la recherche et de dénombrement des moisissures
<b>Figure 25</b> : Diagramme de fabrication du lait en poudre
<b>Figure 26</b> : Etapes de la fabrication de lait infantile

**Liste des abréviations**

**°D** : Degré Dornic

**A** : aspergillus

**AF** : aflatoxine

**BP** : milieu Baird Parkeur

**FAO**: Food and Agriculture Organization

**FTAM**: Flore totale aérobie mésophile

**J.O.R.A** : journal officiel de la république algérienne

**OGA** : Gélose glucosée à l'oxytétracycline : oxytétracycline dextrose agar

**PCA** : Gélose standard pour dénombrement plat count agar

**SFB** : Bouillon sélénite cystéine tamponné

**UFC** : unité formant colonie

**VF** : Viande foie

**VRBL** : gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

**VHB** : Virus de l'hépatite B

**DSP** : direction de santé publique

**DHA** : acide docosahexaénoïque

**ARA** : acide arachidonique

**AGPLC** : acides gras polyinsaturés à longue chaîne

**AG** : acide gras

**AGE** : acide gras essentiel

**DLUO** : délai limite d'utilisation optimal

---

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction.....	01

## **Partie bibliographique**

### **Chapitre I**

1. Définition du lait infantile.....	03
2. Classification des laits infantiles .....	03
2.1. Laits standards :.....	03
2.1.1. Lait 1er âge : préparations pour nourrisson .....	03
2.1.2. Lait 2ème âge : préparation de suite.....	03
2.1.3. Aliments lactés destinés aux enfants en bas âge .....	04
2.2. Laits et préparations pour indications spécifiques .....	04
2.3. Laits et préparations pour indications thérapeutiques .....	05
3. Composition du lait infantile.....	05
3.1. Les protéines.....	05
3.2. Les glucides .....	07
3.3 Les lipides .....	08
3.4. Les vitamines.....	08
3.5. Les minéraux .....	09
3.6. Les ajouts .....	10
4. Caractéristiques physico-chimiques du lait .....	11
4.1. Densité du lait .....	11
4.2. Acidité titrable ou acidité Dornic .....	11

---

4.3. PH .....	11
4.4. Point de congélation .....	12
<b>Chapitre II</b>	
1. Microbiologie du lait cru de vache .....	13
1.1. Flore originelle.....	13
1.2. Flore contaminant.....	13
1.2.1. Flore d'altération.....	14
1.2.2. Flore pathogène.....	14.
2. Conservation du lait infantile.....	15
2.1. Conservation avant ouverture .....	15
2.2. Conservation à la température ambiante .....	15
2.3. Conservation après ouverture .....	15
<b>Chapitre III</b>	
1. Définition d' <i>Aspergillus flavus</i> .....	16
2. Contamination du lait .....	17
3. Effet pathogène d' <i>Aspergillus Flavus</i> .....	18
3.1. Aflatoxicoses aiguës .....	19
3.2. Aflatoxicoses chroniques .....	19
4. Toxicité .....	20
4.1. Absorption .....	20
4.2. Métabolisme.....	20
5. Mécanisme d'action .....	21
5.1. Formation d'adduits à l'ADN.....	21
5.2. Métabolisme des protéines.....	21.



## Partie expérimentale

1. Présentation de l'entreprise .....	22.
Objectif de l'étude .....	22
3. Région et période d'étude .....	23
4. Nombre de prélèvements étudiés.....	24
5. Techniques de prélèvement du lait .....	24
6. Transport des prélèvements du lait .....	25
7. Etude bactériologique du lait .....	25
8. Matériels et méthodes .....	27
8.1. Matériel pour l'analyse microbiologique .....	27
8.1.1. Appareillage .....	27
8.1.2. Verrerie .....	27
8.1.3. Milieux de culture .....	27
8.2. Préparation des solutions mères et dilutions .....	27
8.3. Recherches et dénombrements microbiologiques effectués .....	28
8.3.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30°C .....	29
8.3.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux.....	31
8.3.3. Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	37
8.3.4. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium sulfito-réducteur</i> .....	39.
8.3.5.1. Levures et moisissures.....	42
8.3.5.2. Mise en évidence des <i>Aspergillus flavus</i> .....	44
8.4. <i>Salmonelles</i> .....	46
9. Expression des résultats .....	50
9.1. Germes totaux .....	50
9.2. Levures et moisissures .....	51

10. Interprétation des résultats et discussion.....	55
10.1. Germes totaux.....	55
10.2. Coliformes totaux.....	55
10.3. Coliformes fécaux, <i>Escherichia coli</i> .....	55
10.4. <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i> .....	55
10.5. <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Salmonelles</i> .....	55
10.6. Levures et moisissures .....	56

Conclusion

Annexes

Références bibliographiques

# **INTRODUCTION**

## Introduction

De tous les aliments, le lait est un aliment pratiquement complet ; celui qui se rapproche le plus d'un aliment idéal. Il peut couvrir tous les besoins de l'organisme durant les premiers mois de la vie, il contient principalement tous les éléments nécessaires à la croissance et au développement harmonieux de l'organisme humain. Cette richesse et cette diversité de constituants font donc du lait sous toutes ses formes un des éléments de base d'un régime alimentaire équilibré. **(BENALLEGUE H.DEBBECHE S, 2015)**

La fabrication et la conservation des laits infantiles sont soumises à une réglementation stricte qui définit leur composition et les quantités nécessaires au bon développement de l'enfant. Cette composition tend à se rapprocher au plus près du lait maternel et des besoins du bébé avec une qualité conforme aux normes définies par la réglementation. **(BOUCHAKEUR ERRAHMANI KH.DJEGHLAL S, 2015)**

Exposées aux risques de contamination, Ce sont surtout les poudres lactées qui, malgré leur faible teneur en eau (3 à 4%), recèlent des microorganismes et surtout des moisissures lorsqu'elles sont préparées ou stockées dans de mauvaises conditions. **(COOKE et BRAZIS, 1968).**

Les troubles causées par ces substances se manifestent par des syndromes variés, il peut y avoir un effet spécifique toxique sur un organe bien déterminé, cependant la plupart d'entre eux provoquent des lésions graves d'un seul ou de plusieurs tissus, mais c'est surtout le foie qui est le plus touché. D'autres effets peuvent apparaître tels que l'aspergillose pulmonaire, les gastro-entérites, les hémorragies et les paralysies. **(ABDELLAH Z, 2004)**

Par ailleurs, le lait contaminé par ces substances provoque des complications si on l'en fait consommer aux nourrissons qui sont beaucoup plus sensibles que les adultes aux effets des aflatoxines. On comprend donc aisément pourquoi la question des mycotoxines préoccupe les hygiénistes et les toxicologues. **(MOREAU(C.) (1974)**

Dans ce contexte, nous proposons, à travers ce modeste travail, de faire une enquête sur les risques de contamination du lait liés aux mauvaises conditions de conservation et de stockage, notamment dans certains établissements tels que les crèches, les pédiatries, les pharmacies mais aussi au niveau des foyers chez les mamans. Le but spécifique visé est d'apprécier le mode de conservation pratiqué et de proposer d'éventuelles recommandations pour améliorer les conditions de conservation mais aussi sensibiliser les utilisateurs sur les bonnes pratiques permettant une meilleure sécurité contre tout risque de contamination.

Pour ce faire, il a été question d'adopter une approche qui consiste d'abord à faire une recherche bibliographique sur les risques que représentent les poudres du lait mal conservées, puis un travail de terrain qui a porté sur un échantillonnage effectué auprès d'un certain nombre d'établissements et de foyers. L'étape suivante concerne l'analyse des échantillons au niveau du laboratoire.

Les démarches suivies et les différentes opérations menées portent essentiellement sur :

Des généralités sur le lait infantile.

Une description de la microflore du lait cru.

Une présentation des risques de contamination du lait infantile.

**PARTIE I**

**SYNTHESE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. Définition du lait infantile

C'est un aliment complet substitut du lait maternel préparé industriellement conformément aux normes applicables du codex alimentaire adapté aux nouveau-nés pour satisfaire ses besoins nutritionnel normaux, désigne tout aliment commercialisé ou présenté de toute autre manière comme produit de remplacement partiel ou total du lait maternel. **(LABARTH F, 2013) et (FOLLAIN C ,2015) (BEAUDRY et al, 2017).**

Le premier lait infantile artificiel à été mis au point en 1865 par le chimiste allemand JUSTUS VON LIEBIG et par un certain HEURI Nestlé qui commercialisa la première farine lactée en 1867 **(NESTLEE)**. Sa composition est évoluée pour répondre aux besoins nutritionnels spécifiques des bébés, des préparations ont été mises au point à partir du lait de vache, soja.

## 2. Classification des laits infantiles

Les laits infantiles sont classés en trois catégories : standards, pour indications spécifiques et pour indications thérapeutiques.

Au sein de chaque catégorie, les laits sont regroupés en fonction du stade de développement de l'enfant (âge) **(ALLAOUI et al, 2015).**

### 2.1. Laits standards

Ils correspondent aux laits infantiles ordinaires et conviennent à tous les nourrissons et enfants en bas âge en bonne santé. La majorité des nourrissons sont concernés par ces laits. Il existe deux sous-catégories :

#### 2.1.1. Lait 1er âge (préparations pour nourrisson)

De la naissance à 4 mois Il regroupe les laits qui répondent le mieux aux besoins spécifiques du nourrisson non allaité. Il est donc vivement recommandé de les conseiller, le plus souvent possible, aux familles.il est Enrichi en vitamine K et D, teneur en protéines réduites tout en couvrant les besoins en acides aminés essentiels afin d'éviter les effets délétères d'un apport trop élevé en protéines, lactose et des acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPLC) : acide arachidonique (ARA) et acide docosahexaénoïque (DHA), en plus il est contient pré ou probiotiques, pour mimer l'effet bifidogène du lait maternel **(ISPED, 2010(LABARTH F, 2013) .**

#### 2.1.2. Lait 2ème âge (Préparation de suite)

Plus de 4 mois de 6 à 12 mois, Ces laits conviennent tout à fait aux besoins nutritionnels

des nourrissons puisqu'ils respectent les exigences de la Directive Européenne de 2006, et sont proposé aux enfants en complément d'une alimentation diversifié (**ALLAOUI et al, 2015**).

Enrichi en Fer, phosphore, acides gras essentiels, vitamine D, calcium et protéines.

### **2.1.3. Aliment lacté destiné aux enfants en bas âge « lait 3ème âge » ou « de croissance »**

De 1 à 3 ans, quand l'alimentation étant quasiment de type adulte (**CHOURAQUI JP, 2005**). Il est enrichi en fer et en AG essentiels. (**LABARTH F, 2013**) (**ISPED, 2010**) (**BEDOURT B**).

**Tableau 1** : Période et appellation réglementaire des différentes catégories du lait standard (**ISPED ,2010**).

<b>Appellation commune :</b>	<b>Appellation réglementaire :</b>	<b>Période d'utilisation Habituelle :</b>
« Lait 1er âge »	Préparation pour Nourrissons	De la naissance jusqu'à 6 mois ou plus, et au moins jusqu'à 4 mois
« Lait 2e âge »	Préparations de suite	De 6 à 12 mois où plus-en relais du lait maternel ou du lait 1er âge
« Lait de croissance »	Aliment lacté destiné aux enfants en bas âge	En relais du lait 2e âge de 1 an jusqu'à 3 ans

## **2.2. Laits et préparations pour indications spécifiques**

Ces produits présentent certaines spécificités dans leur composition nutritionnelle (épaississants, pré- ou pro-biotiques) en vue d'adapter à certains pathologies et d'améliorer certains épisodes attribués, à tort ou à raison, à des difficultés digestives mineures chez le nourrisson en bonne santé. (**LABARTH F, 2013**)

Les laits hypoallergéniques, laits acidifiés, laits à prédominance de caséines...etc. Sont également repris dans cette catégorie La nécessité d'utiliser ces produits sera posée par le médecin lors de la consultation médicale, après analyse des besoins spécifiques du nourrisson.

Ces laits sont souvent plus coûteux et ne présentent pas toujours les mêmes avantages nutritionnels que les laits standards.



Il est donc indispensable de revoir régulièrement la pertinence de maintenir la prescription des laits à indication spécifique, et en particulier lors du passage au lait de suite.

En effet, après l'âge de 6 mois et avec la diversification alimentaire, la plupart des nourrissons n'ont plus besoin d'un lait avec indications spécifiques.

### 2.3. Laits et préparations pour indications thérapeutiques

Ces produits sont destinés aux nourrissons présentant une pathologie diagnostiquée. (ALLAOUI A et al, 2015)

### III. La composition du lait infantile

**Tableau 2** : lois et recommandations des préparations pour nourrisson. (Follain C ,2015)

	<b>ESPGHAN :</b>	<b>Loi française et européenne :</b>
<b>Energie (kcal)</b>	60-70	60-70
<b>Protéine (g)</b>		
-de lait de vache (LV)	1,08-2,10	1,08-2,10
-d'isolat se soja	1,35-2,10	1,35-2,10
-de lait de vache hydrolysé	1,08-2,10	1,08-2,10
<b>Glucides (g)</b>	5,42-9,80	5,42-9,80
-lactose		>2,7
-amidon	<2	<2
<b>Lipides (g)</b>	2,65-4,20	2,65-4,20
-acide linoléique (mg)	180-840	180-840
-acide a-linolénique (mg)	>30	>30
-AC linoléique/ a-linolénique	5/1-15/1	5/1-15/1
-ARA	<1% des lipides	<1% des lipides
<b>Fibres (g)</b>		<0,8
-GOS		90%
-FOS		10%
<b>Minéraux (mg)</b>		
-sodium	12-42	12-42
-potassium	36-112	36-112

<b>-chlore</b>	30-112	30-112
<b>-calcium</b>	30-98	30-98
<b>-phosphore</b>	15-63	15-63
<b>Calcium/phosphore</b>	1-2	1-2
<b>-magnésium</b>	3-10,5	3-10,5
<b>-fer</b>	0,18-0,91	0,18-0,91
<b>-zinc</b>	0,3-1,05	0,3-1,05
<b>-iode (µg)</b>	6-35	6-35
<b>-cuivre (µg)</b>	21-56	21-70
<b>-manganèse (µg)</b>	0,6-35	0,6-70
<b>-Sélénium (µg)</b>	0,6-6,30	0,6-6,30
<b>-fluor (µg)</b>	<42	<70
<b>Vitamines</b>		
<b>-vitamine A (µg)</b>	36-126	36-126
<b>-vitamine B1 (µg)</b>	36-210	36-210
<b>-vitamine B2 (µg)</b>	48-280	48-280
<b>-vitamine B6 (µg)</b>	21-122,5	21-122,5
<b>-vitamine B12 5 (µg)</b>	0,06-0,35	0,06-0,35
<b>-vitamine C (mg)</b>	4,8-21	6-21
<b>-vitamine D3 (µg)</b>	0,6-1,75	0,6-1,75
<b>-vitamine E (mg)</b>	0,3-3,5	0,3-3,5
<b>-vitamine K1 (µg)</b>	2,4-17,50	2,4-17,50
<b>-niacine (mg)</b>	180-1050	180-1050
<b>-acide pantothénique (mg)</b>	240-1400	240-1400
<b>-acide folique (µg)</b>	6-35	6-35
<b>-biotine (µg)</b>	0,9-5,25	0,9-5,25
<b>Autres (mg)</b>		
<b>-choline</b>	2,4-35	4,2-35
<b>-inositol</b>	2,4-28	2,4-28
<b>-taurine</b>	<8,4	<8,4
<b>-L-carnithine</b>	>0,72	>0,72
<b>-Nucléotides</b>	<3,50	<3,50

### 3.1. Les protéines: (1,5-2,2g/100ml) (Labarth F, 2013) (Simard K, )

Les protéines sont indispensables notamment à la construction, entretien et réparation de tous les tissus du corps humain. (ALLAOUI A et al, 2015)

Les protéines des laits infantiles sont apportées en quantités suffisantes, correspondant à la juste dose pour répondre aux besoins de croissance et aux capacités métaboliques de l'enfant (un excès peut entraîner une surcharge rénale et une dérégulation métabolique). La qualité des protéines est également importante car elles apportent des acides aminés essentiels (AAE) ex. : la tyrosine, la cystine, l'histidine, la cystéine et la taurine .....Qui doivent être présents en quantité au moins égale à celle du lait maternel.

Les besoins en protéines sont assez constants : Environ 7 g/jour jusqu'à 9 mois, 8 g/jour jusqu'à 24 mois, et 9,5 g/jour jusqu'à 3 ans. (Martin A, 2001)

il est conseillé que l'enfant consomme de 10g par jour de protéines .elles sont divisées en deux grands groupes : les caséines et les protéines solubles. (Labarth F, 2013)

#### ✓ Les caséines

Représentent 40% des protéines dans le lait maternel. Elles sont sous forme de micelles et coagulent lorsque l'on ajoute de la présure ou des bactéries lactiques .elles sont insolubles et forment des gros flocons dans l'estomac du nourrisson, ce qui ralentit la vidange gastrique et donne un effet de satiété au nourrisson .en excès, elles favorisent la constipation.....000(francois laberthe,2013)

#### ✓ Les protéines solubles

Représentent 60%des protéines du lait maternel et ne coagulent pas entre-elles lors des l'ajout de présure. Elles sont constituées principalement d'albumine et de lactoglobulines. Elles sont plus adaptées aux capacités physiologiques du nourrisson (assurent une meilleure digestibilité du lait et de selles plus molles). (Labarth F, 2013)

### 3.2. Les glucides

7.8 Et 8.2g/100ml (LABARTH F, 2013). La fraction glucidique qui compose la majorité des laits infantiles est le lactose et dextrine maltose ; Certains laits sont composés exclusivement de lactose, un lait contient même du saccharose. Dans les laits AR, une partie de glucides est remplacée par des Amidons (maïs, riz, pomme de terre) ou par la farine de caroube. (SAAD A, 2008).

✓ **Le lactose** : Principal sucre du lait, il stimule la fermentation, accélère le transit, Augmente le risque de coliques. Il est indispensable pour la synthèse des galactocérebrosides du cerveau, et au développement musculaire. (Allas H, 2018) (Labarth F, 2013).

- ✓ **Autres sucres (les sucres complexes) :** ont un pouvoir immunologique très important du fait de l'imaturité immunologique : dextrine maltose (diminue la fermentation, les ballonnements et est donc conseillé pour les coliques du nourrisson), amidon, fructose. (Labarth F, 2013) (AUXPUER, 2014) (CHOURAQUI JP, 2005).

### 3.3 Les lipides

Sont d'origine végétale ou animale, à un rôle important :

- ✓ **une source essentielle d'énergie :** 45 à 50% de l'énergie est apportée sous forme de lipides par les préparations lactées pour nourrissons,
- ✓ **une source majeure d'acides gras essentiels (AGE) :** nécessaires au développement cérébral et à la maturation des fonctions neurosensorielles. ) (AUXPUER, 2014)

#### Acides gras polyinsaturés (AGPI)

Famille des « Oméga 6 »	Famille des « Oméga 3 »
Acide linoléique (C18:2 n-6) - AGPI longue chaîne n-6 dont ARA	Acide alpha-linolénique (C18:3 n-3) AGPI longue chaîne n-3 dont EPA et DHA
+ Rapport Acide linoléique / Acide alpha-linolénique	
(ARA) : acide arachidonique (C20:4 n-6) ; (EPA) : acide eicosapentaénoïque (20:5 n – 3) ; (DHA) : acide docosahexaénoïque (22:6 n – 3)	

**Acides gras monoinsaturés (AGMI) :** Acide érucique.

**AG saturés :** Acide laurique et Acide myristique.

**AG trans (SFAE, 2008) (SAAD A, 2008)**

### 3.4. Les vitamines

**-Vitamine A :** un apport habituel 108 à 257 µg/kg/j de vitamine A permet de maintenir des concentrations sériques normales.

**-Vitamine E :** le contenu en vitamine E est de 1.2 à 2.4 mg/g d'acide linoléique dans les préparations pour nourrisson.

**-Vitamine D :** doivent être assurés dès la naissance afin de diminuer le risque d'hypocalcémie néonatale précoce ou tardive, l'apport recommandée est de l'ordre 400 à 800 VI/j.

**-Vitamine K :** les préparations pour nourrissons enrichies en vitamine K (2.6 à 7.7 µg/dl), il contribué à la prévention de la maladie hémorragique du nourrisson.

**-Vitamine C :** des préparations pour nourrissons et variable, mais quoi qu'il en soit, les besoins de l'enfant né à terme de 35 mg/j, sont couverts sans difficulté.

- Vitamine B1** : les apports recommandés sont de 300 µg/j.
- Vitamine B2** : les apports recommandés sont de 400 µg/j.
- Vitamine B12** : un apport de 0.5 µg/j est recommandé.
- vitamine B6 :
- Acide folique** : très variable un apport de 30 µg/j conseillés.
- Niotine** : nécessaire au nourrisson est de 35 µg/j.
- Niacine**: 6 mg/j (**SIMARD K, 2001**).

### 3.5. Les minéraux :

**Sélénium** : 10 à 15 µg/kg/j nécessaires pour assurer une protection contre les radicaux libres.

**Iode** : leur rôle est son intégration aux hormones thyroïdiennes. L'apport recommandé de 5 µg/100kcal de la naissance à 12 mois.

**Fer** : les apports recommandés sont 8 à 10 mg/kg/j. Le fer est nécessaire à la formation de l'hémoglobine et de la myoglobine. Il a un rôle dans l'immunité et les fonctions cérébrales. (**MARTIN A, 2001**)

**Zinc** : sont proches de ceux de fer de 5 à 10 mg/ kg/j

**Calcium**: les apports recommandés (400 à 600 mg/kg/ j) (**SIMARD K, 2001**) renforcement des os

**Le magnésium** : à un rôle d'activateur enzymatique. Il maintient l'ion potassium dans la cellule et est nécessaire aux processus de défense de l'organisme. (**CHEVALLIER B, 1996**)

**Tableau 3** : Apports nutritionnels conseillés pour les nourrissons (**CHEVALLIER B, 1996**)

		1 à 3 mois	3 à 6 mois	6 à 9 mois	9 à 12 mois
<b>Selon le poids corporel (kg/j)</b>					
Eau	ml	150	150	125	110
Energie	Kcal	110	100	95	100
Protéines	G	2	1.8	1.5	1.4
<b>Apport moyens (/j)</b>					
Énergie	Kcal	450	600	700	850
		<b>0 à 6 mois</b>		<b>6 à 12 mois</b>	
<b>Minéraux</b>					

Calcium	mg	400	600
Phosphore	mg	300	500
Magnésium	mg	40	60
Fer	mg	8 à 10	8 à 10
Zinc	mg	5	5
Iode	µg	40 à 50	40 à 50
Cuivre	mg	0.4 à 0.7	0.4 à 0.7
Fluor	mg	0.25	0.25
sélénium	µg	10 à 15	10 à 15
<b>Vitamines</b>			
A	µg	375 à 400	
D	µg	25	
E	mg	3 à 4	
K	µg	5 à 10	
C	mg	30 à 35	
B1	mg	0.3 à 0.4	
B2	mg	0.4 à 0.5	
PP ou niacine	µg	5 à 6	
B6	mg	0.3 à 0.6	
B9 ou folates	µg	25 à 35	
B12	µg	0.3 à 0.5	
B5	mg	2 à 3	
B8 ou biotine	µg	10 à 15	

### 3.6. Les ajouts

#### ✓ Prébiotiques / Probiotiques

**Prébiotique** : substance non digestible qui stimule la croissance ou l'activité de la flore colique.

**Probiotique** : microorganisme vivant qui s'implante dans le tube digestif.

**Ferments lactiques** : induisent une fermentation du lactose, diminution des coliques.

#### ✓ Épaississants

**Amidon (riz, maïs, PDT) :** ralentit le transit

**Caroube :** accélère le transit

✓ **Autres**

**Nucléotides :** précurseurs AC. Nucléiques, effets immuno

**Taurine :** AA non essentiel du lait maternel

#### **4. Caractéristiques physico-chimiques du lait**

##### **4.1. Densité du lait**

La densité du lait n'est pas une valeur constante pour les laits individuels. A une température de 20°C, les valeurs moyennes sont comprises entre 1,030 - 1,033 et pour les laits de grands mélanges, elle est de 1,032. **(VIERLING.E, 2008)**

Deux facteurs de variation opposés déterminent la densité: la concentration des éléments dissous et en suspension (solide non gras) et la proportion de matière grasse.

La densité varie proportionnellement à la concentration des éléments dissous et en Suspension mais varie de façon inverse à la tension en graisse. **(ALAIS C, 1984); (BOUDIER JF et LUQUET FM, 1981)**

##### **4.2. Acidité titrable ou acidité Dornic**

Dès sa sortie du pis de la vache, le lait a une certaine acidité. Cette acidité est due principalement à la présence des protéines, surtout les caséines et les lactalbumines, de substances minérales telles que les phosphates et le gaz carbonique, ainsi que des acides organiques, le plus souvent l'acide citrique. **(AMARIGLIO S ,1986)**

Un lait frais normal à une acidité titrable de 16 à 18° degré Dornic c'est à dire 16 à 18 En décigrammes d'acide lactique par litre **(VEISSEYRE ,1975)**, c'est une mesure indirecte de sa richesse en caséine et en phosphates.

Dans les laits en voie d'altération, cette acidité titrable augmente (en raison de la dégradation du lactose en d'autres acides en plus de l'acide lactique et des liquides) **(AMARIGLIO S, 1986).**

##### **4.3. PH**

A la traite, le pH du lait est compris entre 6,6 et 6,8 et reste longtemps à ce niveau. Toutes valeurs situées en dehors de ces limites indiquent un cas anormal (ex : mammites) **(AMARIGLIO S, 1986)**. Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) et donc une diminution du pH.

A la différence avec l'acidité titrable qu'elle mesure tous les ions H<sup>+</sup> disponibles dans

le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait (**CIPC lait, 2011**).

Un lait marmiteux, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un pH 7 et le colostrum un pH voisin de 6 (**LUQUET, 1985**).

#### **4.4. Point de congélation**

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre  $-0,54^{\circ}\text{C}$  et  $-0,55^{\circ}\text{C}$  (**MATHIEU, 1998**).

La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation entraîne une augmentation du point de congélation d'environ  $0,0055^{\circ}\text{C}$  (**GOURSAUD, 1985**).



## 1. La microbiologie du lait cru de vache

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes: La flore indigène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (**VIGNOLA, 2002**).

### 1.1. La flore originelle

Lorsque le lait provient d'un animal sain et qu'il est prélevé dans des conditions aseptiques sain (moins de 10<sup>3</sup>germes/ml) (**GUIRAUD, 2003**).Il devrait contenir moins de 5000 UFC/ml. (**FOTOU et all, 2011**). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) (**CUQ, 2007**).

La flore indigène des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs (**GUIRAUD, 2003**).

Le lait qui sort du pis de la vache est pratiquement stérile. Les genres dominants de la flore indigène sont principalement des microorganismes mésophiles (**VIGNOLA, 2002**).

**Tableau 1** : Flore originelle du lait cru (**VIGNOLA, 2002**).

<b>Microorganismes :</b>	<b>Pourcentage (%) :</b>
Micrococcus.sp.	30-90
Lactobacillus.	10-30
Lactococcus ou streptococcus.	< 10
Gram négatif (leuconostoc).	< 10

### 1.2. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (**VIGNOLA, 2002**).

On considère comme flore contaminant d'altération et pathogène du lait l'ensemble des microorganismes qui s'ajoutent au lait extrait du pis de la vache. Il semble que la contamination à l'étable soit la plus importante (**ANDELOT, 1983**).

Le niveau de contamination est étroitement dépendant des conditions d'hygiène dans lesquelles sont effectuées ces manipulations, a savoir l'état de propreté de l'animal et

particulièrement celui des mamelles, du milieu environnant (étable, local de traite), du trayon, du matériel de récolte du lait (seaux à traire, machines à traire) et, enfin, du matériel de conservation et de transport du lait (bidons, cuves, tanks) (FAO, 1995).

### 1.2.1. Flore d'altération

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Psuedomonas* sp, *Proteus* sp, les coliformes, soit principalement les genres *Escherichia* et *Entérobacter*, les sporulées telles que *Barilus* sp et *Clostridium* sp et certaines levures et moisissures.

Elle causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduira la vie de tablette du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. (ANDELOT, 1983).

### 1.2.2. Flore pathogène

Comme la flore d'altération, la flore pathogène est incluse dans la flore contaminant du lait. La présence de microorganismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources: l'animal, l'environnement et l'homme (ANDELOT, 1983) (VIGNOLA, 2002).

En raison de la gravité ou de la fréquence des risques qu'ils présentent sont cités ci-dessous :

- ✓ **Les principales bactériennes infectieuses** sont *Salmonella* sp, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* et *Campylobacter* sp.
- ✓ **Les principales bactéries toxigènes** sont *Staphylococcus* sp *Clostridium Botulinum* (VIGNOLA, 2002) (TOURETTE I, 2001-2002).

Et certaines moisissures qui sont pour la plupart toxigènes, c'est-à-dire qu'elles produisent une toxine dans le produit alimentaire. C'est pour cette raison qu'il faut jeter tout aliment moisi, car la toxine diffusée dans l'aliment sera source de danger pour la santé. (KABIR A, 2014-2015)

**Tableau 2 :** Tableau regroupant la flore du lait cru (BRISABOIS *et al*, 2009)

Flore :		Exemple :	L'effet :
Flore originelle :		<i>Micrococcus.sp</i>	
		<i>Lactobacillus</i>	
		<i>Micrococcus.sp</i>	
Flore de contamination :	<i>Flore d'altération</i>	<i>Bacillus</i>	Provoque la dégradation des composants du lait qui influencera le goût, l'arôme, l'apparence ou la
		Coliforme	
		Levures et moisissures	
		<i>Psuedomonas</i>	

			texture.
	Flore pathogène	Bactéries infectieuses	Dérèglent le système digestif
		Bactéries toxinogènes	provoquent des intoxications alimentaires

## 2. Conservation du lait infantile

### 2.1. Conservation avant l'ouverture

La boîte du lait en poudre peut se conserver plusieurs mois à l'abri de l'humidité et de chaleur voir DLUO. (2)

Pour une qualité optimale, utiliser la préparation avant la date de péremption indiquée sur le produit. car il est impossible de garantir la teneur en vitamines indiquée sur l'étiquette et l'excellence de la consistance des produits au-delà de la date de péremption, puisque ces deux paramètres peuvent se dégrader avec le temps. (4)

### 2.2. Conservation à la température ambiante

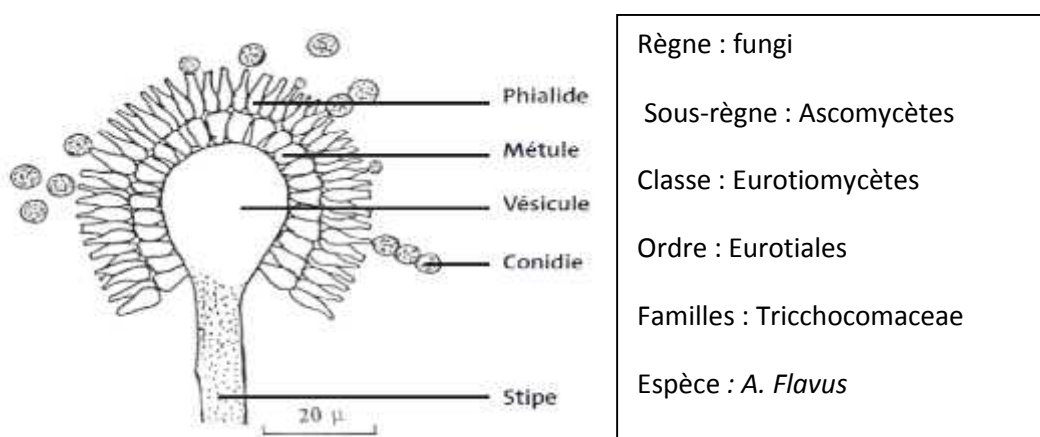
La conservation du boîte de poudre de lait durée 2 ans à la température ambiante grâce à la procédé de déshydratation qui permet de réduire la teneur en eau à 3% (CHOUITI F, 2013).

### 2.3. Conservation après l'ouverture

L'entreposage des boîtes ouvertes du lait maternisé en poudre s'effectuer dans un « endroit frais et sec » et les utiliser dans un délai d'un mois(4) : l'entreposage à la température du réfrigérateur n'est pas recommandé, puisque cela peut augmenter l'humidité du produit et entraîner la formation de masses ou une altération. (4) (3)

### 1. Définition d'*Aspergillus flavus*

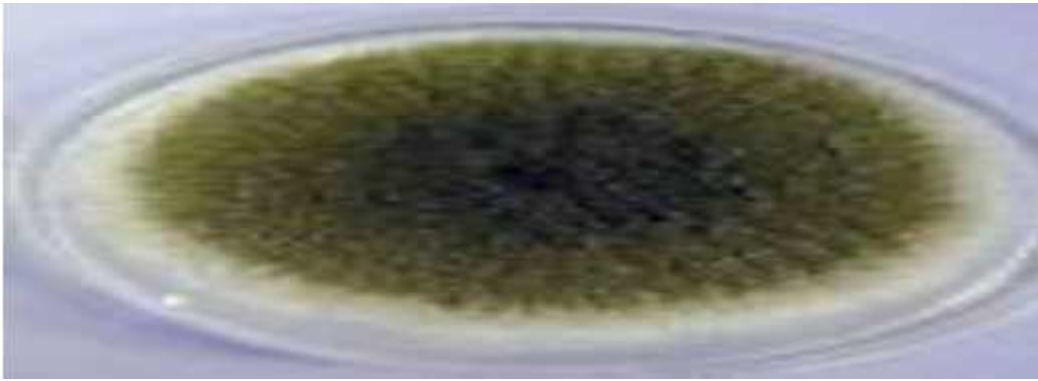
Sont des moisissures filamenteuses pluricellulaires. Leur identification repose encore beaucoup sur leurs caractéristiques macro- et microscopiques, mais les techniques de biologie moléculaire montrent les limites de ces critères. Les moisissures sont disséminées par l'émission de spores qui peuvent être véhiculées par l'environnement (air, eau) et se retrouver dans le lait et dans le fromage. La taille des spores varie de 4 à 10 µm de large et jusqu'à 500 µm de long (si pluricellulaires). Les filaments, de 2 à 5 µm de large, sont de longueur très variable. (2) parmi ces moisissures on s'intéresse à celle un effet pathogène pour la santé humaine *Aspergillus flavus* :



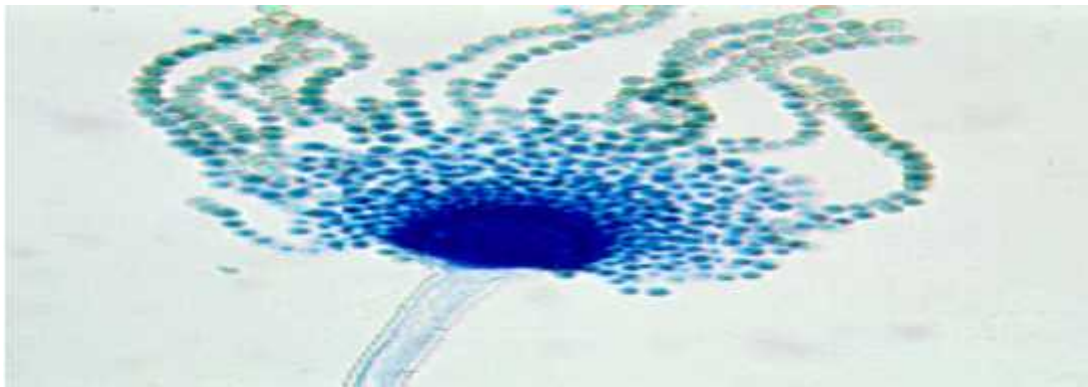
**Figure 1** : Aspect microscopique d'*Aspergillus flavus* (ANSES, 2012) et leur taxonomie.

**Tableau 1** : caractéristiques d'*Aspergillus flavus* (4) (COMACLE P, 2013). (LADJAL S, 2012)(GAUTHIER A ,2016)

Culture	Conidiophore	Vésicule	Phialides	Tête aspergillaire	Conidie	Principes mycotoxines
Croissance rapide. Aspect granuleux vert-jaune. Revers pale.	Long 1 mm, hyalin, verruqueux avec des aspérités.	Sphérique	Directement insérées ou portées par des métules	Radiée uni- ou bisériée	Globuleuse, échinulée, verte pale	Aflatoxine B1, B2, citrine Acide aspergillique Acide cyclopiazonique, Acide kojique(10)



**Figure 2 :** Aspect macroscopique d'*A flavus*



**Figure 3 :** aspect microscopique d'*A flavus* (4)

Il est responsable à la production d'une enzyme voisine de la présure : aflatoxines. (MOULLEC M, 2002) *Aspergillus* est à l'origine, chez l'humain, d'un large éventail de maladies (allergies, infections superficielles liées à un traumatisme et infections profondes), l'atteinte pulmonaire est le premier site de cette affection (BEL HOUSSINE F, 2013)

La prolifération fongique et la production d'AF ont lieu au champ et au moment du stockage.

La contamination par la moisissure et la toxino-gènes sont facilitées par les mauvaises conditions de stockage, de transport et d'hygiène. En effet, l'humidité excessive, les températures élevées sont autant de facteurs facilitant la croissance fongique et la toxino-gènes (GAUTHIER A ,2016).

## 2. La contamination du lait

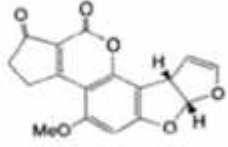
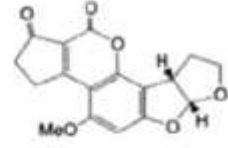
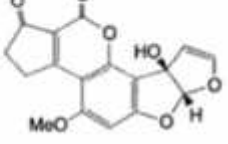
Poudres de lait ce sont surtout les poudres lactées qui, malgré leur faible teneur en eau (3 à 4 p. 100normalement), recèlent des moisissures dont beaucoup sont réputées toxino-gènes. Lors qu'elles sont préparées ou stockées dans de mauvaises conditions.

Ces moisissures sont susceptibles d'élaborer des mycotoxines causant des intoxications peuvent se manifester par des syndromes fort variés : gastro-entérites, hémorragies,

convulsions, paralysies, effets œstrogènes, etc. Surtout lésions des reins et du foie; dans certains cas, ces dernières peuvent se traduire par des cancers.

On peut être d'autant plus inquiet qu'une partie de ce lait est utilisée en nourriture infantile et que les enfants sont beaucoup plus sensibles que les adultes aux effets des aflatoxines. (Moreau C, 1976)

### 3. Effet pathogène d'*A. Flavus*

Dénomination	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Structure chimique
Aflatoxine B <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312,3	
Aflatoxine B <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314,3	
Aflatoxine M <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328,3	

**Figure 4** : structures et nomenclatures des aflatoxines d'*A. Flavus* (GAUTHIER A ,2016) (9)

L'aflatoxine B1 (AFB1), est considérée comme l'un des plus puissants cancérigènes génotoxiques naturels. Son organe cible est le foie. *Aspergillus flavus* est la principale espèce productrice d'aflatoxines (uniquement du groupe B) Les aflatoxines sont des molécules de faible poids moléculaire. L'AFB1 (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) et l'AFB2 (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>), de masses molaires respectives 312 et 314 g/mol, sont fluorescentes de couleur bleue sous lumière UV. L'AFG1 (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>) et l'AFG2 (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>), de masses molaires respectives 328 et 330 g/mol, sont fluorescentes de couleur verte.

L'AFB1, absorbée par une vache laitière ou par d'autres mammifères ruminants (p. ex. chèvres, moutons, bufflonnes, chameaux), est partiellement métabolisée puis excrétée dans le lait sous forme d'AFM1 (C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>). Sa masse molaire est de 328 g/mol, et elle est caractérisée par une fluorescence bleu-mauve.(ANSES , 2012)

L'aflatoxicose est une pathologie causée par l'action des aflatoxines. Elle a été reconnue et décrite pour la première fois sur les animaux de ferme (la maladie X de la dinde 1960, et la détection de ces toxines dans une large gamme de produits alimentaires, des tentatives ont été

menées pour établir des corrélations entre l'exposition aux aflatoxines et ses effets à plus ou moins long terme sur la santé humaine.

Les recherches entreprises ont montré que les conséquences vont de la toxicité hépatique aiguë aux maladies chroniques telles que le cancer du foie. (9)

### 3.1. Aflatoxicoses aiguës

Le syndrome était caractérisé par des vomissements, des douleurs abdominales des œdèmes pulmonaires, une infiltration des matières grasses, et des nécroses au niveau du foie et des hémorragies gastro-intestinales.

L'histopathologie des tissus hépatiques révèle une hyperplasie du canal biliaire peuvent entrainer la mort du patient(9).

### 3.2. Aflatoxicoses chroniques

L'aflatoxine B1 (entre autres), étant le carcinogène potentiel pour les animaux, plusieurs études ont porté sur ses effets à long terme et à de faibles doses sur la santé humaine.

Des effets d'aflatoxicoses chronique sont rapportés par le Sénégal où plusieurs nourrissons de moins d'un an ont reçu chacun 70 - 140 g d'aliments à base d'arachide pendant 10 mois comme traitement contre le Kwashiorkor (73 a). Des échantillons de ces aliments testés par la suite ont révélé que les prises d'aflatoxines par jour et par nourrisson variaient entre 35 à 140 Jlg. Le suivi de deux d'entre les nourrissons pendant 4 à 6 ans a montré que l'un présentait des anomalies persistantes au niveau du foie, et que l'autre avait des anomalies mineures réversibles au bout de 6 ans.

Le cancer du foie, est une des principales causes de mortalité par suite de cancer en Asie et en Afrique. En Afrique de l'Ouest, l'incidence annuelle du cancer du foie varie entre 10 et 150 pour 100.000 habitants. Par ailleurs, il existerait une corrélation entre l'exposition aux aflatoxines et certaines pathologies telles que l'HBV, les cirrhoses infantiles, le Kwashiorkor et le syndrome de Reye(9).

Chez les enfants, dans certaines régions africaines, une altération de la croissance et de quelques paramètres immunitaires a également été observée.(ANSES, 2012)

*Aspergillus* est à l'origine de diverses atteintes respiratoires selon les caractéristiques de l'exposition aspergillaire, mais aussi de la réponse immunitaire de l'hôte, locale (trachéobronchique) et générale. L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique correspond à une réaction d'hypersensibilité ; son diagnostic doit être évoqué devant un asthme sévère avec opacités radiologiques, hyper éosinophilie et taux élevé d'IgE. La colonisation bronchique est souvent de découverte fortuite, mais nécessite une surveillance. L'aspergillome, le plus souvent asymptomatique, se développe dans une cavité préexistante. La bronchite

aspergillaire est une infection endobronchique superficielle prolongée. L'aspergillose pulmonaire trachéobronchique nécrosante ou pseudomembraneuse est une infection bronchique micro invasive dont le pronostic reste très sombre. L'aspergillose pulmonaire invasive survient quasi exclusivement chez des patients immunodéprimés, mais des cas sont rapportés de façon non exceptionnelle chez des patients atteints de pathologie pulmonaire chronique. L'aspergillose pulmonaire chronique nécrosante peut être divisée en aspergillose pulmonaire chronique caverneuse et fibrosante, et aspergillose pulmonaire invasive subaiguë selon le profil évolutif en particulier radiologique. La prise en charge des maladies aspergillaire évolue avec le développement de nouvelles techniques diagnostiques (PCR, antigénémie) mais surtout grâce aux antifongiques de nouvelle génération.

*Aspergillus flavus* sont responsables d'infections opportunistes, connues sous le nom d'aspergilloses pulmonaires ou généralisées. Elles apparaissent préférentiellement chez les sujets fragiles contractant par exemple des broncho-pneumopathies chroniques obstructives (BPCO), des emphysèmes, des cancers broncho-pulmonaires ou chez les patients soumis à des traitements immunosuppresseurs (corticothérapie, chimiothérapie). (GAUTHIER A ,2016)

## 4. Toxicité

### 4.1. Absorption

L'absorption des AF est possible par voie orale et trachéale. Elle est relativement rapide et s'effectue au niveau de l'intestin grêle, plus précisément au niveau du duodénum (79). Les toxines sont ensuite transportées dans l'organisme grâce au phénomène de fixation aux protéines plasmatiques, notamment à l'albumine. La distribution de l'AFB1 a lieu principalement au niveau du foie via la veine porte. Elle s'effectue à partir du plasma sanguin vers les hépatocytes, par un processus de diffusion passive à travers les membranes cellulaires (80). La distribution au sein même de la cellule se fait essentiellement au niveau du noyau, du réticulum endoplasmique, du cytosol et des mitochondries.

### 4.2. Métabolisme

Le métabolisme hépatique de l'AFB1 se produit en deux étapes. La phase I s'effectue par l'intermédiaire des cytochromes hépatiques P450 (CYP450). Sous l'action des CYP450, notamment le cytochrome P1A2 (CYP1A2), l'AFB1 donne par hydroxylation l'AFM1 et par époxydation l'AFB1-8,9-époxyde, le métabolite le plus toxique L'Aflatoxicol, l'AFM1, l'AFQ1 et l'AFP1 sont d'autres composés qui résultent du métabolisme de l'AFB1. La phase II concerne le devenir de l'AFB1-8,9-époxyde (développé plus loin).



L'AFB1 n'est pas directement néfaste, c'est sa métabolisation qui active sa toxicité. Bien que le métabolisme hépatique soit prédominant, un métabolisme pulmonaire est possible par l'intermédiaire d'enzymes oxydantes: la lipo-oxygénase et la prostaglandine-H-synthétase. (GAUTHIER A ,2016)

## **5. Mécanisme d'action**

### **5.1. Formation d'adduits à l'ADN**

Les effets cancérigènes et mutagènes de l'AFB1 sont dus à sa biotransformation par les CYP450, ayant pour résultat la formation d'AFB1-8,9-époxyde. L'AFB1-8,9-époxyde a une durée de vie courte mais est particulièrement réactif: il est considéré comme le principal métabolite génotoxique via sa fixation à l'ADN.

L'AFB1-8,9-époxyde va se lier de manière covalente à l'ADN, l'ARN et les protéines. Il a une affinité particulière pour l'azote N7 de la guanine. La réaction d'addition de ces deux composés aboutit à la formation d'un adduit à l'ADN: le trans-8,9-dihydro-8 (7-guanyl)-9-hydroxy-AFB1. C'est la présence de cet adduit qui est à l'origine des mutations. La mutation la plus fréquemment observée est la transversion G en T, c'est-à-dire le remplacement d'une base nucléique guanine par une thymine.

Les mutations les plus étudiées concernent les gènes suppresseurs de tumeurs (gène p53, oncogènes) et les gènes -codant pour la glutathion-S-transférase, enzyme permettant la détoxification de l'AFB1-8,9-époxyde.

Il existerait une relation entre cancer hépatique et infection simultanée par le virus de l'hépatite B (VHB). L'infection par le VHB aurait pour conséquence d'augmenter le métabolisme des AF et de diminuer l'activité de la glutathion-S-transférase, et par conséquent la détoxification des composés néfastes. (GAUTHIER A ,2016)

### **5.2. Métabolisme des protéines**

L'effet immunosuppresseur semble être dû à l'altération de la synthèse des acides nucléiques et des protéines. Il a pour conséquences de provoquer une diminution de la prolifération, de la maturation et de la production des lymphocytes et cytokines (médiateurs de la signalisation cellulaire), une diminution de la capacité de phagocytose des macrophages, ainsi qu'une diminution des fonctions neutrophile et inflammatoire. (GAUTHIER A ,2016)

# **PARTIE II**

## **ETUDE EXPERIMENTALE**

## **1. Présentation du produit analysé**

### **1.1. Catégories des laits infantiles**

Il existe trois familles de lait pour bébé :

-Les laits pour nourrisson ou laits dits premier-âge : c'est une alimentation exclusivement lactée et convient aux bébés depuis leur naissance jusqu'à 06 mois environ. Il se présente en poudre et on le mélange avec de l'eau faiblement minéralisée avec un PH neutre.

-Les laits de suite ou laits dits 2<sup>ème</sup> âge : ce sont des laits dits de transition lorsqu' l'enfant s'apprête à diversifier son alimentation avec des purées, des bouillies, ...etc. ce type de lait convient aux bébés entre l'âge de 05 mois et 01 an, car il est équilibré en lipides, riche en acides gras essentiels, ainsi qu'en fer, calcium, phosphore, et en vitamines.

Le lait infantile 2<sup>ème</sup> âge n'est pas à prendre à la légère, pas de précipitation, laissez votre enfant profiter de ses apports énergétiques jusqu'à son premier anniversaire.

De nos jours, le risque allergène sur ce type de produits est de moins en moins visible avant les 06 mois, les conseils d'un pédiatre restent très importants à ce sujet.

-Les laits de croissance : parfaits pour les bébés de 09 à 12 mois, ils peuvent être maintenus jusqu'à l'âge de 03 ans. Ce type de laits est riche en fer, vitamines A, B9, C, D et E ; pour compléter le reste de son alimentation qui s'est largement étoffée (fruits, légumes, poissons, viandes,...etc.).

Avant d'utiliser le lait de croissance, demandez conseil à votre médecin, il vous dira si votre enfant est en pleine santé et bien dans sa courbe de croissance et de poids,...etc. Si tout est en ordre, nul besoin d'insister nécessairement sur ce type de laits avant ses 03 ans.

### **1.2. Identification du produit analysé**

Les lots représentant le produit analysé sont répertoriés en annexe 04.

## **2. Présentation de l'entreprise**

**2.1. Dénomination :** laboratoire d'hygiène

**2.2. Localisation :** sous-sol de l'ex l'hôpital de BOUIRA. L'aménagement du laboratoire est conçu pour permettre d'isoler les activités ; plusieurs salles ont été prévues :

-Réception+ deux bureaux -Salle de lavage et stérilisation -Salle de microbiologie de l'eau et de l'aliment -Salle de copro-parasitologie -Salle de préparation des milieux de cultures.

**2.3. Date de mise en service :** MAI 2001, le laboratoire d'hygiène dépend de la DSP et que seul l'approvisionnement en réactifs et la maintenance sont pris en charge par EPSP de Bouira dont la mesure ou la majorité des analyses sont effectuées au profil de l'EPSP de Bouira.

**2.4. Activités développées :** La prévention et la lutte contre les maladies infectieuses d'origines bactérienne (typhoïde, cholera, maladies diarrhéiques,.....) et parasitaire (paludisme, parasite du tube digestif.....), en analysant les échantillons suivants :

-EAU : surveillance et enquêtes épidémiologiques.

ALIMENT : surveillances et enquêtes épidémiologiques.

-SELLE : copro-parasitologie, diagnostic et dépistage.

Le prélèvement des échantillons se fait en collaboration avec les différents auteurs : SEMEP, Gendarmerie, caserne, Militaire, Université, Service UDS... .

Le laboratoire d'hygiène de la wilaya assure également l'encadrement des étudiants universitaire et de l'école paramédicale de la wilaya.

### 3. Objectif de l'étude

L'objectif de notre travail est l'analyse microbiologique du lait infantile qui peut être un contrôle sanitaire et qualitatif, visant à protéger la santé des nourrissons. Comme il peut être un contrôle de qualité dans le cadre du paiement du lait à sa qualité microbiologique, hygiénique et nutritionnelle .le contrôle de la qualité de lait infantile se fait comme suit :

- Par l'évaluation de la qualité bactériologique du lait infantile au niveau de quelque maternités, pédiatres, crèches et certaines mamans des la wilaya de Bouira par recherche des *Staphylococcus aureus*, des germes aérobies à 30° C, des coliformes totaux et *E. coli*, *Clostridium sulfito-réducteurs*, salmonelle et levures et moisissures.
- Par l'étude des techniques utilisées et des germes identifiés par le laboratoire des hygiènes EPSP de Bouira à partir des prélèvements de lait infantile.
- S'assurer que le niveau de contamination du produit apte à être consommé ne présente aucun risque de prolifération bactérienne et surtout aucun danger pour la santé du consommateur.
- de conférer à l'aliment une protection intrinsèque contre la prolifération microbienne.
- Détecter la présence de germes recherchés qui peuvent être distribués de façon hétérogènes dans l'aliment.
- Mettre en évidence la présence des moisissures pathogènes « *aspergillus flavus* dans le lait infantile qui cause des dégâts chez les nourrissons est surtout l'aspergillose.

### 4. Région et période d'étude

Nous avons réalisé notre enquête au niveau de quelques crèches, pédiatres, maternités et quelques mamans dans la wilaya de Bouira durant 6 mois.

La wilaya de Bouira est une ville Algérienne de 695583 habitants. Ses coordonnées géographiques sont : latitude 36.25 et longueur 3.91667. La wilaya est située dans la région de Kabylie, elle est bordée par les chaînes montagneuses du Djurdjura et des Bibans et elle est délimitée au nord par les deux wilayas de Boumerdés et de Tizi Ouzou ; à l'est par les deux wilayas de Bejaïa et de Bordj Bou Arréridj ; au sud par la wilaya de M'Sila ; à l'ouest par les deux wilayas de Blida et de Médéa (**carte Algérie**).

### **5. Nombre de prélèvements étudiés**

On a 20 échantillons de la poudre de lait déshydraté infantile récoltés mis en des flocons stériles. Nous avons effectué ces prélèvements au niveau de plusieurs maternités, pédiatre, Crèches et chez les mamans dans la wilaya de Bouira. Dans le tableau 2 (voir annexe 1) nous présentons le nombre de prélèvement, la date et l'heure de prélèvement ainsi que numéro de lot et la quantité nécessaire.

### **6. Technique de prélèvement du lait**

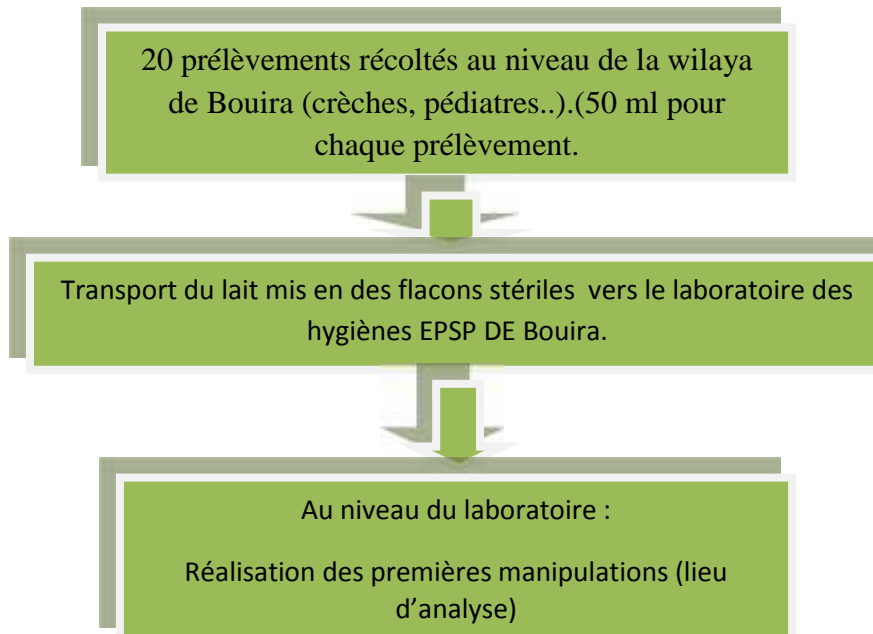
De chaque boîte du lait infantile on prélève aseptiquement 50 g sur les parties superficielles et profondes du boîte de poudre de lait et on les mit dans des sachets stériles ou des flocons déjà stérilisés et étiqueter du nom d'échantillon, numéro de lot, lieu et date et l'heure du prélèvement et la quantité.



**Figure 1 : Prélèvement du lait**

### **7. Transport des prélèvements du lait**

Une fois les prélèvements effectués, ils sont immédiatement acheminés de manière bien ordonner et bien fixer (afin d'éviter la cassure des verres) vers le laboratoire des hygiènes EPSP de où on réalise les premières manipulations dans le jour même.



**Figure 3** : Diagramme des différentes étapes de prélèvement

## 8. Etude bactériologique du lait

Toutes nos recherches et analyses ont été effectuées selon les normes du journal officiel (**J.O, 1998**).

L'arrêté interministériel du 24 janvier 1998, relatif aux spécificités microbiologiques de certaines denrées alimentaires, qui fixe les critères microbiologiques du lait **cru, en poudre, fermenté acidifié ou infantile**, ainsi que les modalités d'interprétation des résultats d'analyses microbiologiques.

**Tableau 1** : spécifications microbiologiques du lait déshydraté ou instantané à consommer après adjonction de liquide : [lait infantile] (**J.O, 1998**).

<b>Les bactéries recherchées dans le lait déshydraté conditionné :</b>	<b>N</b>	<b>C</b>	<b>M</b>
Germes aérobies à 30 c°	5	2	5*10 <sup>4</sup>
Coliformes	5	2	1/0,01g

Escherichia coli	5	2	1
Staphylococcus aureus	5	2	1
Clostridium sulfito-réducteurs à 46 c°	5	2	1/0,1g
Levures et moisissures	5	2	3*10 <sup>2</sup>
Salmonelle	5	0	Absence/30g

« m » représente le nombre de germes dans 1 ml du lait déshydraté conditionné.

m : seuil limite d'acceptation au-delà duquel le lait est de qualité satisfaisante.

n : nombre d'unités composant l'échantillon.

c : nombre d'unités de l'échantillon donnant les valeurs situées entre « m » et « M ».

## 9. Matériels et méthodes

### 9.1. Matériels pour l'analyse microbiologique

Matériel courant de laboratoire de microbiologie, notamment :

#### 9.1.1. Appareillage

Homogénéisateur-Etuves d'incubation-Bain marie-Bec bunsen-Portoirs-Autoclave-Balance analytique-Compteur-Pissette d'alcool-Coton-microscope

#### 9.1.2. Verrerie

Pipettes graduées-Pipettes pasteur-Boîtes de pétri-Tubes à essai-Flocon stériles

#### 9.1.3. Milieux de culture

**\*bouillons et milieux de culture :** TSE (tryptone sel eau) - Bouillon SFB (Selnite F Broth)

**\*milieu de culture solide (gélose) :** Les milieux de culture hydratés prêts à l'emploi conditionnés en flacon de 250 ml ou 180 ml utilisés sont :

Gélose PCA - Milieu VRBL - Baird Parker - Milieu Hécktoéne - Gélose viande-foie (VF) -OGA

## 9.2. Préparation des solutions mères et dilutions



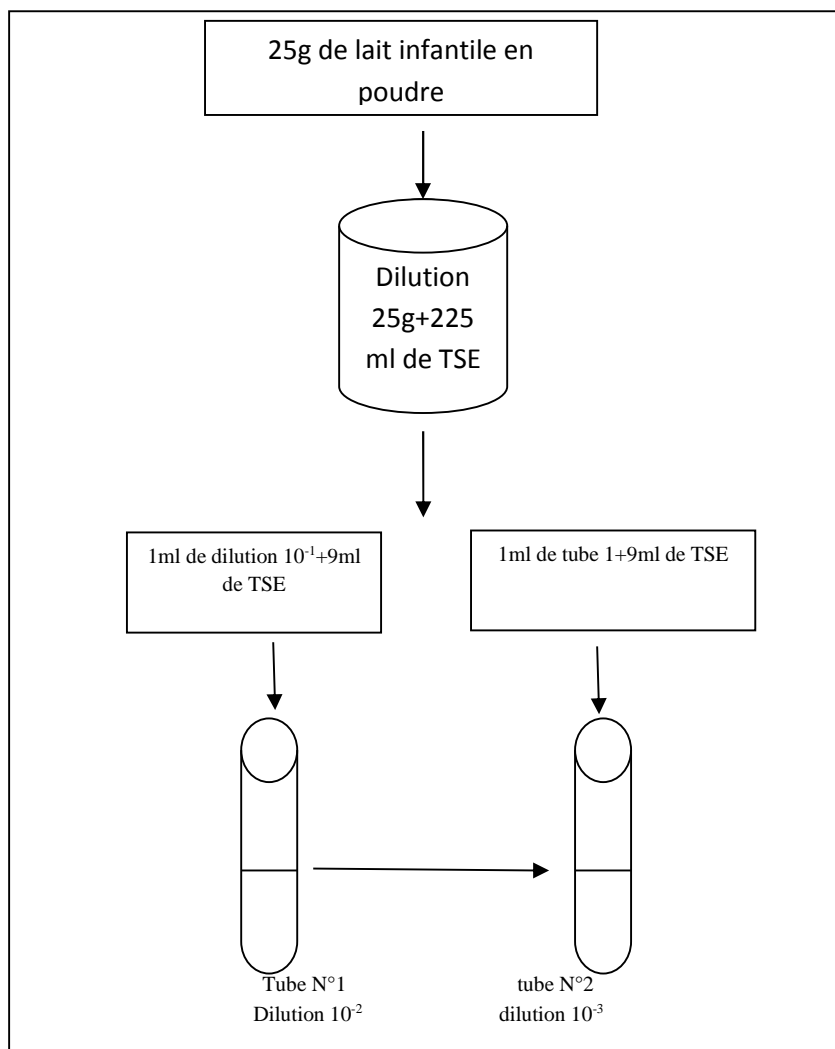
**Figure 1 :** Photo personnel portant préparation des dilutions

On réalise à partir du lait des dilutions successives en progression géométrique de raison de 1/10.les dilutions s'effectuent de la façon suivante :



### Mode opératoire

1. A partir de 50 g de lait, après homogénéisation, on répartit stérilement 25 g de lait dans un flacon contenant 225 ml de diluant de TSE (tryptone sel eau) pour obtenir la dilution au 1/10( $10^{-1}$ ), et homogénéisé par agitation.
2. Pour réaliser la dilution  $10^{-2}$ , on répartit 1 ml de la dilution  $10^{-1}$  dans 9 ml du diluant TSE à l'aide d'une pipette de 1 ml(ou d'une pipette automatique à embout jetables).
3. Après avoir homogénéisé par agitation le contenu du tube N°1, on en transfère 1 ml dans le tube N°2 contenant 9 ml de TSE à l'aide d'une autre pipette, de la même manière on réalise les dilutions suivantes  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$



**Figure 2 :** Diagramme portant méthode de préparation de la solution mère et des dilutions.

### 9.3. Recherche et dénombrement microbiologique effectués

Les analyses microbiologiques reposent sur le dénombrement et la recherche des microflores à incidence sanitaire et technologique c'est-à-dire les germes responsables de toxi-infections

alimentaires et ceux responsables des accidents de fabrication qui implique une altération de la qualité organoleptique et marchande du produit :

-dénombrement de la flore aérobie mésophile totale qui est un indice de l'état général de la qualité du produit.

-la recherche et le dénombrement des groupes de germes indicateurs de contamination fécale :

Coliformes, Coliforme fécaux (*Escherichia Coli*), *Clostridium sulfito-réducteurs*

-la recherche des germes pathogènes : *Salmonelles*, *Staphylococcus aureus*, levures et moisissures (*aspergillus flavus*)

### **9.3.1. Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30°C : (NF08-051)**

Le test du dénombrement des bactéries aérobies mésophiles demeure la meilleure méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des aliments, particulièrement dans le secteur de la consommation, afin de considérer l'ensemble des conditions subies par l'aliment lors du transport, de l'entreposage, etc. (**KARIO H. KASRIA O, 2015**) (**QUEBEC, 2009**)

**Principe :** Pour le dénombrement de la flore totale on effectue un ensemencement en masse sur une gélose glucosée à l'extrait de levure ou appelée également PCA (Plate Count Agar) à 30° c pendant 72 h. (**BOURGEOIS, 1991**)

**Mode opératoire :** L'ensemencement se fait en masse.

#### **1. Prise d'essai, suspension mère et dilutions selon ISO 6887**

#### **2. Ensemencement**

2-1. Après identification des boîtes, déposer stérilement 1 ml de la suspension mère et de chaque dilution ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) goutte à goutte sur toute la surface de la boîte.

2-2. Couler 15 ml de gélose PCA fondue au préalable et refroidie dans un bain d'eau à 45°C ou dans une étuve à 47°C.

2-3. Mélanger en maintenant la boîte couverte sur la surface de la table, lui faire décrire 6 cercles, dans le sens des aiguilles d'une montre, puis 6 cercles en inverse, en suite 6 aller et retour de haut en bas et 6 autres de gauche à droite en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis laisser solidifier.

#### **3. Incubation**

Incuber les boîtes avec couvercle en bas dans une étuve à 30°C pendant 72 h, suivi de :  
Première lecture : 24 h. - Deuxième lecture : 48 h. - Troisième lecture : 72 h.

La méthode utilisée est résumée dans le diagramme de la figure N°.

#### 4. Dénombrement

Dénombrer les colonies de formes à tête d'épingle qui poussent en masse et noter les dilutions correspondantes.



**Figure 3** : Photo personnel illustrative relative au résultat de dénombrement de la FTAM

Pour interpréter les résultats, on ne doit tenir compte que des boîtes qui contiennent 15 et 300 colonies (en surface et dans la masse).

La moyenne du dénombrement est réalisée selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{V(n1 + n2 * 0.1)d}$$

N : nombre de micro-organismes par ml.

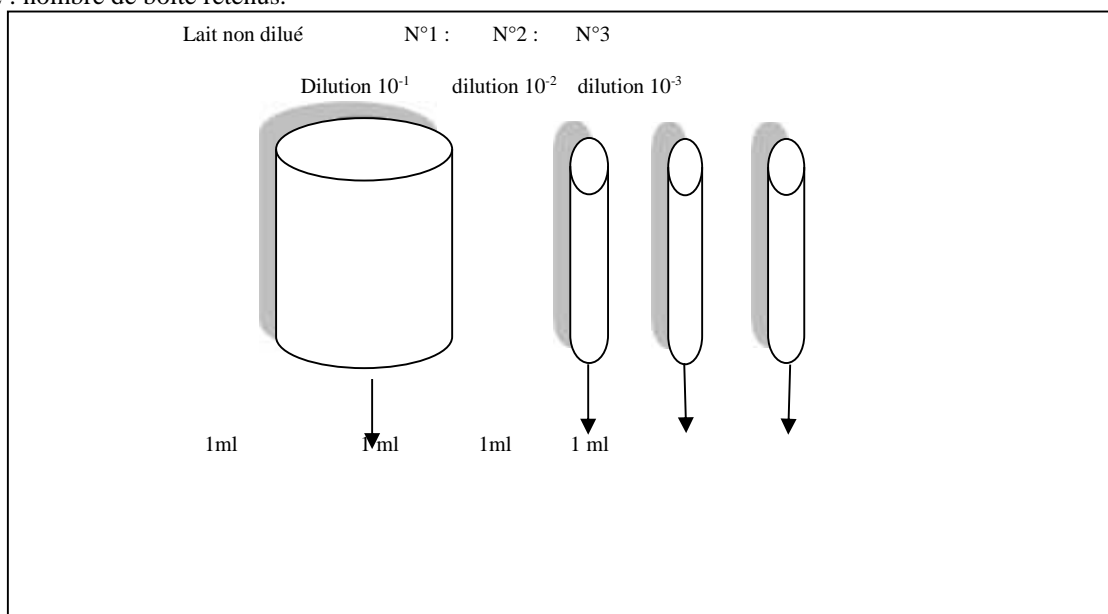
$\sum c$  : est la somme des colonies comptées sur les deux premières boîtes retenues successives.

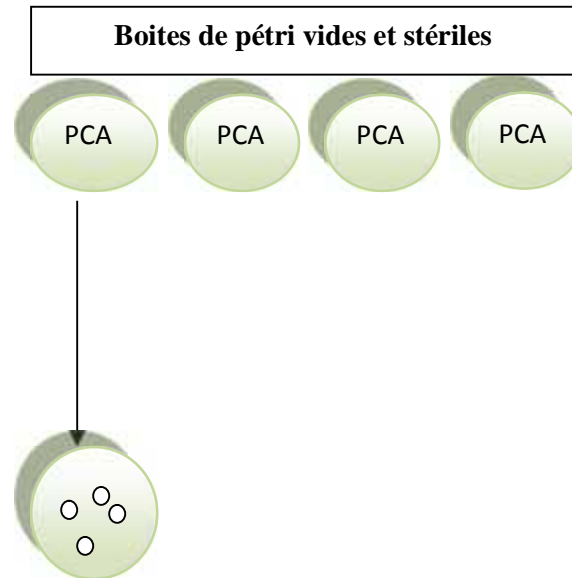
d : la dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été obtenus.

V : volumeensemencé (ml).

n1 : nombre de boîtes retenus de la 1<sup>er</sup> dilution.

n2 : nombre de boîte retenus.





### 9.3.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux: (NF V08-051)

Bactéries aérobies ou anaérobies facultatives, Gram négatif, asporulées, en forme de bâtonnets, mobiles ou non. Ils possèdent un métabolisme de type respiratoire et fermentaire et sont capables de fermenter le lactose en produisant de l'acide et du CO<sub>2</sub> à 35 C. Ils sont oxydases négatives et réduisent les nitrates en nitrites sous conditions anaérobies.

Les principaux germes inclus dans le groupe sont : citrobacer, entérobacter, Escherichia, klebsiella et serratia.

la présence de coliformes totaux dans les aliments indique un traitement thermique (ex. : pasteurisation du lait) inefficace ou une contamination subséquente au traitement ou un mauvais nettoyage et une mauvaise désinfection d'appareils ou une contamination fécale (QUEBEC, 2009) (KABIR A, 2014).

#### Principe

Cette fois on utilise un milieu gélosé (VRBL) pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux. La présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif. La fermentation de lactose se traduit par une acidification, révélée par le virage au rouge de l'indicateur, et par la précipitation d'acides biliaires autour des colonies. (Leyral et Vierling, 2001)

#### Mode opératoire

**1<sup>ère</sup> étape** : inoculation (test présomptif).

**1. Prise d'essai, suspension mère et dilutions** : selon ISO 6887, ISO 8261.

**2. Ensemencement**

**2-1.** Après identification des boîtes, déposer stérilement 1 ml chaque dilution ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) goutte à goutte sur toute la surface de la boîte.

**2-2.** Couler 12 à 15 ml de gélose VRBL fondue au préalable et refroidie dans un bain d'eau à 45°C ou dans une étuve à 50°C.

**2-3.** Mélanger en maintenant la boîte couverte sur la surface de la table, lui faire décrire 6 cercles, dans le sens des aiguilles d'une montre, puis 6 cercles en inverse, en suite 6 aller et retour de haut en bas et 6 autres de gauche à droite en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis laisser solidifier.

**2-4.** Rajouter 5 ml de la gélose VRBL.

**3. Incubation**

Incuber quelques boîtes à 30°C pendant 24 à 48 heures (coliformes totaux) et d'autres à 44°C pendant 24h (coliformes fécaux).

**Lecture**

Après la période d'incubation procéder au comptage des colonies caractéristiques de coliformes totaux (violacées, d'un diamètre de 0.5mm au plus et entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile).

**Dénombrement**

Retenir pour le comptage la boîte contenant entre 15 à 150 colonies.

Calcul du nombre des colonies par millilitre.

La moyenne de dénombrement est réalisée selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{1,1d}$$

N : nombre de micro-organisme par ml.

$\sum c$  : La somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.

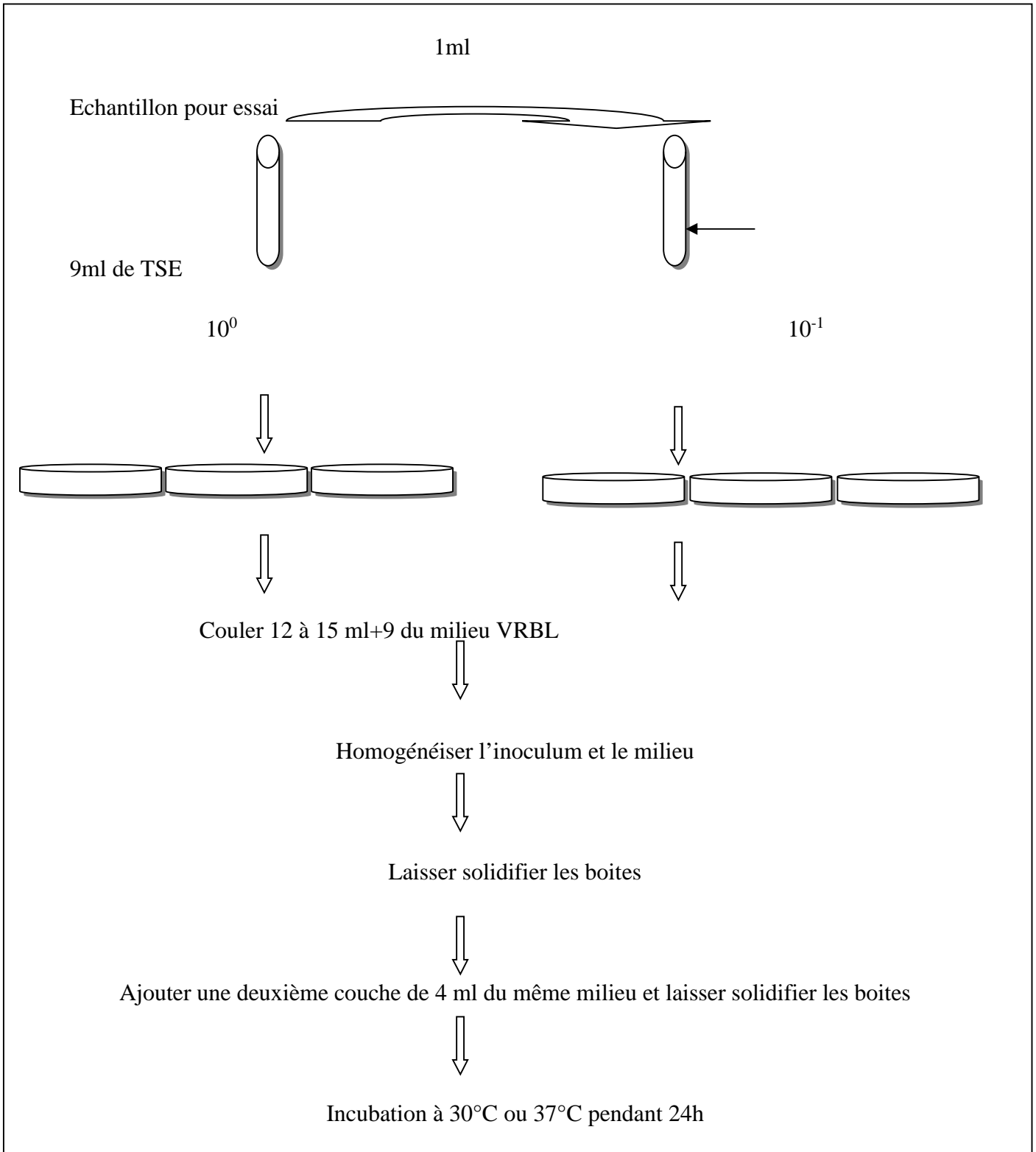
d : la dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été obtenus.

➤ **2<sup>ème</sup> étape** : repiquage sur milieu de confirmation (test confirmatif)

Prendre quelques colonies dans les boîtes pétries positives de coliformes de 1<sup>ère</sup> étape, et l'introduire dans des tubes de bouillon Schubert avec cloche de Durham puis incuber à 37°C pendant 24 h.

**Lecture**

Considérer comme positif les tubes où se manifestent une croissance bactérienne et un dégagement de gaz dans la cloche.



**Figure 5** : Représentation graphique du mode opératoire (Test présomptif)

à 44°C ainsi que la propriété de fermenter le lactose en présence de sels biliaires. Escherichia

coli fait partie de ce groupe et possède en plus la propriété de produire de l'indole à partir du tryptophane à 44°C.

La présence d'indole est le caractère recherché pour la confirmation de la recherche d'Escherichia Coli.

### **Mode opératoire**

Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif de Kovac au tube contenant le bouillon Schubert avec la cloche du Durham positif pour la révélation de l'indole.

### **Lecture**

Les résultats sont positifs lorsqu'il y'a virage de couleur et production de gaz dans la cloche de Durham, et l'apparition d'anneau rouge en surface.

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table NPP de Mac Grady.



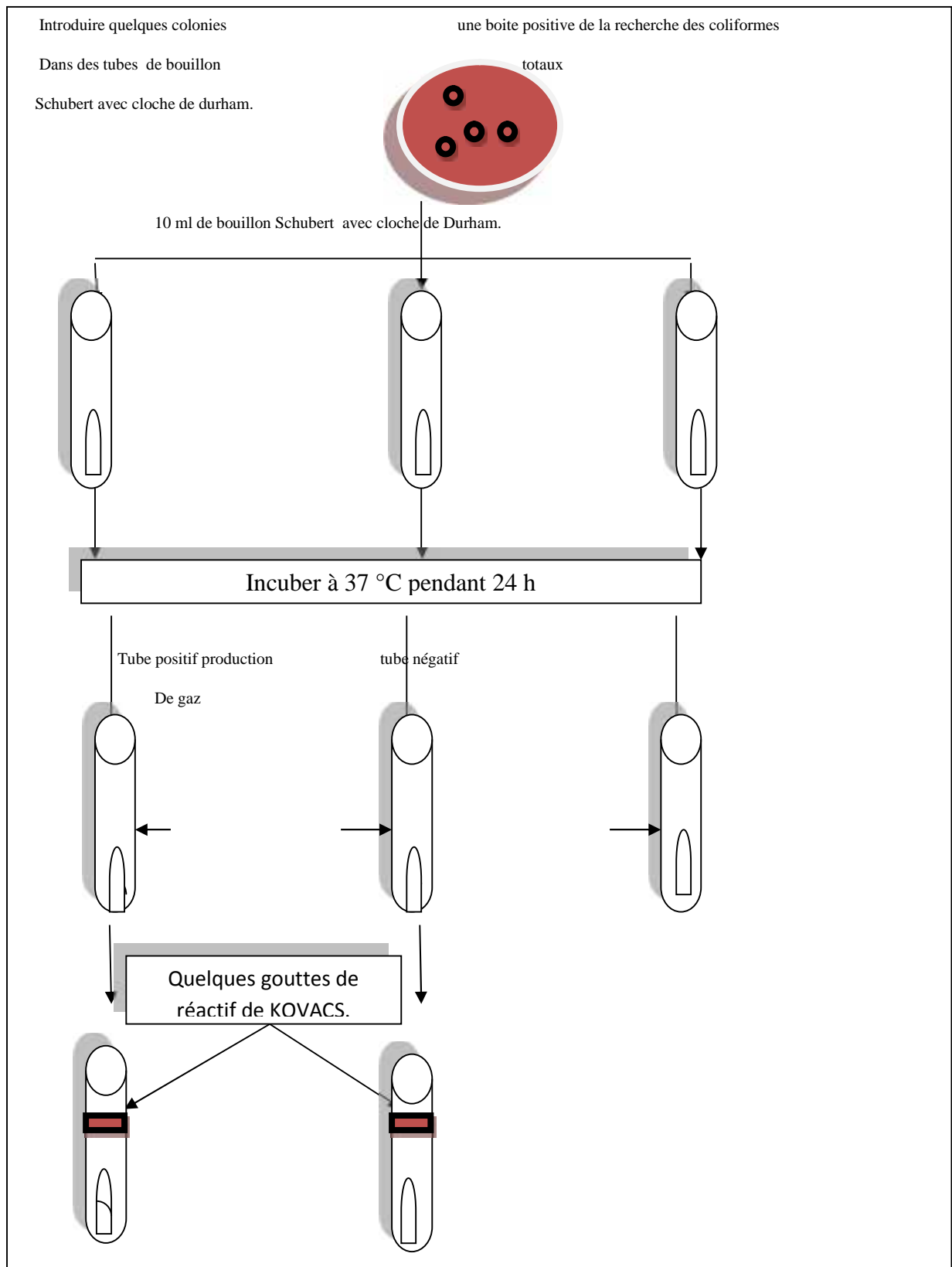


Figure 6 : Diagramme portant méthode de recherche d'Escherichia Coli (Test confirmatif)

### VIII.3.3. Recherche et dénombrement des Staphylococcus aureus. (ISO 6888-3)

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des cocci à Gram positif, non sporulés, regroupés en amas, immobiles, anaérobies facultatifs et possédant une catalase. Le critère de base de leur classification est la production de coagulase. On distingue trois espèces à coagulase positive : *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, et trente espèces à coagulase négative.

La présence des staphylocoques dans les aliments représente un risque pour la santé humaine, parce que certaines souches appartenant principalement à l'espèce *S. aureus* (**BRISABOIS A. et all, 2009**) productrices d'entérotoxines (stable à la chaleur et à l'acidité) qui est responsable de troubles importants de la digestion. Ceux ci se manifestent en six heures après ingestion de la nourriture incriminée la toxine par vomissements violents et répétitifs survenant 30 minutes à 8 heures après l'ingestion accompagnés le plus généralement par des nausées, diarrhée. La maladie est de courte durée mais très éprouvante et spectaculaire. Elle est bénigne chez l'adulte en bonne santé mais peut être plus grave chez le jeune enfant et les personnes âgées.

**Origine :** homme (porteur sain ou plaie infectée et diarrhée ou bronchite)

**Condition nécessaire au développement :** 6,5 à 45,5 °c, mésophile, aérobie. (**SOUTI I.KAROUAZ F, 2014**)

### Mode opératoire

#### 1. Préparation des boîtes de pétri

**1-1.** Préparation une série des boîtes de pétri à vis stérile où on couler environ 4 mm de la gélose

**1-2.** Mélanger en maintenant la boîte couverte sur la surface de la table, lui faire décrire 6 cercles, dans le sens des aiguilles d'une montre, puis 6 cercles en inverse, en suite 6 aller et retour de haut en bas et 6 autres de gauche à droite en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis laisser refroidir pour solidifier à raison d'une boîte par dilution.

#### 2. Ensemencement

**2-1.** Transférer à l'aide d'une pipette stérile 0,1ml de dilution pour essai à la surface de boîte de milieu gélosé.

**2-2.** Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé en évitant de toucher les bords de la boîte avec l'étaleur. Laisser sécher les boîtes avec les couvercles en place, pendant environ 5 min à la température ambiante.

#### 3. Incubation

Retourner les boîtes préparées et les incuber dans l'étuve à 37°C pendant 24h à 48h.

**4. Lecture :** Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir :

\*des colonies non caractéristiques : sont noires et brillantes avec ou sans bord blanc étroit ou des colonies grises dépourvues de zone claire.

\*des colonies caractéristiques : sont noires ou grises brillantes et convexes de 1 mm à 2,5 mm de diamètre et entourées d'une entouréole d'éclaircissement.

Ne retenir que les boîtes contenant plus de 15 colonies caractéristique et non caractéristique.

### 5. Confirmation (recherche de coagulase)

5-1. A l'aide d'un fil stérile, prélever une partie de chaque colonie sélectionnée et l'ensemencer dans un flacon de bouillon cœur-cerveille.

5-2. Incuber à 35°C pendant 24h ± 2h.

5-3. Ajouter aseptiquement 0,1 ml de chaque culture à 0,3 ml de plasma de lapin dans des tubes stériles à hémolyse ou flacons et incuber à 37°C pendant 24 h.

Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus de la moitié du volume initialement occupé par le liquide.

5-4. A titre de contrôle négatif, ajouter pour chaque lot de plasma 0,1 ml de bouillon cœur-cerveille stérile à la quantité recommandée de plasma de lapin, et faire incuber sans ensemencement. Pour que

La réaction soit valable, le plasma du tube témoin ne devra pas montrer de signes de coagulation.

### 6. Lecture

Les preuves sont reconnues positives lorsque le coagulum occupe plus 3/4 du volume initial.

### 7. Expression des résultats

Calcul du nombre de Staphylocoques à coagulase positive par boîte :

$$a = \frac{b^c}{A^c} \times c^c + \frac{b^n}{A^n} \times C^n$$

Calcul du nombre de staphylocoques à coagulase positive par gr ou ml de produit :

$$N = \frac{\sum c}{V_m \times (n_1 + 0,1n_2) \times d_1}$$

N : nombre de micro-organismes par ml.

$\Sigma c$  : est la somme des colonies comptées sur les deux premières boîtes retenues successives.

d : la dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été obtenus.

V : volume ensemencé (ml).

n1 : nombre de boîtes retenues de la 1<sup>er</sup> dilution.

n2 : nombre de boîtes retenues.

#### 9.3.4. Recherche et dénombrement de *Clostridium sulfito-réducteur* : (NF V 08-061)

Sont des bacilles à gram positif (de taille 0,3-1,9 à 2-10  $\mu\text{m}$ ), isolés ou en chainettes, non capsulés (sauf les *Clostridium perfringens*), sporulés, la plupart sont mobiles (flagelles péritriches), mésophiles et acceptent des variations assez importantes de PH et de températures, elles sont anaérobies strictes, à une catalase négative et ne possèdent pas de superoxyde dismutase ce qui explique leur intolérance à l'oxygène aussi bien pour la survie que pour la multiplication, l'oxygène est toxique à cause de la formation de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

**Origine :** ils sont très répandus dans la nature, dans le sol et dans l'intestin de l'homme et autres animaux. Ils ont un grand pouvoir de dégradation vis-à-vis des sucres et des protéines, libérant de l'acide butyrique ou de l' $\text{H}_2$ . Leur présence dans l'aliment est un témoin d'une contamination fécale ou tellurique.

Quelques espèces sont pathogènes, responsables de gastro-entérite (*C. perfringens*) ou de graves intoxications souvent mortelles (*C. botulinum*, *C. tetani*), et les clostridies de la gangrène gazeuse, mais aussi altèrent la qualité des aliments (forte activité protéolytique) (9).

Les *Clostridium sulfito-réducteur* sont considérés comme germe témoin de la contamination

**Principe :** Le milieu utilisé est la gélose viande-foie de plus, il contient du sulfite de sodium qui est réduit en présence d'un sel de fer en sulfure de fer donnant la coloration noire par l'intermédiaire des bactéries *Clostridium sulfito-réducteurs*.

Ces bactéries étant anaérobies strictes, le milieu doit être exempt d'oxygène cet état est réalisé par inoculation en gélose viande foie profonde.

#### Mode opératoire

##### 1. Prise d'essai, suspension mère et dilutions

##### 2. Ensemencement

2-1. Introduire aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans un tube à vis stérile à raison de 2 tubes pour chaque dilution,

2-2. Les tubes sont mis au bain marie chauffé à 80°C pendant 8 à 10 minutes, puis à un refroidissement immédiat sous l'eau du robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

2-3. Ajouter environ 15 ml de gélose VF prête à l'emploi, dans chaque tube. Laisser solidifier sur la paillasse pendant 30 minutes.

2-4. Puis ajouter quelques gouttes d'huile de vaseline pour créer l'anaérobiose.

**3. Incubation** : elle se fait à 46°C pendant 24h à 48h.

**4. Lecture** : elle est effectuée par comptage de colonies caractéristiques (entourées d'un halo noir).

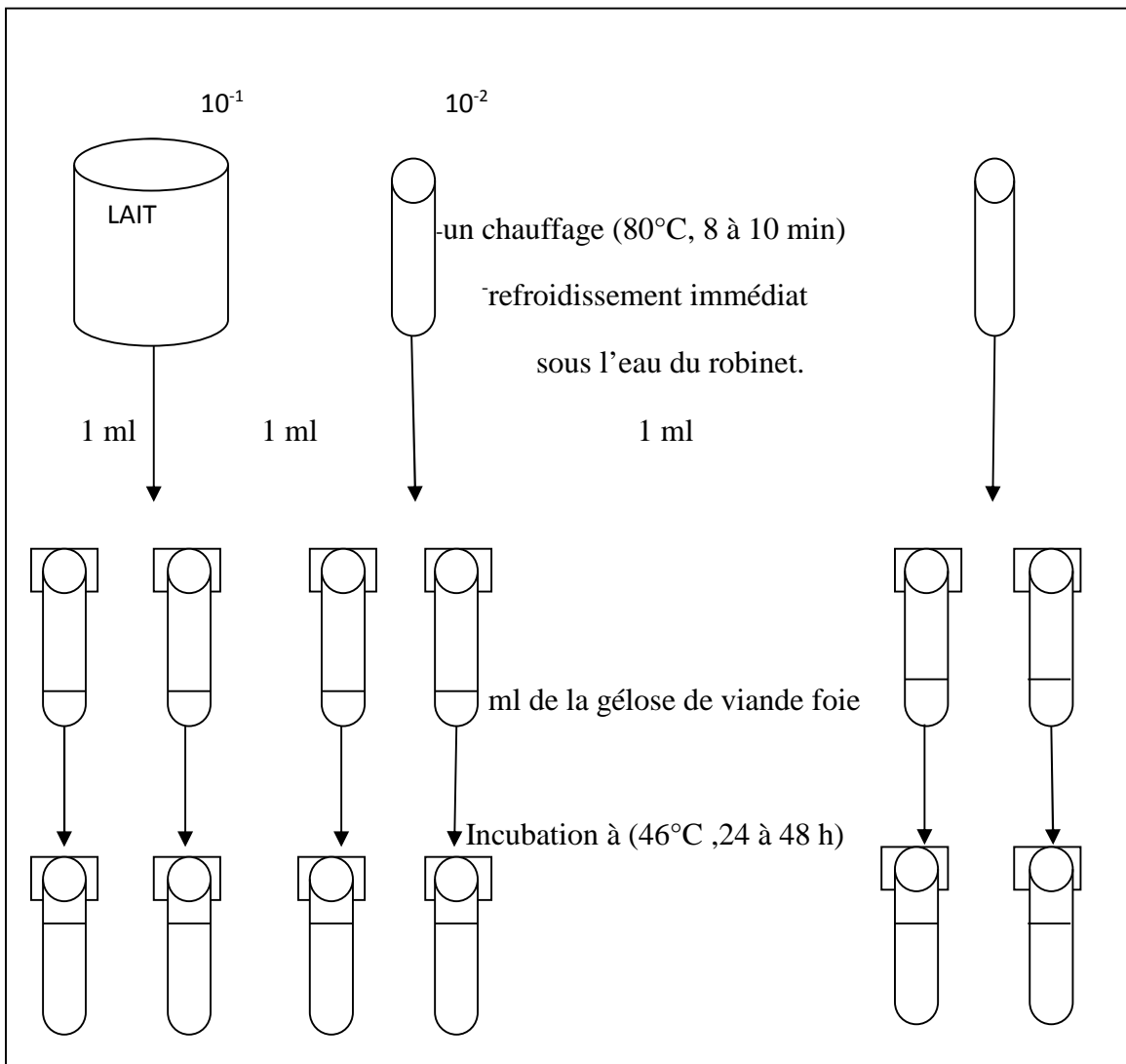
- Retenir pour le comptage le tube contenant entre 15 à 150 colonies.
- Calculer le nombre des colonies par millilitre.
- La moyenne de dénombrement est réalisée selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{1.1d}$$

N : nombre de micro-organismes par ml.

c : la somme des colonies comptées sur les deux tubes retenues.

d : la dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été obtenus.



**Figure 7** : Diagramme portant méthode de recherche et de dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs*.

### 9.3.5.1. Levures et moisissures. (XP V 08-059) (ISO 7954)

Les levures et les moisissures sont largement présentes dans les denrées alimentaires. Ceci s'explique par le fait qu'elles peuvent y utiliser une large variété de substrats tels que les pectines et d'autres hydrates de carbone, les acides organiques, les protéines et les lipides. De plus, elles tolèrent des valeurs basses de pH, d' $A_w$ , de température, ainsi que la présence de conservateurs. Elles peuvent même utiliser des ingrédients comme des acides lactiques, citriques et acétiques qui ont un effet inhibiteur sur la croissance de nombreux microorganismes. Les altérations résultant de leur croissance sont de nature sensorielle : couche visqueuse, développement de zones colorées à la surface des denrées, production d'acides, de gaz, d'alcool, développement d'odeurs ou de goûts anormaux. (KRIO H.KASRIA O, 2015)

Les levures et les moisissures sont largement répandues dans l'environnement. On les trouve partout. Lorsqu'elles prolifèrent dans les aliments et que leurs populations atteignent des niveaux excessifs

Certains stéroïdes, dans certaines conditions, ce qui les rend potentiellement pathogènes pour l'homme. Des cas d'intoxication alimentaire ont été attribués à des mycotoxines.

### **Principe**

Il est basé sur le dénombrement en aérobie par comptage des colonies sur milieu solide OGA (l'agar glucosé à l'oxytétracycline) à 25°C.

### **Mode opératoire :**

#### **1. Prise d'essai, suspension mère et dilutions**

#### **2. Ensemencement :** se fait en surface.

**2-1.** Après identification des boîtes, Couler 12 à 15 ml de gélose OGA fondue au préalable et refroidie dans un bain d'eau à 45°C ou dans une étuve à 50°C.

**2-2.** Mélanger en maintenant la boîte couverte sur la surface de la table, lui faire décrire 6 cercles, dans le sens des aiguilles d'une montre, puis 6 cercles en inverse, en suite 6 aller et retour de haut en bas et 6 autres de gauche à droite en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis laisser refroidir.

**2-3.** Déposer l'inoculum 4 gouttes séparés sur la surface de la boîte.

**2-4.** A l'aide d'un étaleur en fait un ensemencement en surface.

#### **4. Incubation**

Les boîtes seront incubées dans une étuve à 25°C pendant 5 jours avec :

Première lecture : 24h, Deuxième lecture : 48h, Troisième lecture : 72h, Quatrième lecture : 4j, Cinquième lecture : 5j



**Figure 8** : Photos illustratives relatives aux résultats de recherche et de dénombrement des levures et des moisissures.

### 9.3.5.2. La mise en évidence des *aspergillus flavus*

**Observation macroscopique** : Duveteux à poudreux, blanc puis jaune à jaune-vert



**Figure 9** : Photo illustrative relative à l'aspect macroscopique de l'*A. Flavus*

### **Observation microscopique**

A l'aide d'un microscope optique à double oculaire sous grossissement x10, x40





**Figure 10** : Photos illustratives relatives à l'aspect microscopique de l'A. Flavus.

### Expression des résultats

On utilise la formule mathématique suivante où le nombre de colonies dénombrées soit compris : 15 c 150

$$N = \frac{\sum c}{V_m \times (n_1 + 0,1n_2) \times d_1}$$

N : nombre de micro-organismes par ml.

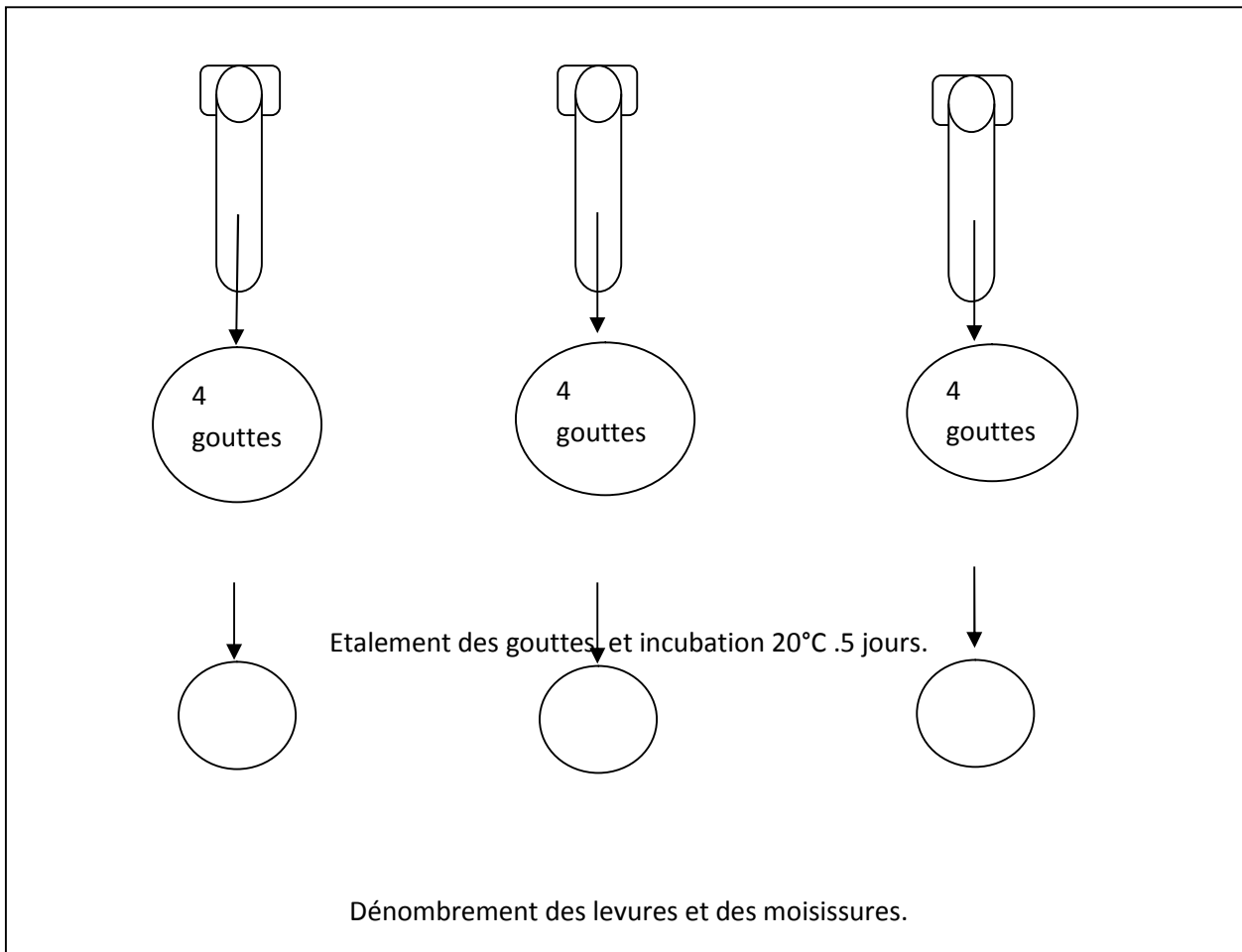
$\sum c$  : est la somme des colonies comptées sur les deux premières boîtes retenues successives.

d : la dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été obtenus.

V : volumeensemencé (ml).

n1 : nombre de boîtes retenus de la 1<sup>er</sup> dilution.

n2 : nombre de boîte retenus.



**Figure 11** : Diagramme de recherche et dénombrement des levures et moisissures.

#### 9.4. Salmonelle : (ISO 6579)

Sont des bactéries à Gram négatif de type aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques. Pourvues de flagelles péritriches, elles sont généralement mobiles mais certains sérovars sont immobiles comme *S. Gallinarum pullorum* et d'autres ayant perdu leurs flagelles. (4)

Les salmonella soient la première cause de toxi-infection alimentaire (gastro-entérite) chez les nourissantresponsable de cas de salmonellose (AFAOC ,2018)

Elle est aussi responsable de syndromes typhoïdes et paratyphoïde dont les sanglante et fébrile, nausées, perte de sang et de poids, autres signes (fatigue, somnolence...).ils surviennent dans les 3 jours suivant l'ingestion (C. BROUARD<sup>1,2</sup>, E. ESPIE<sup>1</sup>, V. VAILLANT<sup>1</sup>, H. DE VALK, 2005) (DGCCRF, 2017)

**Origine** : volailles, œufs, homme (porteur sain ou atteint de troubles digestifs)

-soit le lait cru utilisé (matière première) est contaminé et à des durées et/ou de températures de chauffage insuffisantes lors de la pasteurisation.

-soit à une contamination après la pasteurisation par l'environnement de la chaîne de fabrication et/ou conditionnement ou à la matière introduite.(8) (C. BROUARD<sup>1,2</sup>, E. ESPIE<sup>1</sup>, V. VAILLANT<sup>1</sup>, H. DE VALK, 2005)

**Condition nécessaire de développement** : des températures comprises entre 5 et 45°C avec optimum entre 35 et 37°C et de PH de 4.5 à 9 avec un optimum entre 6.4 et 7.5 et une activité de l'eau favorable comprise entre 0.945 et 0.999. (BRISABOIS A. et all, 2009)

**Mode de contamination** : mains, mauvaise d'hygiène du matériel.

### Principe

Étant donné que le nombre de salmonelle est généralement faible dans un produit alimentaire il est nécessaire de procéder à un pré enrichissement (24h) et à un enrichissement en milieu sélectif liquide 24 h à 48 h ensuite l'isolement est réalisé sur milieu HEKTOEN solide 24 h à 48 h.

### Mode opératoire

**Recherche des salmonelles** : elle nécessite une prise d'essai à part.

**1<sup>er</sup> étape : Pré-enrichissement** : Prélever 25 g de lait infantile en poudre dans un flacon stérile contenant 225 ml d'eau peptonée tamponnée, qu'on incube à 37°C pendant 18 h.

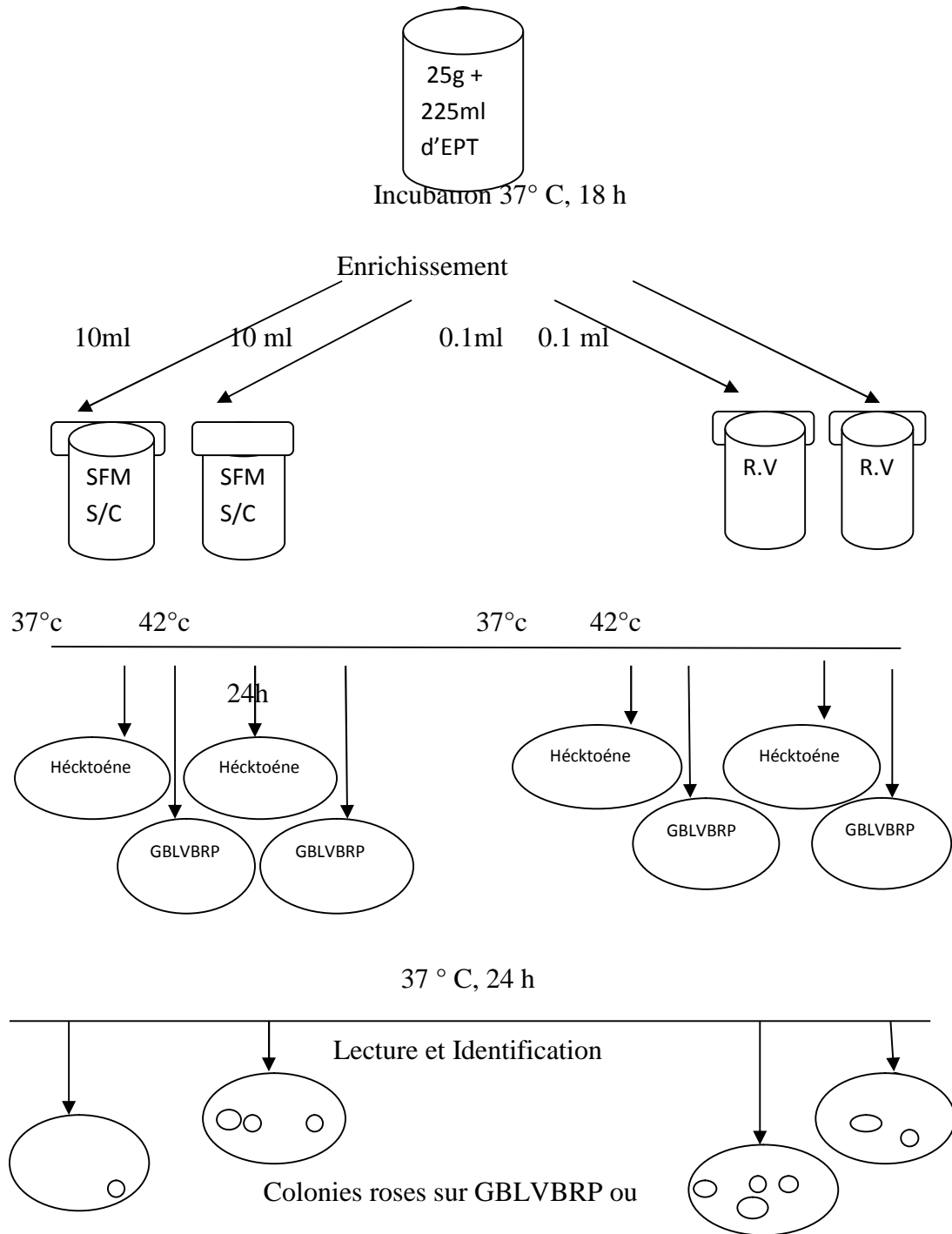
Cette phase vise à permettre aux bactéries lésées (stressées) de récupérer l'ensemble de leurs potentialités.

**2<sup>ème</sup> étape : enrichissement** : il s'effectue sur le milieu sélectif de sélénite de sodium (SFB) réparti à raison de 1 ml de dilution mère par tube puis incubé à 37°C, 24 h.

**3<sup>ème</sup> étape : isolement** : Chaque tube positif présentant un trouble fera l'objet d'un isolement sur le milieu Héctoéne ensemencé par des stries à l'aide d'une pipette pasteur. Les boîtes ainsi ensemencées et incubées à 37°C pendant 24 h. (24)

### La lecture

Les colonies caractéristiquement des salmonelles sont lactose positif, H<sub>2</sub>S<sup>+</sup> de couleur bleu vert avec centre noire.



Colonies grises bleu à centre noir sur Héctoéne Identification biochimique et Antigénique

**Figure 12 :** Diagramme de recherche des salmonelles

## 6. Expression des résultats

Les résultats des analyses microbiologiques, effectuées sur la poudre de lait infantile artificiel est figuré, comme suite :

Le tableau, exprime les résultats microbiologiques de la poudre de lait infantiles artificiels des pédiatres, crèches, maternités.

Sur les 20 prélèvements, seuls les germes totaux sont dénombrés et varient entre 15 et 300 et les levures et moisissures de raison de 10-150 pour certains échantillons et absents pour d'autres (AZZIZI D IPA, 2006). Par contre, nous avons enregistré absence totale d'autres germes à savoir : les Coliformes totaux, les E. coli, les Staphylocoques aureus, les Clostridium sulfito-réducteurs et les salmonelles et ce dans tous les échantillons prélevés.

### 6.1.Germes totaux

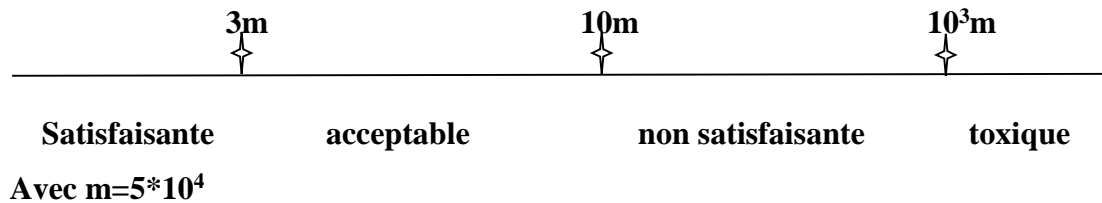


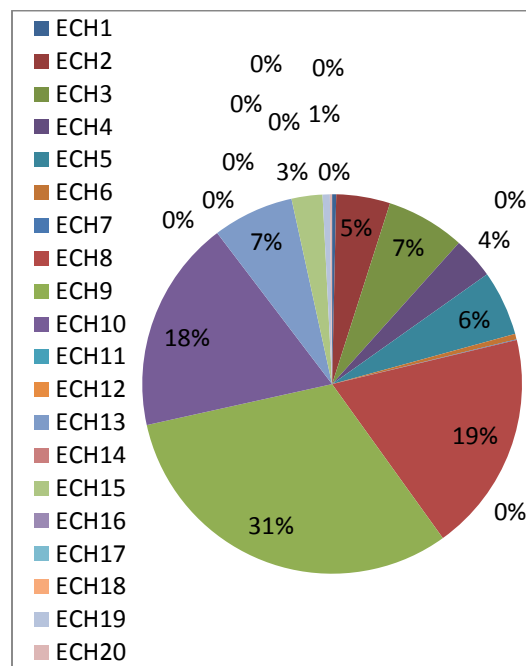
Tableau 1 : Résultats du dénombrement de l'AFTAM :

	10 <sup>-1</sup> :			10 <sup>-2</sup> :			10 <sup>-3</sup> :			Résultat s :	Norme (JORA N°35, 1998) : 5*10 <sup>4</sup>
	24 h	48h	72h	24 h	48h	72h	24 h	48 h	72 h		
1	-	-	-	-	176	218	-	18 6	21 0	2*10 <sup>3</sup>	Satisfaisante
2	-	-	11	-	201	220	-	47	68	2.66*10 <sup>4</sup>	Satisfaisante
3	-	-	-	-	176	218	-	18 6	21 0	3.89*10 <sup>4</sup>	Satisfaisante
4	-	-	>30 0	-	240	251	-	-	-	2.05*10 <sup>4</sup>	Satisfaisante
5	-	-	34	-	-	144	-	-	17 6	3.21*10 <sup>4</sup>	Satisfaisante
6	-	248	248	-	-	-	-	-	-	2.58*10 <sup>3</sup>	Satisfaisante

<b>7</b>	-	-	16	-	-	18	-	-	3	$3.09*10^2$	Satisfaisante
<b>8</b>	-	-	>30 0	-	1	>30 0	-	12 0	12 0	$1.09*10^5$	Acceptable
<b>9</b>	-	>30 0	>30 0	-	>30 0	>30 0	-	20 0	20 0	$1.82*10^5$	Acceptable
<b>10</b>	-	3	>30 0	-	>30 0	>30 0	-	11 6	11 6	$1.05*10^5$	Acceptable
<b>11</b>	-	-	-	-	4	4	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>12</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>13</b>	-	>30 0	>30 0	-	200	280	-	12 0	16 0	$4*10^4$	Satisfaisante
<b>14</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>15</b>	-	-	-	16 0	160	168	-	-	-	$1.53*10^4$	Satisfaisante
<b>16</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>17</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>18</b>	-	-	2	-	-	3	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>19</b>	-	22	22	-	18	18	-	5	6	$3.64*10^3$	Satisfaisante
<b>20</b>	-	60	60	-	55	55	-	40	40	$1.04*10^3$	Satisfaisante

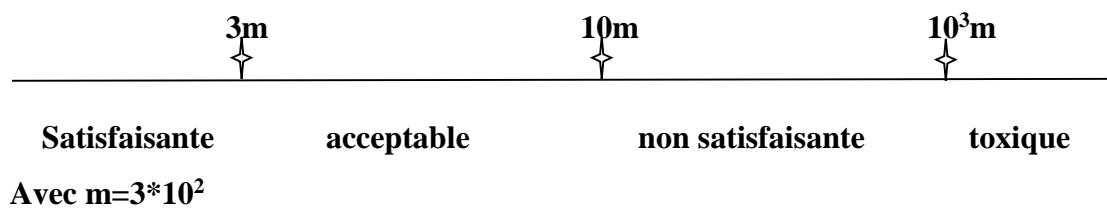
**Tableau :** Récapitulatif des résultats des analyses microbiologiques

Flores microbiennes	Résultats obtenus (UFC)	Interprétations	Normes utilisées
Coliformes totaux	Absence	Satisfaisant	NF V08-051
E. Coli	Absence	Satisfaisant	NF V08-051
Salmonelles	Absence	Satisfaisant	ISO 6579
Staphylococcus aureus	Absence	Satisfaisant	ISO 6888-3
Clostridium sulfito-réducteur	Absence	Satisfaisant	NF V08-061
FTAM	28961,95	Non satisfaisant	NF 08-051
Levures et moisissures	9528,60	Non satisfaisant	ISO 7954



**Figure 23:** Représentation graphique des résultats du dénombrement de l'FTAM

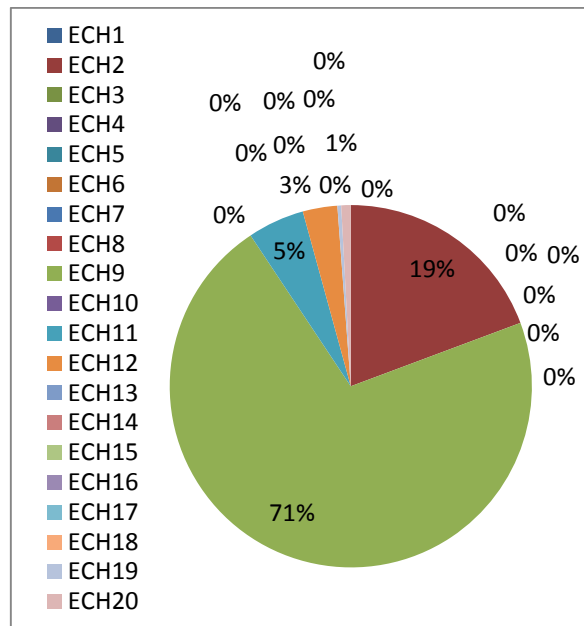
**6.2. Levures et moisissures**



**Tableau 2** : Résultats de la recherche et le dénombrement des moisissures.

	<b>10<sup>-1</sup> :</b>					<b>10<sup>-2</sup> :</b>					<b>10<sup>-3</sup> :</b>					<b>Résultat :</b>	Norme <b>(JORA N°35, 1998) :</b> <b>3*10<sup>2</sup></b>
	<b>1j</b>	<b>2j</b>	<b>3j</b>	<b>4j</b>	<b>5j</b>	<b>1j</b>	<b>2j</b>	<b>3j</b>	<b>4j</b>	<b>5j</b>	<b>1j</b>	<b>2j</b>	<b>3j</b>	<b>4j</b>	<b>5j</b>		
<b>1</b>	-	-	7	12	12	-	-	3	3	3	-	-	-	1	2	-	Satisfaisante
<b>2</b>	-	-	8	15	15	-	-	1	56	56	-	-	5	25	25	3.68 *10 <sup>4</sup>	Non Satisfaisante
<b>3</b>	-	-	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	5	6	6	-	Satisfaisante
<b>4</b>	-	-	4	7	7	-	-	7	7	7	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>5</b>	-	-	1	1	2	-	-	3	3	3	-	-	-	-	1	-	Satisfaisante
<b>6</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	1	-	Satisfaisante
<b>7</b>	-	-	-	-	1	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>8</b>	-	8	8	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3	-	Satisfaisante
<b>9</b>	-	-	2	2	2	-	-	1	2	3	-	-	20	30	30	1.36*10 <sup>5</sup>	Non satisfaisante
<b>10</b>	-	-	-	2	2	-	1	2	2	2	-	-	-	1	1	-	Satisfaisante
<b>11</b>	-	-	200	212	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	9.64*10 <sup>3</sup>	Non satisfaisante
<b>12</b>	-	-	-	80	80	-	-	-	40	49	-	-	-	-	-	5.86*10 <sup>3</sup>	Non satisfaisante
<b>13</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>14</b>	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>15</b>	-	-	4	40	50	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>16</b>	-	-	4	4	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>17</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>18</b>	-	-	5	5	5	-	-	2	2	3	-	-	-	-	-	-	Satisfaisante
<b>19</b>	-	-	15	15	15	-	-	12	12	12	-	-	1	1	1	6.82*10 <sup>2</sup>	Satisfaisante
<b>20</b>	-	-	20	20	20	-	-	15	15	15	-	-	4	4	4	1.59*10 <sup>3</sup>	Acceptable





**Figure 24:** Représentation graphique des résultats de recherche et de dénombrement des moisissures

## 7. l'interprétation des résultats et discussion

### 7.1. Germes totaux

Selon l'arrêté interministériel d'**ISO4833** ne doit pas renfermer plus de 50 000 germes microbiens vivants par millilitre lors de la remise au nouveau né.

La recherche effectuée montre la présence des germes totaux dans les échantillons analysés avec un nombre au dessous de la norme qui est estimée à  $5.10^4$  germes/ml, cela confirme l'efficacité et l'importance de la pasteurisation dans la réduction de la charge microbienne. Sauf les échantillons 8, 9, 10 renferment un nombre supérieure à la norme reflète a une contamination soit par le manipulateur soit par l'air ou le matériels ou soit par la mal conservation des mamans.

### 7.2. Coliformes totaux

L'arrêté interministériel d'**ISO 4831** précise que le lait infantile ne doit pas contenir plus de 1 coliforme par 0.01 lors de la remise aux nourrissons. Les résultats obtenus (l'absence totale des coliformes) sont conformes à la norme indiquée par **JORA n°35, 1998**), cela explique la thermo-sensibilité des coliformes.



**Figure 1** : Photo personnel illustrative relative au résultat de dénombrement des coliformes totaux

### 7.3. Coliformes fécaux, Escherichia coli

Le dénombrement des coliformes dans le lait permet d'évaluer les conditions d'hygiènes qui prévalaient lors de la production ou de la transformation de lait. Le dénombrement d'une forte population de coliformes fécaux est synonyme d'une contamination fécale. (**Vignola, 2002**)

D'après les résultats obtenus et dans tous les échantillons prescrits, aucun Coliforme n'a été dénombré, cela indique que le lait a été préparé dans des conditions hygiéniques satisfaisantes et qui répond à la norme ISO 7251 ; **JORA, (1998)** qui exige l'absence totale des coliformes fécaux.

#### 7.4. Clostridium sulfito-réducteurs

Les Clostridiums sulfito-réducteurs sont utilisés comme témoin d'hygiène dans l'analyse microbiologique d'un certain nombre de produits (**Larpen, 1997**).

Les résultats de la recherche des Clostridiums dans tous les échantillons sont négatifs.

Les formes végétatives sont en général très sensibles à la chaleur, beaucoup sont détruites en 15 secondes à 75°C. Par contre les formes sporulées nécessitent un chauffage supérieur à 85°C pendant 10 minutes (**Bimben et Feutry, 2007**). Donc le traitement thermique a un double rôle, il favorise la destruction des formes végétatives et la germination des spores. Ces résultats pourraient être essentiellement dus à l'efficacité du traitement thermique appliqué (**Lubun, 1998 ; Bimben et Feutry, 2007**).

Cela indique que le infantile répond à la norme ISO; **JORA, (1998)** qui exige un nombre 1/0.1 g.



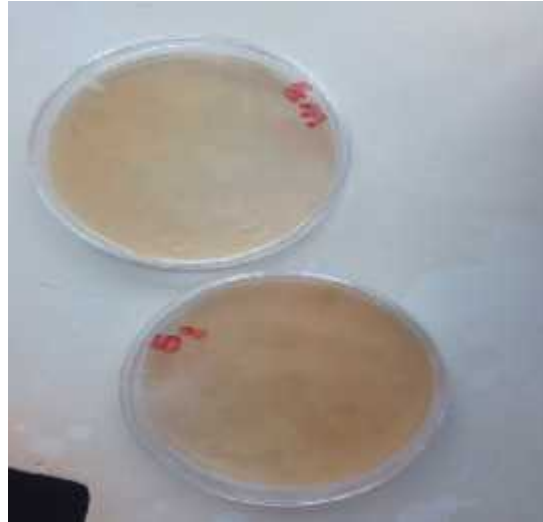
**Figure 2** : Photos personnel illustratives relatives aux résultats de recherche des Clostridium sulfito-réducteur

#### 7.5. Staphylococcus aureus et Salmonelles

Les Staphylocoques présumés pathogènes et les Salmonelles sont totalement absents dans tous les échantillons analysés. La recherche des staphylocoques s'effectue pour l'évaluation de la qualité sanitaire des produits alimentaires, plus particulièrement les produits laitiers, la présence de cette espèce peut provoquer des intoxications alimentaires (**Vignola, 2002**).

L'absence ou la faible présence de la flore pathogène peut trouver son explication dans le fait que la contamination initiale va subir l'effet de l'abaissement du pH et de l'antagonisme des bactéries lactiques (Alais, 1984).

La recherche des Staphylocoques et salmonelles dans le lait infantile étudié a révélé leur absence totale dans tous les échantillons analysés (résultat conforme aux normes d'ISO6888-3 et d'ISO6579 ; JORA 1998), cela est dû au passage du produit à la pasteurisation qui est très efficace et qui a permis leurs destruction totale.



**Figure 3 :** Photo personnelle illustrative relative aux résultats de recherche et de dénombrement des Staphylococcus



**Figure 4 :** Photos illustratives relatives aux résultats de recherche des salmonelles

#### **X.6. Levures et moisissures**

Leur présence avec un nombre supérieur à la norme  $2 \times 10^3$  indiqué par le **JORA 1998**) est reflète aux mauvaises conditions de stockage, de transport et d'hygiène. En effet, l'humidité excessive, les températures élevées sont autant de facteurs facilitant la croissance fongique et la toxinogènes.

Alors qu'on basant sur ces données en peut dire que notre produits ont une qualité non satisfaisante et ils sont mal conservés.

En Algérie, plusieurs travaux ont étudié les propriétés microbiologiques et physicochimiques du lait et produits laitiers. Aucune étude jusqu'à cette date n'a été effectuée pour la recherche et l'évaluation du niveau d'AFM1 dans le lait.

Les mesures réglementaires en vigueur dans l'Union européenne sont des plus sévères au monde. Des plans de surveillance et de contrôle rigoureux permettent de maîtriser le risque à un niveau très faible (AFSSA, 2006).

Pour le lait reconstitué, bien qu'il soit produit majoritairement à partir du lait en poudre importé, aucune contamination n'a été détectée (à l'exception de quelques traces). L'aflatoxine M1 est insensible au processus de reconstitution, notamment la pasteurisation. Le passage de l'AFM1 dans le lait constitué pour l'animal un moyen de se protéger contre les toxines (AFSSA, 2009).

Plusieurs travaux ont démontré que l'AFM1 a une affinité à la caséine ; protéine principale du lait, et que par conséquent, elle est plus concentrée dans le fromage que dans le lait utilisé pour la production (ANFOSSI et al., 2011 ; Manetta et al., 2009 ; Prandini et al., 2009 ; Kamkar et al., 2018).

Bien que, les bovins constituent un filtre très efficace contre l'AFM1, en ce qui concerne le lait, puisque son taux de transfert est faible, et que cette voie d'excretion reste très minoritaire, la présence de toxines fongiques dans le lait représente un risque pour la santé humaine (FANGEAT, 2008). Le taux de contamination du lait cru par l'AFM1 dans la présente étude est inférieur à celui rapporté dans les régions voisines, avec un climat similaire. Au Maroc, El Marnissi et al. (2012) ont trouvé que 27% des échantillons analysés de lait cru été contaminés, dont 08% dépassent la norme européenne. De même, l'incidence de contamination par l'AFM1 en Libye était de 71% (El Gerbi et al., 2004). Une autre étude menée en Egypte par Ghareeb et al (2013), montre que 45 échantillons sur 24 échantillons analysés de lait cru de vache ont été contaminés (incidence de 98%), avec des taux l'AFM1 allant de 02 ng/l à 110 ng/l.

Dans les enquêtes menées en Europe, où le contrôle est plus stricte, l'incidence de contamination par l'AFM1 est beaucoup plus faible (~01%) (Boudra et al., 2007 ; VELASCO et al., 2003).

Dans une récente étude réalisée en Italie, l'incidence est de 2.2% dont 0.5% des échantillons ont été trouvés non conformes à la limite réglementaire de l'Union européenne (BELLIO et al. 2016). Certains auteurs ont observé une incidence de contamination par l'AFM1 plus élevée dans le lait reconstitué (89%) dont 7,4% dépasse le seuil fixé par la réglementation européenne (Zinedine et al., 2007).

En Iran, plusieurs études ont évalué le niveau de l'AFM1 dans le lait reconstitué (BEHFAR et al., 2012 ; Fallah, 2010 ; Sani et al., 2010 ; Tajkarimi, 2007) ; le taux de contamination varie de 0.45ng/l à 528,5ng/l.

En Syrie, Ghanam et Orfi (2009), ont rapporté que le lait pasteurisé est contaminé avec des taux allant de 8 à 765ng/kg. Il est à noter que le lait pasteurisé en Syrie est un lait cru, collecté à partir de plusieurs fermes. Apr contre, au Liban, où le lait pasteurisé est reconstitué à partir de la poudre importée des pays arabes ou européens, 68% des échantillons sont contaminés avec des taux variés de 3,27 à 84,4ng/l (Assem et al., 2011).

En revanche, en Italie la contamination du lait pasteurisé par l'AFM1 est de 1.6% dont 0,5% dépasse la norme recommandée par la communauté européenne (Nachtmann et al., 2007).

Dans notre étude, l'AFM1 a été détectée dans 29% des échantillons de lait e poudre. Selon Pfohl-Leszkowicz (1999). L'AFM1 se retrouve dans la poudre du lait avec un facteur de concentration de 10, après l'élimination de l'eau, lors du procédé de déshydratation. Ainsi, un lait liquide contaminé à 0,05µg d'AFM1/l donnera un lait en poudre contaminé à 0,5µg/kg.

Contrairement à ce qu'on a trouvé dans notre étude, en Egypte Ghareeb et al.(2013), ont montré que 60% des échantillons analysés du lait en poudre étaient contaminés. Le taux d'AFM1 varie de 0,5 à 4ng/kg. En Syrie, Ghaneem et Orfi (2009), ont rapporté qu'un seul échantillon de lait en poudre sur 08 échantillons testés a montré un faible taux d'AFM1 (12ng/kg). Au Liban, 35,7% d'échantillons de lait en poudre importé, étaient contaminés par l'AFM1 à des taux variant entre 9,18 à 16,5ng/l (Assam et al., 2011).

Au Brésil, Shundo et al.(2009) ont trouvé que 41,5% des échantillons analysés de lait en poudre sont supérieurs à la norme.

Dans notre travail, un seul échantillon positif qui dépasse la norme (103ng/l), ce qui est en parfait accord avec nos résultats.

Dans les pays industrialisés des normes strictes sur les produits importés ont été adoptées. En raison de ces mesures, les produits plus contaminés risquent d'être orientés vers les marchés où la législation est moins contraignante (Blanc, 2001).

**Discussion générale :**

Donc l'absence des microorganismes pathogènes : salmonelles, Clostridium sulfite réducteur, les coliformes et l'Escherichia Coli nous renseigne sur la propreté de notre produit et sont de qualité microbiologique satisfaisante, suivant les normes fixées par le **J.O.R.A, 1998 n°35**, ceci confirme le respect des règles d'hygiène et de production, de conditionnement et d'entreposage.

Les produits analysés ne présentent aucun risque pour la santé du consommateur car ils ne contiennent aucune bactérie pathogène responsable d'intoxication.

Enfin, on peut dire que la combinaison d'un traitement thermique efficace, d'une bonne qualité microbiologique de matière première et d'une préparation dans des bonnes conditions opératoires et hygiéniques (absence d'une contamination fécale) offre une meilleure qualité microbiologique aux produits.

Alors que la présence des germes aérobies mésophiles (échantillon 8, 9, 10) et les levures et moisissures (échantillon 2, 9, 11, 12, 20) qui renferme un nombre supérieure à la norme reflète une contamination due soit au manipulateur, l'air, le matériel, ou par la mauvaise conservation effectuée par les mamans.

## Conclusion

Le lait est un produit indispensable à l'alimentation des nourrissons, mais aussi une source potentielle de pathogènes d'origine microbiologique, notamment de moisissures (*aspergillus flavus*).

La consommation du lait contaminé par les mycotoxines, notamment l'AFM1, pourrait mettre en danger la santé des nourrissons, et même provoquer des dégâts économiques graves.

L'AFB1, produite par des espèces appartenant au genre *aspergillus*, et leur métabolite AFM1 issu de sa transformation chez les ruminants, sont les plus toxiques pour l'homme et les animaux.

La sécurité alimentaire constitue un défi permanent pour la filière laitière, car le lait est une matière première fragile qui, du fait de sa richesse alimentaire, est sensible à la contamination microbienne (Lactalis lexique du lait).

La surveillance de la qualité hygiénique du lait reste indispensable pour préserver la santé des consommateurs.

L'évaluation de la qualité microbiologique de la poudre de lait infantile a abouti aux résultats suivants :

Absence totale de la flore pathogène ;

Présence de la flore aérobie mésophile totale à 15% et 25% des levures et moisissures dans nos échantillons.

Ces résultats montrent une contamination du lait par les FAMT et les levures et moisissures, ce qui démontre une contamination du conditionnement et une mauvaise conservation dans l'entrepôt.

En guise de recommandations, certaines mesures sont indispensables à entreprendre, à savoir :

Les mesures de prévention du danger à la source sont les seules envisageables car la détoxification des aliments contaminés par les aflatoxines est très limitée. On citera :

- Le respect des bonnes pratiques de culture (éviter les blessures, les attaques d'insectes, etc.) est nécessaire pour éviter l'introduction du danger.



- L'application des bonnes pratiques lors du stockage des céréales, notamment le maintien au sec des produits, est nécessaire pour que les teneurs initiales en aflatoxines n'évoluent pas.
- L'utilisation des procédés de détoxification des tourteaux « à risque » destinés à l'alimentation animale.
- Le respect de la réglementation en vigueur, fixant les teneurs maximales en aflatoxines à ne pas dépasser dans les aliments destinés à l'alimentation humaine surtout les nourrissons. Il s'agit notamment de :
  - Respect des bonnes pratiques de stockage (voir recommandations pour la production primaire du lait infantile).
  - Respect des bonnes pratiques d'hygiène lors de la conservation et la fabrication du lait infantile.
- Elaborer un plan de surveillance et de contrôle orienté, en ciblant par exemple une région suivie sur plusieurs années, permettra de surveiller l'évolution des teneurs en aflatoxines dans les matières premières végétales en fonction des conditions climatiques algériennes.
- Organiser des formations spécifiques au profit des éleveurs en ce qui concerne les bonnes pratiques de culture et de stockage (l'alimentation destinée au bétail doit se conserver dans de bonnes conditions et dans des locaux adéquats).
- D'autres recommandations destinées, quant à elles, aux consommateurs sont nécessaires, comme :
  - Stocker les denrées alimentaires à risque comme le lait infantile dans des endroits secs avant et surtout après ouverture des boîtes de lait.
  - Sensibiliser les consommateurs et les éleveurs des risques de contamination par les AFS, à l'instar des actions menées par l'association PACA (partenariat pour la lutte contre les aflatoxines en Afrique).

Ce système sera utilisé pour la sensibilisation du public, les activités de communication sur la prévalence et les risques de l'aflatoxine, la promotion du commerce régional et intra-régional, la production d'information pour guider les interventions et pour développer des systèmes d'alertes précoce dans le cas d'épidémies d'aflatoxines.

Enfin, nous appelons à une réflexion sérieuse et urgente sur l'élaboration de normes algériennes relatives à la contamination du lait infantile par les mycotoxines, en tenant compte de notre régime alimentaire.

## Références bibliographiques

- ❖ ABDELLAH ZINEDINE. détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnels. thèse doctorat. FES : Université SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH, 2004, p163.
- ❖ AFSSA. 2006. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique”. AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments). <https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP-Ra-Mycotoxines.pdf>
- ❖ AFSSA. 2009. Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique. <https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP-Ra-Mycotoxines2009.pdf>.
- ❖ ALAIS C .et LINDEN G.(1984).lait et produit laitiers : Abrégé de biochimie alimentaire. Edition Masson (4ème édition).162p.
- ❖ ALAIS C. *science du lait : principe et technique laitiers. 4<sup>ème</sup> édition. PARIS : Edition SEPAIC. 1984. 814p .*
- ❖ ALAOUI Amal, CLAES Nathalie, DELHAXHE Marylène. *ALIMENTATION LACTÉE DES NOURRISSONS ET ENFANTS EN BAS ÂGE*, ONE, MAI 2015
- ❖ ALLAS H. *DIETETIQUE INFANTILE : 1<sup>er</sup> PARTIE : Besoins nutritionnels/ Valeurs nutritionnelles des aliments*. CONSTANTINE : faculté de médecine de Constantine : 5em année module de pédiatrie.
- ❖ AMARIGLIO S., *Contrôle de la qualité des produits laitiers : Analyse physique et chimique. 3<sup>ème</sup> ed- PARIS : ITSV. 1986.1030p*
- ❖ ANDELOT P. *Le contrôle laitier. Facteur d’amélioration technique. Rev Lait from. 1983. 416 : 15-16.*
- ❖ Anfossi L., Baggiani C., Giovannoli C., Giraudi G. 2011. Occurrence of Aflatoxin M1 in Dairy Products, Aflatoxins - Detection, Measurement and Control, Dr Irineo Torres-Pacheco (Ed.), ISBN : 978-953-307-711-6, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/aflatoxins-detectionmeasurement-and-control/occurrence-of-aflatoxin-m1-in-dairy-products>
- ❖ ANSES agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail. *Aspergillus flavus et autres moisissures productrices d’aflatoxines*. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments. Avril 2012
- ❖ AUXPUER, cours lait et farine infantile.2014.
- ❖ BEAUDRY Micheline, CHIASSON Sylvie et LAUZIÈRE Julie. *La biologie de l’allaitement*. Presse de l’Université du Québec. CANADA. 2007.
- ❖ BEDOURET Bernard. *Quelle est la composition du lait infantile ?*. Ed. Leduc.S. l’ouvrage SOS parents debutants. Disponible sur : [magicmaman.com/quele-est-la-composition-du-lait-infantile,2006682,2323172.asp](http://magicmaman.com/quele-est-la-composition-du-lait-infantile,2006682,2323172.asp)

- ❖ Behfar A., Khorasgani Z. N., Alemzadeh Z., Goudarzi M., Ebrahimi R., Tarhani N. 2012. Determination of Aflatoxin M1 Levels in Produced Pasteurized Milk in Ahvaz City by Using HPLC. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.*, 7(2):80-84.during the summer and winter season in Hamadan, Iran. *African Journal of Microbiology*
- ❖ BEL HOUSSINE Fatim Zahra. *ASPECTS RADIOLOGIQUES DE L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE*. Mémoire d'obtention du diplôme de spécialité en Médecine ;Option : Radiologie. FES : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Juin 2013, p 124.
- ❖ Bellio A., Bianchi D. M., Gramaglia M., Loria A., Nucera D., Gallina S., Gili M., Decastelli L. 2016. Aflatoxin M1 in Cow's Milk: Method Validation for Milk Sampled in Northern Italy. *Toxins.*, 8, 57; doi:10.3390/toxins8030057.
- ❖ BENALLEGUE Hadjer ,debbeche Souhila Nour El Houda,etude de la qualité phisico chimique et microbiologique de 3 marques de lait UHT, CANDIA, OBEI et HODNA).mémoire master. Canstantine :Université des frères Mentouri,2015,p49.
- ❖ BIMBEN E.et FEUTRY F.(2007).quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage.Ed.INRA de recherche en Technologie et Analyses laitières et CDEO.Paris.60p.
- ❖ Blanc M. 2001. Nouvelles exigences en matière de sécurité sanitaire dans le commerce international des produits agricoles et agroalimentaires : incidence pour les pays d'Afrique exportateurs de produits oléagineux. *Ol. Corps gras Lipides.*, 8 : 246-250.
- ❖ BLOQUEL R., VEILLET-PONCET L. *Évolution et détermination de la flore bactérienne d'un lait cru réfrigéré pauci microbien en fonction du temps*. LE LAIT.N° 598 ; 1980.
- ❖ BORDJAH AKLI Mme BEDOUI NORA, *Analyse Physico-Chimique Et Microbiologique Du Lait UHT 'Demi-Ecreme*,2011
- ❖ BOUCHAKEUR ERRAHMANI KHadidja.DJEGHLALA Soumia, etude comparative entre 03 types de lait de vache (lait entier, lait demi-écrémé et lait écrémé) pasteurisé.mémoire master.khmis miliana :univercité DJELLALI BOUNAAMA, 2015, p72.
- ❖ BOUDIET JF ; LUQUET FM. *Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale*. N° 21, édition APRIA, Paris. 1981.
- ❖ Boudra H. 2009. Mycotoxins : an insidiously menacing factor for the quality of forages andthe performances of the ruminants. *Fourrages.*, 199 : 265-280.
- ❖ BRISABOIS A. et all. *Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe*. *Rev. Sci.tech.off.int. Epiz*, 2009. 16(1)P 452-471
- ❖ BRISABOIS.A , LAFARGE.V , BROUILLAUD.A, BUYSER M-L, COLLETTE C. , GARIN-BASTUJI B. M.-F. T H O R E L. *Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe*. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16, 452-471.

- ❖ BROUARD C., ESPIE1 E., VAILLANT V., DE VALK H. *Epidémie de salmonellose à Salmonella enterica sérotype Agona chez des nourrissons liée à la consommation de poudres de lait infantile*, France, janvier-mai 2005.
- ❖ BRUNSWICK, *LES FAITS SUR L'EAU POTABLE Bactéries coliformes – Coliformes Totaux et E.Coli*. Adapté à partir des fiches de renseignements de la Nouvelle-Écosse intitulées The Drop on Water.
- ❖ CHEVALIER B. *Abrégé de diététique infantile*. PARIS : Masson, 1996, 260p.
- ❖ CHOUITI Fadia. *Recherche et caractérisation des bacilles thermophiles dans le lait pasteurisé de vache et le lait recombiné*. Mémoire de master Biologie Moléculaire et Cellulaire. TLEMCEM : UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID. Juillet 2013.p36.
- ❖ CHOURAQUI Jean-Pierre. *Les laits infantiles*. Gastroentérologie, Hépatologie et Nutrition Pédiatriques Département de Pédiatrie CHU de Grenoble
- ❖ CIPC Lait Commission interprofessionnelle des pratiques contractuelles. *Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait*. N° 2011-02. 2011.
- ❖ COMACLE Pauline. *Apport de la PCR et du séquençage au diagnostic de sinusite fongique : à propos de 42 cas diagnostiqués au laboratoire de Parasitologie Et Mycologie de CHU de Rennes*. Thèse pour le diplôme d'état docteur en Pharmacie. NANTES : Université de Nantes. Décembre 2013, p 83.
- ❖ COOKE(W. B.) and BRAZIS (A. R.) (1968). - Occurrence of molds and yeasts in dairy products. *Mycopathol. Mycol. Appl.*, t. XXXV, 281-289
- ❖ CUQ J.L. *Microbiologie alimentaire*. Edition science et techniques des longuedoc. Université de Montpellier. 2007. P 137.
- ❖ Détermination quantitative et qualitative des aflatoxines de l'arachide par des tests biochimiques et immunologiques, Etude des aflatoxines au Burkina Faso. Thèse de doctorat de science biologique appliquée.
- ❖ Direction générale de la Santé. *Retrait et rappel de laits infantiles 1er âge en raison d'une possible contamination par Salmonella agona*. Paris, le 2 décembre 2017
- ❖ Dr.SAAD Amina. *Alimentation du nouveau-né et du nourrisson de 0 à 6 mois*. Pédiatre, AGADIR, mai 2018.
- ❖ El Marnissi B., Belkhou R., Morgavi D-P., Bennani L., Boudra H. 2012. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk collected from traditional dairies in Morocco. *Food and Chemical Toxicology.*, 50 : 2819–2821.
- ❖ Elgerbi A-M., Aidoo K-E., Candlish A-A., Tester R-F. 2004. Occurrence of aflatoxin M1
- ❖ Fallah A-A. 2010. Aflatoxin M1 contamination in dairy products marketed in Iran during *Food Control.*, 19 : 1033–1036.
- ❖ Fangeat L. 2008. Les mycotoxines chez les bovins. Thèse Présentée à l'Université Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie), pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire.

- ❖ FAO. *Le lait et les produits laitiers dans les nutrition humaines*. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28. 1995.
- ❖ FARDET Anthony. *Traitements technologiques, digestibilité et effet matrice des produits laitiers*. INRA - Unité de Nutrition Humaine. Clermont-Ferrand, France
- ❖ FOLLAIN Cécile. *Les laits infantiles : analyse comparative et rôle du pharmacien*. Thèse de DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE , ROUEN Université de ROUEN UFR de médecine et de pharmacie, 2015, 114p.
- ❖ FOTOU K. ; TZORZ A. ; VOIDAROU CH. Et all. *Isolation of microbial pathogens subclinical mastitids from raw sheep's milk of Epuris. GREECE and their role in its hygiene. Anaerobe*. 2011 . p17,315, 319
- ❖ FREMY J.M.; CARIOU T.; TERRIER C., *Évaluation de la contamination en aflatoxine M1 dans le lait en poudre par HPLC en phase inversée [chromatographie liquide haute performance]*. Annales des Falsifications, de l'Expertise Chimique et Toxicologique, 1981 , Fiche agris.fao.org [archive]
- ❖ GAUTHIER Alban. *Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé*. Thèse pour l'obtention du Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie. BORDEAUX : Université De Bordeaux U.F.R. Des Sciences Pharmaceutiques. Avril 2016,p 120.
- ❖ Ghanem I., Orfi M. 2009. Aflatoxin M1 in raw, pasteurized and powdered milk available in
- ❖ Ghareeb K., Elmalt L-M., Awad W-A., Böhm J. 2013. Prevalence OF Aflatoxin M1 in
- ❖ Ghareeb K., Elmalt L-M., Awad W-A., Böhm J. 2013. Prevalence OF Aflatoxin M1 in Raw Milk Produced in Tropical State (Qena, Egypt) and Imported Milk Powder., *J. Vet. Anim.HSci.*, 3 (1-2) : 1-4.
- ❖ Ghiasian S-A., Maghsood A-H. 2011. Occurrence of aflatoxigenic fungi in cow feeds *HSci.*, 3 (1-2) : 1-4. *International Journal of Food Microbiology.*, 116 (3) : 346–349. in randomly selected North African milk and cheese samples. *Food Addit. Contam.*, 21 (6) : 592-597.
- ❖ GOURSAUD J. *composition et propriété physico-chimique*. Dans lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Edition Tec et Doc : Lavoisier, PARIS. 1985.
- ❖ Gouvernement du Québec. *LIGNES DIRECTRICES ET NORMES POUR L'INTERPRETATION DES RESULTATS ANALYTIQUES EN MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE*. Bibliothèque nationale du Canada , 2009, ISBN 978-2-550-56811-7
- ❖ GUIRAUD J. *Microbiologie alimentaire*. Edition DUNOD. PARIS. 2003.pp 136-139.
- ❖ Iso 4831, microbiologie des aliments-Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes-technique du nombre le plus probable.
- ❖ Iso 6579, microbiologie des aliments-méthode horizontales pour la recherche des salmonella

- ❖ Iso 6888-3, (Avril, 2009) Norme française de la recherche et le dénombrement des coliformes thermotolérante par comptage des colonies obtenues à 44°C.
- ❖ Iso 7251, microbiologie des aliments-Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes-technique du nombre le plus probable.
- ❖ ISPED . *La composition des différents laits de mammifères, boissons végétales et préparations pour nourrissons*. BORDEAUX : Université Bordeaux 2, juin 2010
- ❖ JORA-N°35.1998.arrêté interministériel de 23 juillet 1994, relatif aux spécifications microbiologiques de certains denrées alimentaires.
- ❖ Kamkar A., Karim G., Aliabadi F-S., Khaksar R. 2008. Fate of aflatoxin M1 in Iranianwhite cheese processing. *Food and Chemical Toxicology.*, 46 : 2236–2238.
- ❖ KRIOU Hassiba, KASRIA Oum Elkheir. *Influence de la température de stockage sur la qualité du lait de vache (Lait entier, partiellement écrémé et écrémé) pasteurisé conditionné et le lait reconstitué conditionné*. Thèse d’obtention de Master Sciences et Techniques des Productions Animales. ALGERIE : Université Djilali Bounaama KHemis Meliana, Juin 2015, p 68.
- ❖ LABARTHE François, Les laits infantiles..., Université FRANÇOIS RABELAIS FMC Pédiatrie – Tours – Espace Malraux - jeudi 30 mai 2013
- ❖ LADJAL Soumia. *Activité antimicrobienne des métabolites secondaires des champignons endophytes isolé du pain d’Alep (Pinus halpennsis mill.) De la région de M’sila*. Mémoire d’obtention le diplôme de Magister en biologie végétale. SETIF : Université FERHAT ABBAS. Janvier 2012, p76.
- ❖ LAITHIER Cecile. *Vers une meilleure connaissance des écosystèmes microbiens du lait et de leurs facteurs de variation*, Microflore du lait cru. Ouvrage collectif. Conseil National des Appellations d’Origine Laitières. Juillet 2011
- ❖ LARPENT J.P. (1997).Microbiologie alimentaire.Techniques de laboratoire.Paris.Ed.Technique et documentation.273P.
- ❖ LEYRAL G., VIERLING E.(2001).microbiologie et toxicologie des aliments.Hygiène et sécurité alimentaire.3éme édition : Tec et Doc, Lavoisier.Paris.P :62.
- ❖ LUBUN D.(1998).lait de contamination et les produits laitieres dans la nutrition humaine.In.collection FAO.Luppien.Pp42.
- ❖ LUQUET F.M. *lait et produits laitiers- vache, brebis, chèvre*. Tom 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Tach & Doc ; COH.STAA, Lavoisier, PARIS. 1981
- ❖ Mahdavi H. 2007. Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk in five regions in Iran.
- ❖ Mahdavi H. 2007. Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk in five regions in Iran.*International Journal of Food Microbiology.*, 116 (3) : 346–349.
- ❖ Mahdavi H. 2008. Aflatoxin M1 contamination in winter and summer milk in 14 states in Iran.
- ❖ Manetta A-C., Giammarco M., Giuseppe L-D., Fusario I., Gramenzi A., Formigoni A.,

- ❖ MARTIN A.. *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. Editions Tec & Doc, 2001.
- ❖ MATHIEU J. *Ecole nationale des industries du lait et des viandes de la Roch-sur-Forom. Initiation à la physico-chimie du lait*. Ed. Tec & Doc : Lavoisier, PARIS. 2010 1998.pp12
- ❖ MOREAU Claude. *Les mycotoxines dans les produits laitiers*. Le Lait, INRA Editions, 1976, 56 (555\_556), pp.286-303. <hal-00928727
- ❖ MOULLEC, Molf. Les sources de contaminations microbiologique du lait de Bovins de la production à la contamination dans les pays du sud. Mémoire d'étude supérieur spécialisée production animales en régions chaudes :université Montpellier II UFR sciences Place Eugène Bataillon, 2002.P :39.
- ❖ Mr KABIR AHMED. *Contraintes de la production laitière en ALGERIE et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière ( constats et perspectives)*. These en vue d'obtention du diplôme de doctorat en Microbiologie. ORAN : Université AHMED BEN BELLA, 2015 , p 153.
- ❖ NESTLE. *Charte d'engagement volontaire de progrès nutritionnel proposé pour les Produit des diversifications Nutrition Infantile Nestlé*. Version publique.
- ❖ NF V 08-601 microbiologie des aliments-Méthode horizontale pour le dénombrement d'Escherichia Coli-technique du nombre le plus probable.
- ❖ Norme NF V08-051, dénombrement des coliformes par comptage des colonies, méthode de routine.
- ❖ Norme NF08-051 relative au dénombrement des micro-organismes-méthode par comptage des colonies obtenues à 30° c
- ❖ Norme XP V08-059 relative au dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies à 25°c.
- ❖ occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology.*, 47 :
- ❖ of the occurrence of aflatoxin M-1 in raw cow's milk. *Food Additives and Contaminants.*, 20 (3): 276–280.
- ❖ Organisation Internationale de Normalisation, Geneva; Federation Internationale de Laiterie, Brussels. *Lait et lait en poudre. Détermination de la teneur en aflatoxine M1. Purification par chromatographie immunoaffinité et détermination par chromatographie en phase liquide a haute performanc*. 2007
- ❖ Pr Jean-Denis Bailly, Equipe Biosynthèse et toxicité des mycotoxines UMR 1331 Toxalim Hygiène des aliments Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Unité Cancer Environnement  
Source : [www.cancer-environnement.fr](http://www.cancer-environnement.fr)
- ❖ Prandini A., Tansini G., Sigolo S., Filippi L., Laporta M., Piva G. 2009. Review on the



- ❖ Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. *Int. J. Food. Microbiol.*, 114 (1) :Raw Milk Produced in Tropical State (Qena, Egypt) and Imported Milk Powder., *J. Vet. Anim.* production from naturally contaminated milk. *Food Chemistry*. 113: 595-599.
- ❖ REDOUANE SALAH Sara 2016 Caractérisation mycologique des fourrages pour ruminants et recherche d'Aflatoxine M1 dans le lait cru de vache : étude comparative aux laits pasteurisé et lyophilisé Doctorat *en sciences* en biologie Toxicologie Université des Frères Mentouri-Constantine Département de microbiologie
- ❖ ROFES Camille. *INTERETS DU MICROBIOTE INTESTINAL ET PROBIOTIQUES*. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en PHARMACIE. Toulouse : UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES, 2014, p 77.
- ❖ Shareef A-M. 2010. Molds and mycotoxins in poultry feeds from farms of potentialMycotoxicosis. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences.*, 24 (1) : 17-25.the Syrian market. *Food Control.*, 20 : 603-605.Thèse de doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. winter and summer. *Food Control.*, 21 : 1478-1481.
- ❖ SIMARD Karine. *CONSEILS SUR LE CHOIX ET L'UTILISATION DES SUBSTITUTS DU LAIT MATERNEL*. Pharmacie. NANCY : UNIVERSITE Henri Poincaré, 27 juin 2001,155p.
- ❖ SOUTI Imane et KAROUAZ Fatima. *Evaluation de la qualité bactériologie des pâtisseries commercialisées dans la wilaya de Constantine en 2013-2014*.Mémoire présenté en vue de l'obtention de Diplôme de Master science de vie. Constantine : Université Constantine 1, 2014,p 52.
- ❖ Syndicat Française des Aliments de l'Enfance. *Aliments de l'enfance de la naissance à trois ans*. GT LIPIDE. 28 novembre 2008.
- ❖ Tajkarimi M., Aliabadi-Sh F., Salah Nejad M., Pursoltani H., Motallebi A-A., Mahdavi H. 2008. Aflatoxin M1 contamination in winter and summer milk in 14 states in Iran. *Food Control.*, 19 : 1033–1036.
- ❖ Tajkarimi M., Aliabadi-Sh F., Salah-Nejad M., Pursoltani H., Motallebi A-A.,
- ❖ TOURETTE
- ❖ TOURETTE Isabelle. *FILIERES LAITIERES EN AFRIQUE ET POINTS CRITIQUE POUR LA MAÎTRISE DES DANGERS SANITAIRES DES LAITS ET PRODUITS LAITIERS*. Diplôme d'études supérieures spécialisées Productions animales en région chaudes. MONTPELIER : Université Montpellier II . 2002,p 30.
- ❖ Velasco M-L-R., Delso M-M-C., Escudero D-O. 2003. ELISA and HPLC determination

- ❖ VIERLING E. *Alliments et besoin filières et produits*. 3<sup>ème</sup> édition Biosciences et Technique. PARIS. 2008. Pp :15-16
- ❖ VIGNOLA C. *Science et Technologie du lait Transformation du lait*. Edition presse internationale polytechnique, CANADA. 2002. pp375.
- ❖ Vignola G., Lambertini L. 2009. Distribution of aflatoxin M1 during Grana Padano cheese
- ❖ Zinedine A. 2004. Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnels. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah.
- ❖ Zinedine A., González-Osnaya L., Soriano J-M., Moltó J-C., Idrissi L., Mañes J. 2007. Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. *Int. J. Food. Microbiol.*, 114 (1)

## Annexes

### Annexe 1

#### 1. Gélose standard pour dénombrement plat count agar (PCA) :

-hydrolysate tryptique de caséine.....	5g.
-Extrait de levure.....	2,5g.
-Glucose.....	1g.
-agar.....	9g.
-Eau distillée.....	1000ml.

PH7

#### 2. gélose Hécktoéne

-peptose peptone.....	12g.
-Extrait de levure.....	3g.
-Chlorure de sodium.....	5g.
-thiosulfate de sodium.....	5g.
-sels biliaires.....	9g.
-Citrate de fer ammoniacal.....	1,5g.
-Salicine.....	2g.
-Lactose.....	12g.
-Saccharose.....	12g.
-Fuchsine acide.....	0,1g.
-Bleu de bromothymol.....	0,065g.
-Agar.....	14g.
-Eau distillée.....	1000ml.

PH7

#### 3. Gélose glucosée à l'oxytétracycline (base pour milieu O.G.A) oxytétracycline dextrose agar

-Extrait de levure.....	5g.
-Glucose.....	20g.
-Agar.....	16g.
-Eau distillée.....	1000ml.

PH 6,9

#### 4. Milieu Baird Parker

-Hydrolysate tryptique de caséine.....	2g.
--	-----

-Extrait de viande de bœuf.....	5g.
-Extrait de levure.....	1g.
-Pyruvate de sodium.....	10g.
-Chlorure lithium.....	5g.
-Glycocolle.....	12g.
-Agar.....	20g.
-Eau distillée.....	1000ml.

PH 6,8

### 5. Milieu sélectif solide : gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL)

-Digestat enzymatique de tissus animaux.....	7g.
-Extrait de levure.....	3g.
-Lactose (C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> , H <sub>2</sub> O).....	10g.
-Chlorure de sodium.....	5g.
-Sels biliaires.....	1,5g.
-Rouge neutre.....	0,03g.
-Cristal violet.....	0,002g.
-Agar-agar.....	12g à 18g.
-Eau.....	1000ml

PH 7,4

### 6. Gélose viande- foie

-Base viande foie.....	30g.
-Glucose.....	2g.
-Amidon.....	2g.
-Agar.....	11g.
-Eau distillée.....	1000ml.

PH 7 à 7,8

### Les solutions

#### 1. Solution de Tellurite de potassium :

Tellurite de potassium .....	1g.
Eau distillée.....	100ml.

#### 2. Solution de D-Cycloserine

D-Cycloserine.....	g.
--------------------	----

Eau distillée.....100ml.

### 3. Solution d'Oxytétracycline :

Oxytétracycline.....0,1g.

Eau distillée.....100ml.

### 4. Eau peptone-sel :

Digestat enzymatique de caséine.....1g.

Chlorure de sodium (Na Cl).....8,5g.

Eau.....1000ml.

## Annexe 2

### Fiche des additifs

Germe :	Milieu de base+additif :	Quantité en ml :
Levures et moisissures :	Gélose OGA	100ml
	+ oxytétracycline	+ 10ml
Staphylococcus aureus :	Gélose Baird Parkeur (BP)	90ml
	+ Emulsion de jaune d'œuf	+ 5ml
	+ Tellurite de potassium	+ 1ml
Clostridium sulfito-réducteurs :	TSC	100ml
	+ D-Cycloserine	+ 1ml
Salmonella :	Bouillon MKTTn	10ml
	+ Iode iodurée	+ 0,2ml (4 gouttes)

\*Ajouter les suppléments aux milieux de base refroidis à 47°C juste avant l'emploi.

## Annexe 3

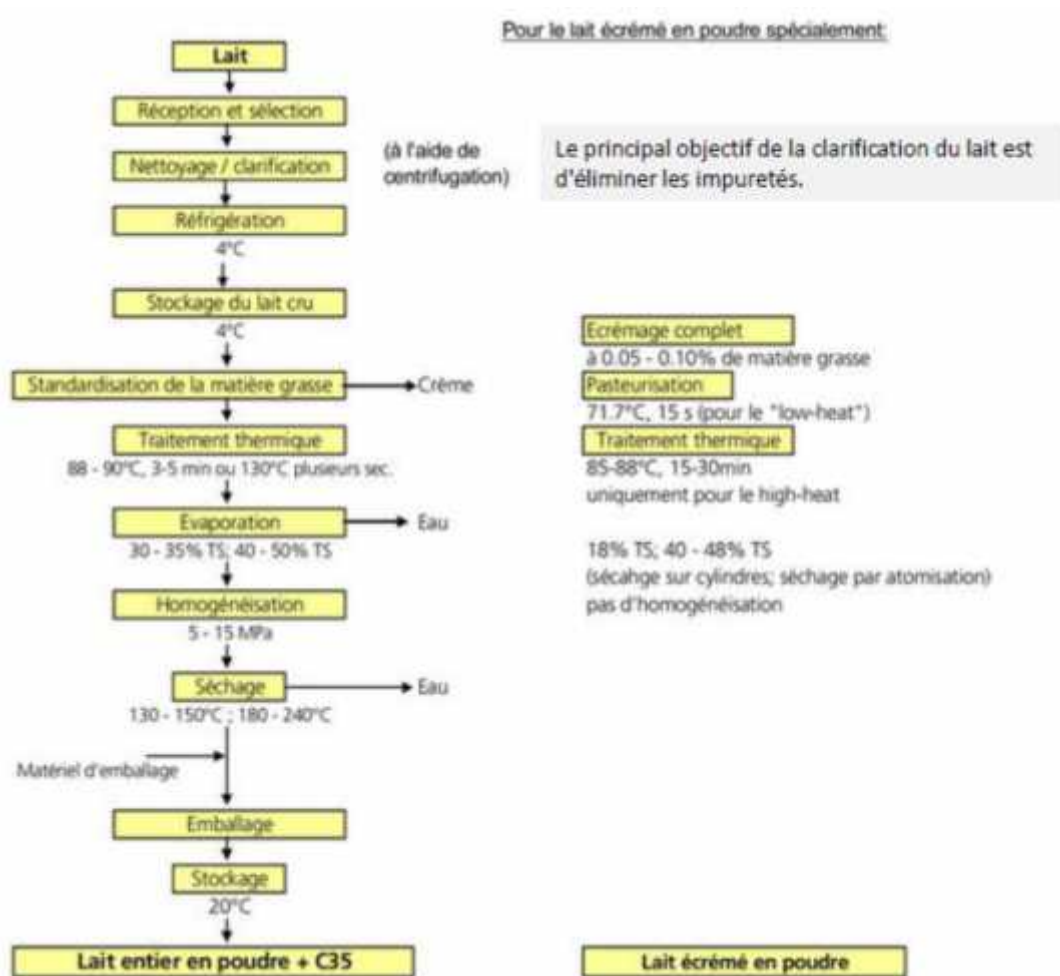


Figure 24 : Diagramme de fabrication de lait en poudre

## Du lait aux produits laitiers : le lait

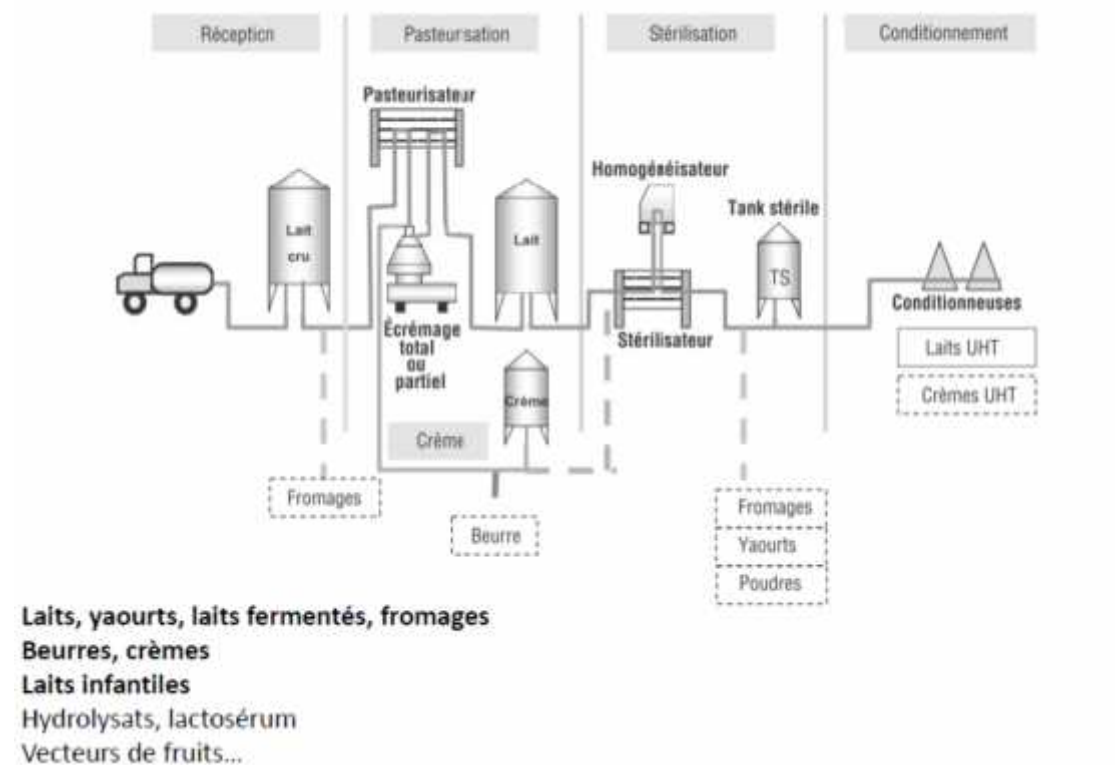


Figure 25 : Etapes de fabrication de lait infantile.

## Résumé

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

Ce travail est porté sur l'étude de la qualité hygiénique et microbiologique, il s'agit de l'étude des contaminations des laits infantiles artificiels mis à l'utilisation des mamans à Bouira, par les germes pathogènes, surtout les moisissures et particulièrement l'*Aspergillus flavus* qui a des effets désastreux sur la santé des nourrissons. Pour cela, un total de 20 échantillons de poudre du lait de différentes marques ont été prélevés dans différents points : crèches, pédiatries, foyers auprès des mamans...

La recherche et le dénombrement de ces germes se font par des méthodes selon des normes définies par la réglementation.

Les résultats obtenus ont révélé un pourcentage de 25% des échantillons analysés présentant une contamination par les moisissures (*Aspergillus flavus*) dont les limites maximales dépassent les normes fixées par la réglementation nationale relative à l'alimentation des nourrissons.

**Mots clés :** Contamination du lait infantile, analyse microbiologique, moisissures, *Aspergillus Flavus*. Défauts de conservation.

## Abstract

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

This work is focused on the study of hygienic and microbiological quality, this is the study of the contaminations of artificial infant milks put to the use of moms in Bouira, by pathogenic germs, especially molds and especially *Aspergillus flavus*, which has disastrous effects on the health of infants. For this, a total of 20 samples of milk powder from different brands were taken from different points: crèches, pediatricians, mothers ' homes...

The research and enumeration of these germs is done by methods according to standards defined by the regulations.

The results obtained revealed a percentage of 25% of the samples analysed with mould contamination (*Aspergillus flavus*) whose maximum limits exceed the standards set by the national regulations on Feeding of infants.

**Key words:** Infant milk Contamination, microbiological analysis, mould, *Aspergillus Flavus*. Conservation defects.