

MINISTERE 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 : Biologie

Spécialité : Physiologie et physiopathologie animale

Présenté par :

ZIANI Djafer & DELLYS Bahia

Thème

*Les incidences du lait mammitieux sur la santé humaine à
Bouira.*

Soutenu le : 02 /07 / 2017

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M. LEKBAL Farouk</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>President</i>
<i>Mme. DOUMANDJI Waffa</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme. IAZZOURENE Ghania</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2016/2017

Remerciements :

En premier lieu, nous remercions le bon Dieu pour sa bienveillance.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier vivement :

Mme Doumandji W. pour avoir accepté de nous encadrer, pour son assistance, ses conseils, sa disponibilité, son suivi et sa gentillesse.

M. LEKBAL Farouk Pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury et d'évaluer ce travail.

Mme IAZZOURENE Ghanía pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Tout le personnel du laboratoire de l'EPSP de Bouira pour leur aide, leurs conseils et leur disponibilité ainsi que leur gentillesse.

Toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

*A **Mon père** ...qui reste un pilier solide et incontournable pour avoir façonné ma personnalité et mon parcours... Par respect, je lui souhaite une longue vie et une santé saine.*

*A **Ma mère** ... Celle que j'aime le plus en ce monde, elle m'a choyé et m'a entretenu sans relâche. La remercier n'est pas suffisant, je devrais plutôt embrasser ses pieds ...*

*A **Mes grands-parents** Hadj Moussa, Hadja Berkahoum, mes tantes et mes oncles sans exception.*

*A **mes chers frères** : Ali, Ahmed et Yacine*

*A **mes chères sœurs** : Imane, Dania, Saadâ, chaima et Asma.*

*A **mes amis** : Soltani mohamed , Sirin mohamed, T.abdo,T.Yacine , G.Mohamed , M.Azzeddine , K.Redouane, Hamidate hamza, Madkour hassane*

*A tous les étudiants de la promotion **2016..2017**, spécialement : Dellys Bahia et Dr.Walid*

ZIANI Djaafer

DEDICACES

A ma mère et à mon père qui ont consacré leur noble existence à bâtir la mienne.

*Je leur témoigne ici mon éternelle reconnaissance et ma profonde affection. Que Dieu
le tout puissant les protège et leur prête longue vie.*

A mes chers frères et sœurs:

Salah, Samir, Toufik, Samira, Hamida, Naceria

A mes chers amies et amis :

Fatiha, Samira, Amel, Bisma, Ouardia,

Djaafer, Abderrahmane, Yassin.

DELLYS Bahia

Liste des abréviations :

% : Pourcentage.

- : Négatif.

+ : Positif.

° : Degré.

° C : Degré Celsius.

Abs : Absence.

BPH : Bonnes pratiques d'hygiène.

C. coli : *Campylobacter coli*.

CSR: Clostridiuims sulfito-réducteurs.

E. coli : *Escherichia coli*.

ECEH. : *Escherichia coli* entérohémorragiques.

ECEI : *Escherichia Coli* entéro-invasive.

ECEP : *Escherichia Coli* entéro-pathogène.

ECET. : *Escherichia Coli* entérotoxique.

EPSP : Etablissement public de santé de proximité.

FAO: Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

h : Heur.

LT: Thermolabile.

min : Minute.

ml: Millilitre.

mm : Millimètre.

n° : Numéro.

NMC: National mastitis council.

NPP : Nombre plus probable.

OIE : Office international des épizooties.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PCA :Punt cunt Agar.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SE: *Salmonella Enteritidis* .

SHU: Syndrome hémorragique urémique.

STm : *Salmonella Typhimurium*.

TIA: Toxi-infection alimentaire.

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective.

TSE : Tryptone Sel Eau.

UFC : Unité formant colonies.

VF: Viande foie.

VRBL : Lactosé bilié au cristal violet et rouge neutre.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Situations épidémiologiques types. Localisation des principales bactéries responsables de mammite au sein de la mamelle.....	17
Tableau 2 Tableau du lieu et date d'échantillonnage du lait cru.(voir annexeI)	
Tableau 3 : Spécificités microbiologiques du lait cru (J.O, 1998).....	29
Tableau 4 : Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements analysés.	49
Tableau 5 : Tableau récapitulatif des résultats de l'analyse bactériologique.....	50
Tableau 6 : Moyenne du dénombrement microbiologique du lait. (Par Log ₁₀ UFC/ml).....	51
Tableau 7 : taux de contamination par des germes à 30°C.....	52
Tableau 8 : Moyenne du dénombrement des Germes à 30°C.....	53
Tableau 9 : Taux de contamination des coliformes fécaux.....	54
Tableau 10 : Moyenne du dénombrement des Coliformes fécaux.....	54
Tableau 11 : Taux de contamination par les <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Tableau 12 : Moyenne du dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Tableau 13 : Taux de contamination par les <i>streptocoques fécaux</i>	56
Tableau 14 : Moyenne du dénombrement des <i>streptocoques fécaux</i>	57
Tableau 15 : Taux de contamination par <i>Escherichia coli</i>	57
Tableau 16 : Moyenne du dénombrement d' <i>Escherichia Coli</i>	58
Tableau 17 : Taux de contamination par les clostridium sulfito-réducteur.....	58
Tableau 18 : Moyenne du dénombrement des CSR.....	59
Tableau 19 : Les résultats de différentes analyses ont été traités par le test KHI-DEUX ...	60

Liste des figures

Figure 1 : Phase 1 de la mammogénèse : Apparition des bourgeons mammaires primaires...	4
Figure 2 : Phase 2 de la mammogénèse : Apparition des bourgeons mammaires secondaires.	4
Figure 3 : Phase 3 de la mammogénèse : Développement des bourgeons mammaires secondaires.....	05
Figure 4 : Phases du développement mammaire chez la génisse (Ch. Hanzen 2004).....	05
Figure 5 : Morphologie externe de la mamelle (Hanzen, 2006).....	07
Figure 6 : Structure interne de la glande mammaire de la vache (Gilbert et <i>al</i> , 2005).....	07
Figure 7 : Représentation des régions de l'étude sur la carte géographique de Bouira.....	28
Figure 8 : Diagramme des différentes étapes de prélèvement.....	29
Figure 9 : Diagramme de la méthode utilisée pour la préparation de la solution mère et des dilutions.....	32
Figure 10 : Diagramme de Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30°C.....	34
Figure 11 : Colonies des germes aérobies à 30°C dans le milieu du PCA (Photo personnelle).....	79
Figure 12 : Diagramme de Recherche et dénombrement des coliformes fécaux à 44°C (Test présumé).....	37
Figure 13 : Diagramme présente le test confirmatif et méthode de Recherche d' <i>Escherichia Coli</i>	38
Figure 14 : Colonies des coliformes fécaux à 44°C dans le milieu du VRBL (Photo personnelle).....	79
Figure 15 : résultat de recherche d' <i>Escherichia Coli</i> (Photo personnelle).....	80
Figure 16 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement des <i>streptocoques fécaux</i> (test de présomption).....	41
Figure 17 :Résultat de recherche des <i>streptocoques fécaux</i> (test de présomption)(Photo personnelle).....	80
Figure 18 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement des <i>streptocoques</i>	

<i>fécaux</i> (test de confirmation).....	43
Figure 19: Résultat de recherche des <i>Streptocoques fécaux</i> (test de confirmation)	
(Photo personnelle).....	81
Figure 20 : Recherche de <i>staphylococcus aureus</i> (Photo personnelle).....	81
Figure 21: Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement de <i>staphylococcus aureus</i>	46
Figure 22 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement des clostridium sulfito-Réducteurs.....	48
Figure 23 : Histogramme de contamination moyens des échantillons de lait cru analysés pour les six indicateurs bactériens.....	52
Figure 24 : Diagramme des taux de contamination par les germes à 30°C.....	53
Figure 25 : Histogramme du Moyenne du dénombrement des Germes à 30 °C.....	53
Figure 26 : Diagramme des taux de contamination par les coliformes fécaux.....	54
Figure 27 : Histogramme du Moyenne du dénombrement des Coliformes fécaux.....	54
Figure 28 : Diagramme des taux de contamination par <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Figure 29 : Histogramme du Moyenne du dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	56
Figure 30 : Diagramme des taux de contamination par <i>Streptocoques fécaux</i>	56
Figure 31: Histogramme du Moyenne du dénombrement des <i>Streptocoques fécaux</i>	57
Figure 32 : Diagramme des taux de contamination par <i>Escherichia Coli</i>	58
Figure 33 : Histogramme du Moyenne du dénombrement d' <i>Escherichia Coli</i>	58
Figure 34: Diagramme des taux de contamination par les clostridium sulfito-réducteur.....	59
Figure 35 : Histogramme du Moyenne du dénombrement des CSR.....	59

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Abréviation	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1
I. Anatomie et fonction de la mamelle	4
I.1.Définition de la mamelle.....	4
I.2.Développement :	4
I.2.1.Développement ante hormonal	5
I.2.2.Développement hormonal	6
I.2.3.Localisation.....	6
I.3. Anatomie de la glande mammaire.....	6
I.3.1.Morphologie externe	6
I.3.2.Morphologie interne.....	7
I.3.3.Vaisseaux et nerfs	7
I.4. Physiologie de la glande mammaire	8
I.4.1. La sécrétion du lait.....	8
II. Différents types de mammites	10
II.1.Définition d'une mammite	10
II.2.Les Mammites cliniques	10
II 2.1.Mammite suraiguë	10
II.2.2. La mammite aiguë	11
II.2.3.La mammite subaiguë.....	11
II.2.4.Mammite chronique.....	12
II.2.5.Mammite sub-clinique	12

II.3. Importance des mammites bovines.....	12
.II 3.1.Importance médicale.....	12
II.3.2.Importance sanitaire.....	13
II.3.3.Importance économique.....	13
II.4.Pathogénies des infections mammaires	13
II.4.1.Pénétration des bactéries dans la mamelle.....	13
II.5.Guérison ou persistance de l'infection	14
II.6.Etiologie des mammites bovines	15
II.6.1.Les pathogènes majeurs	15
II.6.2.Les pathogènes mineurs.....	17
III. Les toxi-infections alimentaires	19
III.1.Physiopathologie	19
III.1.1.Les T.I.A. dues a l'action directe des bactéries	19
III.1.2.Les TIA dues à la production de toxine.....	20
III.2.Définition d'une TIAC.....	20
III.3.Toxi-infection bactériennes dues au lait cru.....	20
III.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i> :	20
III.3.2. <i>Brucella</i> :	21
III.3.3. <i>Campylobacter</i>	22
III.3.4 .Bactérie <i>Escherichia coli</i>	23
III.3.5.La listériose	24
III.3.6. <i>Salmonella</i>	25
I. Matériel et méthode	27
I.1.Objectif de l'étude.....	27
I.2. La Région et période d'étude	27
I.3. Nombre de prélèvements et d'élevages étudiés	28
I.4. Technique de prélèvement du lait	28

I.5. Transport des prélèvements du lait	28
I.6. Analyses bactériologiques du lait.....	29
I.6.1. Matériels pour analyses microbiologiques	30
I.6.2. Préparation des solutions mères et dilutions	31
I.6.3. Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30° C	33
I.6.4. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux à 44°c et <i>Escherichia coli</i>	35
I.6.5. Recherche et dénombrement des <i>streptocoques fécaux</i>	39
I.6.6. Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	44
I.6.7. Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs.....	47
II. Résultats et interprétation	49
II.2.1. Application pratique	51
II.2.3. Interprétation des résultats des Germes à 30°C	52
II.2.4. Interprétation des résultats des coliformes fécaux	53
II.2.5. Interprétation des résultats des <i>Staphylococcus aureus</i>	55
II.2.6. Interprétation des résultats des <i>Streptocoques fécaux</i>	56
II.2.7. Interprétation des résultats d' <i>Escherichia coli</i>	57
II.2.8. Interprétation des résultats des Clostridium sulfito-réducteur	58
II.2.9. Les Analyses statistiques	59
II.3. Discussion.....	60
Référence bibliographiques.....	64
Annexe.....	73

Résumé

Summary

ملخص

Introduction

L'Algérie se place au troisième rang mondial des importateurs de lait et des produits laitiers. En 2006, L'Algérie importa une grande quantité de lait en poudre dont l'estimation serait à plus de 500 millions de dollars. Ces importations sont entreprises afin de récupérer le déficit de la production locale insuffisante, qui ne couvre que 40 % des besoins. Cette énorme quantité importée, devra exiger des contrôles rigoureux de la qualité du lait destiné à la consommation, comme défini en 1909 lors du congrès international de la répression des fraudes par la conclusion: « Le lait est un produit intégral de la traite totale et interrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (**Debreil, 2008**).

Le lait est un aliment hautement nutritif pour l'homme et les jeunes mammifères. C'est un substrat très riche, composé de protéines, glucides, lipides, sels minéraux et vitamines, présents par concentrations, bénéfiques pour la croissance et la multiplication cellulaire. Par conséquent, les microorganismes trouvent dans le lait un milieu idéal pour leur développement (**Dubril E., 2008**).

A l'état sain, la sécrétion lactée produite dans la mamelle de la vache est stérile, sans présence de germes pathogènes. Par contre, la présence de germes est généralement un signe d'une infection de la glande ou plus rarement une excrétion à partir des réseaux sanguins ou lymphatiques. Les germes susceptibles de coloniser la mamelle sont nombreux: bactéries à Gram +, Gram-, mycoplasmes, levures, et mêmes certaines algues. Il est décrit qu'il y'a environ 150 espèces, susceptibles de provoquer des infections mammaires, telles que les, Staphylocoques, Streptocoques, Entérobactéries (**Dural et al, 2011**). La mammite est une inflammation du gland mammaire résultant de l'action de micro-organismes pathogènes très variés. Ces derniers attaquent et endommagent les tissus sécrétoires qui, souvent, réagissent contre l'agression par la mobilisation des leucocytes polynucléaires neutrophiles dans la région de l'infection. La mammite se rencontre généralement chez les vaches en lactation. Elle entraîne la baisse de la production de lait d'une part, la faiblesse des qualités hygiéniques et nutritives du lait et de ses produits dérivés, d'autre part.

Dans un élevage laitier, les mammites engendrent des conséquences pathologiques graves. D'un point de vue économique, cette pathologie représente une des principales causes

de l'augmentation des dépenses pour les éleveurs (traitement, lait écarté de la collecte, réforme anticipée, main d'œuvre) (**Gambo et al.2001**).

Les zones de production laitière sont localisées au nord du pays et plus précisément dans le littoral et dans les plaines intérieures du pays – Une activité fortement liée à la production fourragère. En somme, l'implantation du bovin laitier local n'a pas connu de promotion (extension des fermes) dans les zones déjà occupées. La production laitière locale est assurée en grande partie par le cheptel bovin (80% des rendements).

En Algérie, comme dans la plupart des pays, les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers, provoquant un grand nombre de cas de mammites sub-cliniques et cliniques dans les cheptels, résultant de l'absence des études approfondies (étiologie bactérienne) indispensables à l'établissement de systèmes de contrôle contre les facteurs de risque, impliqués dans les cas de mammite, diagnostiquée dans les exploitations laitières.

Les germes responsables de mammites identifiés chez les bovins, représentent les indices essentiels pour la restauration et l'adaptation des systèmes de maîtrise des mammites aux différentes phases d'épidémiologie. En fait, il est indispensable de mettre en place des enquêtes épidémiologiques et de contrôle de qualité du lait cru de vaches. A cette condition, le thème " Les incidences du lait mammitieux sur la santé humaine " est choisi pour mettre en évidence le danger éventuel, plus ou moins prévisible, inhérent à une situation de toxi-infection, résultant de la consommation de ce lait.

Ainsi, notre étude est scindée en deux (02) parties qui sont :

La première partie bibliographique est consacrée exclusivement à la description de l'anatomie de la glande mammaire, sa physiologie de lactation et sa physio-pathologie (Mammites cliniques et subcliniques).

Ensuite, la mise en évidence des conséquences liées à la consommation du lait mammitieux et ses risques éventuels sur la santé humaine (toxi-infection) avec identification des germes (*Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*) responsables de cette maladie.

La deuxième partie définit l'étude expérimentale suivant un examen bactériologique sur le lait mammitieux, effectué sur des échantillons prélevés dans des fermes de vaches

laitières de la Wilaya de Bouira et visant la recherche d'éventuelle présence de tous les germes (germe à 30 , Coliformes fécaux , *streptocoques fécaux* , *staphylococcus aureus* et CSR) responsables des mammites afin d'identifier le modèle épidémiologique prédominant dans ces cheptels.

I. Anatomie et fonction de la mamelle

I.1. Définition de la mamelle

La mamelle est une glande cutanée dont la fonction est d'assurer la production successive de colostrum et du lait. C'est l'organe le plus important chez la vache, elle peut peser jusqu'à 50 kg, avec une contenance de 20 kg de lait (Bowen R.,1995).

I.2. Développement : (Mammogénèse)

Le développement de la mamelle comporte deux phases :

Une phase an hormonale : du fœtus jusqu'à la puberté (isométrique);

Une phase hormonale : après la puberté (hypermétrique).

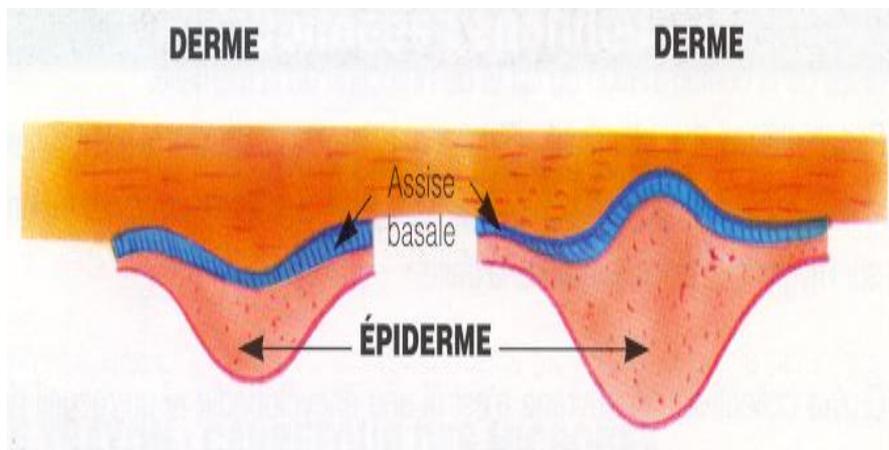


Figure01 : phase 01 de mammogénèse : l'apparition des bourgeons mammaires primaires

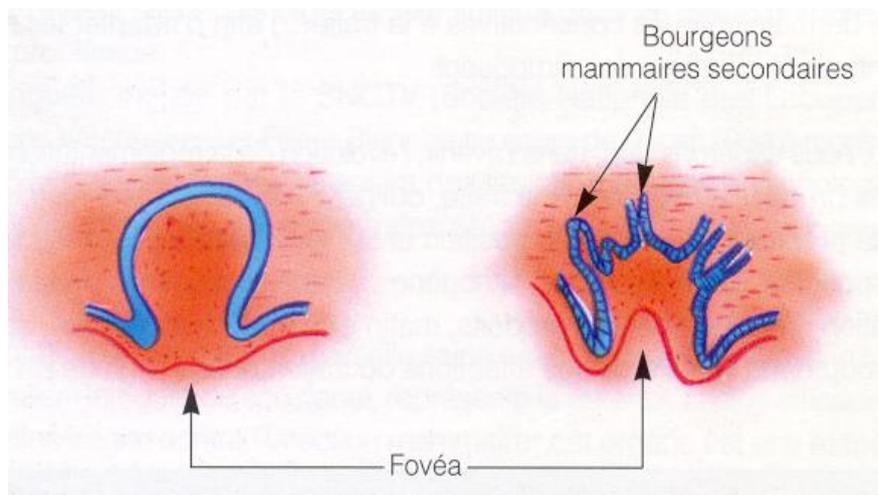


Figure02 : phase 2 de la mammogénèse : apparition des bourgeons mammaires secondaires.

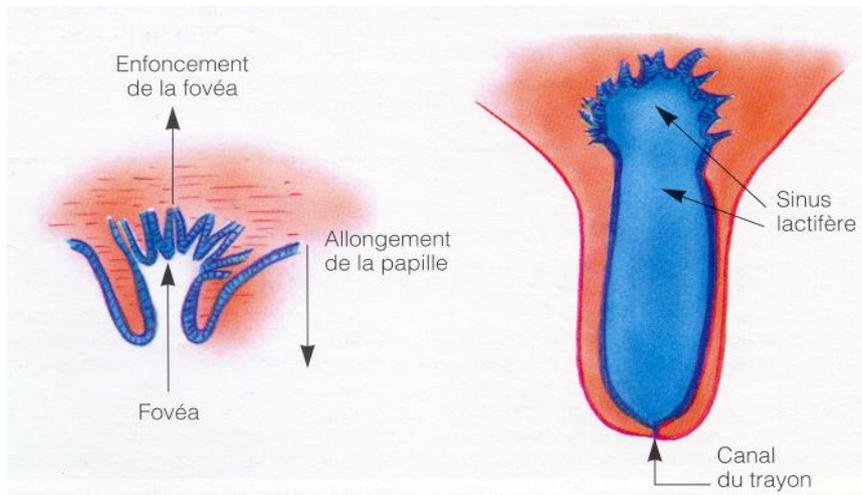


Figure03 : phase 3 de la mammogénèse : développement des bourgeons mammaires secondaires.

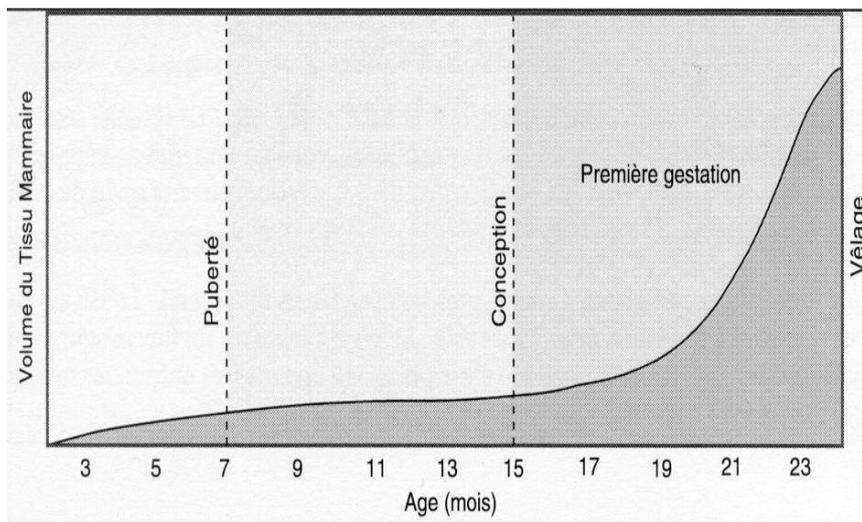


Figure04 : phases du développement mammaire chez la génisse.

I.2.1.Développement ante hormonal

Très tôt dans le fœtus, *In utero*, l'apparition des ébauches mammaires est caractérisée par la formation d'un épaissement linéaire de l'ectoderme qui s'étend rapidement, de chaque côté de l'embryon, de la région axillaire à la région inguinale et constitue la crête mammaire. Sur celle-ci, se différenciant des nodules qui sont les bourgeons mammaires primaires susceptibles de donner une mamelle. (Hanzen Ch., 2010)

La crête mammaire disparaît ainsi que la plupart des bourgeons pour ne laisser que ceux qui donneront les mamelles propres à chaque espèce; ce qui explique les grandes différences pouvant être observées dans la topographie définitive des mamelles. De la naissance à la

puberté, le développement mammaire est une croissance isométrique car il est proportionnel au reste du corps. (Coussi, 1995).

I.2.2.Développement hormonal

A partir de la puberté, les bourgeons mammaires, sous l'influence des hormones femelles (les œstrogènes et la progestérone), vont reprendre leur développement et terminer la formation des alvéoles. Parallèlement, les tissus adipeux et conjonctifs augmentent considérablement. La glande mammaire n'atteint son plein développement qu'au cours de la gestation, période pendant laquelle se fait la mise en place (Coussi, 1995).

I.2.3.Localisation

Les mamelles se développent normalement de façon symétrique, c'est-à-dire par paire. Le nombre de paire, variable d'une espèce à l'autre, est en rapport approximatif avec le nombre de jeunes que la femelle peut mettre au monde pour chaque portée. La localisation est non moins variable. Si les mamelles peuvent se développer sur toute la longueur de la crête mammaire chez le porc, il n'en est pas ainsi dans la plupart des espèces animales. Selon leur emplacement, on reconnaît des mamelles pectorales, abdominales et inguinales. Chez la vache, les mamelles sont inguinales de même que chez les autres ruminants et chez la jument: du tissu sécrétoire proprement dit (Coussi, 1995).

I.3. Anatomie de la glande mammaire

I.3.1.Morphologie externe

La mamelle comprend quatre (04) quartiers indépendants, deux (02) postérieurs et deux (02) antérieurs, sans communication entre les tissus sécrétoires et les systèmes caniculaires de la mamelle adjacente. La séparation est bien définie entre les moitiés gauches et droites, individualisées par le ligament suspenseur médian du pis, mais entre les quartiers antérieurs et postérieurs du même côté. Leur limite est marquée par un sillon transversal large.

Chacun des quartiers se prolonge par un unique trayon, par un seul orifice, l'ostium papillaire qui est punctiforme au repos mais aisément dilatable (Poutrel B., 1985).

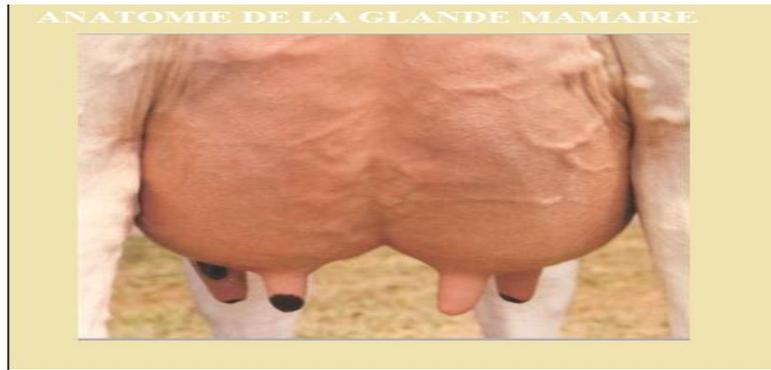


Figure 5 : Morphologie externe de la mamelle (Hanzen, 2006)

I.3.2. Morphologie interne

L'extrémité libre du trayon est percée par le « méat de trayon » qui est fermé par un sphincter. En allant vers les alvéoles se trouve un repli muqueux « la rosette de Fürstenberg » qui constitue en cas d'infection mammaire, le principal point de passage des leucocytes du sang vers le lait, et se continue par un court conduit papillaire: le canal du trayon. La présence de l'anneau veineux de Fürstenberg qui est un repli annulaire, séparant le sinus mammaire et le sinus du trayon qui seront à leur tour réunis dans le sinus lactifié en un seul et unique. De là commence l'arborisation de 5 à 8 canaux galactophores: canaux intra lobulaires. Chaque lobule est constitué par des acinis. Donc, l'acinus est l'unité essentielle du tissu glandulaire de la mamelle (Soltner, 2001).

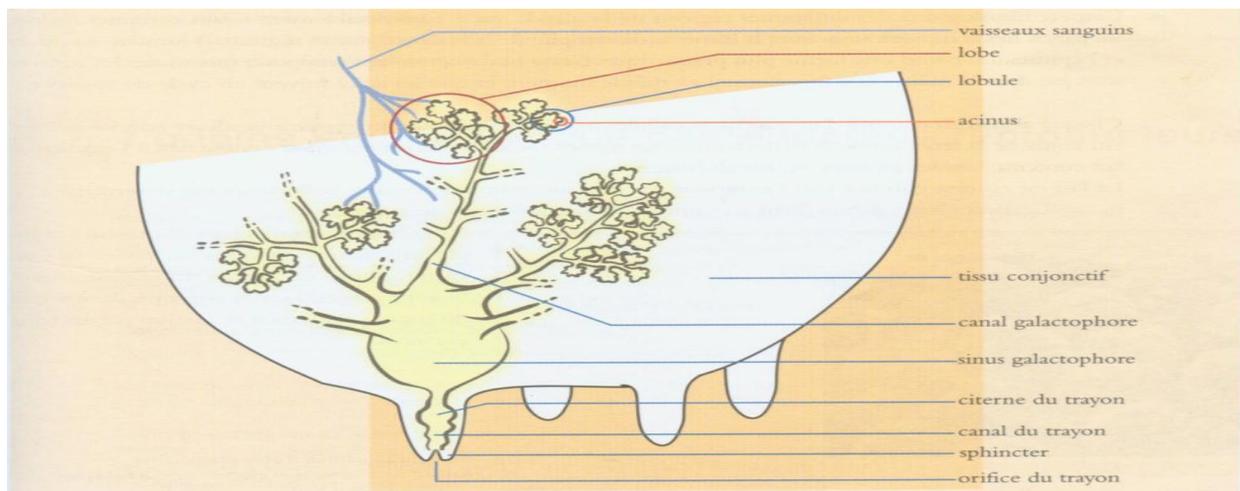


Figure 6 : Structure interne de la glande mammaire de la vache (Soltner, 2001).

I.3.3. Vaisseaux et nerfs

La mamelle est une glande richement vascularisée. Les deux quartiers d'un même côté reçoivent la presque totalité de leur sang par l'artère honteuse externe correspondante ; seule

une petite partie des quartiers caudaux, reçoit une irrigation complémentaire d'un rameau de l'artère honteuse interne. Le système veineux des mamelles est bien plus développé que celui des artères car on y reconnaît trois (03) étages constitués respectivement par les veines des trayons, celles du parenchyme et celles des canaux collecteurs de la base du pis. La mamelle possède également une importante vascularisation lymphatique. Les fentes lymphatiques naissent dans le stroma conjonctif et sont drainées par les vaisseaux lymphatiques qui rejoignent les nœuds lymphatiques régionaux notamment rétro-mammaires et inguinaux. Les nerfs de la glande mammaire proviennent des rameaux ventraux des quatre (04) premières paires lombaires, et accessoirement des nerfs honteux. **(Barone, 2001).**

I.4. Physiologie de la glande mammaire

La glande mammaire a pour rôle la production du colostrum et du lait destiné principalement à nourrir le petit, de sa naissance au sevrage. A l'exception du fer totalement absent de sa composition, le lait satisfait pleinement les besoins de survie et de croissance du petit jusqu'à ce qu'il acquiert la capacité de digérer d'autres aliments. L'obtention, grâce à la sélection génétique de races hautes productrices de lait, vient ajouter un aspect économique très marqué à l'importance biologique de la sécrétion lactée. Ces races assurent, en effet, des revenus considérables aux éleveurs spécialisés dans la production laitière. **(Hanzen Ch., 2010).**

I.4.1. La sécrétion du lait

La production du lait se fait en deux phases :

- La lactogenèse ou le déclenchement de la sécrétion du lait,
- La galactopoïèse ou entretien de la sécrétion lactée.

I.4.1.1 - La lactogenèse

Ce terme décrit l'ensemble des phénomènes et des facteurs associés à l'initiation de la lactation et la synthèse du lait.

Elle caractérise la première phase de l'activité de la glande mammaire. Elle donne naissance au colostrum qui diffère du lait par sa composition et le mécanisme de sa production ; il s'agit d'une sécrétion mérocrine (libération par exocytose). La lactogenèse est rendue possible par la disparition de l'équilibre hormonal de la gestation qui permet à la prolactine d'agir sur la glande mammaire.

En effet, la parturition s'accompagne d'une baisse importante de la progestéronémie, d'une élévation du taux plasmatique du 17 β -œstradiol, d'une augmentation de la prolactinémie

et d'un pic de glucocorticoïdes qui déclenche la parturition chez les ovins et les bovins grâce à une intervention fœtale (**Concannon et al., 1978**). Ces modifications hormonales entraînent une synthèse abondante de lait. La sécrétion est ensuite maintenue par les tétées ou les traites quotidiennes : c'est la galactopoïèse.

I.4.1.2 - La galactopoïèse

Après la mise bas, la production de lait par les glandes mammaires se maintient grâce à la tétée ou à la traite (arc reflexe dont le point de départ correspond aux corpuscules tactiles de PACINI). La galactopoïèse est la phase d'entretien de la lactation. L'excitation de la glande est à l'origine de deux (02) réflexes : le réflexe galactopoïétique qui favorise la production du lait et le réflexe galactocinétique qui provoque la vidange des mamelles indispensable à la poursuite de la sécrétion lactée.

II. Différents types de mammites

II.1. Définition d'une mammite

La mammite est une inflammation d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle. L'étiologie principale est infectieuse. Elle est traduite dans la majorité des cas par une réponse inflammatoire du type cellulaire, impliquant une augmentation de la concentration en cellules dans le lait (**Barone, 2001**).

La mammite peut se définir par l'état inflammatoire d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle quelque soit l'origine traumatique, chimique, physique ou biologique. Le degré de gravité clinique ou subclinique, l'évolution chronique aigue ou sur aigue, ou la terminaison, c'est-à-dire la guérison apparente ou réelle ou la mort de l'animal.

II.2. Les Mammites cliniques

Les mammites cliniques s'accompagnent parfois d'une très grande forte réaction inflammatoire et de symptômes graves qui peuvent être spectaculaires (congestion, œdème, sécrétion du lait décomposée ou purulente, abcès, fistule, gangrène...) et parfois sont associées des signes généraux plus moins intenses (hyperthermie, trouble nerveux, amaigrissement...) Ces mammites entraînent des chutes de production ou voire la perte d'un quartier ou plusieurs quartiers qui conduisent à la réforme et exceptionnellement à la mort de l'animal (**Salat O. et al., 2007**).

II 2.1. Mammite suraiguë

D'apparition brutale et d'évolution rapide, caractérisée par une sécrétion lactée (aspect séreux, aqueux, hémorragique, sanieux ou purulent et douloureux). Les signes locaux sont très violents (une mamelle congestionnée). L'état général est fortement altéré et l'évolution vers la mort est fréquente en l'absence de traitement précoce.

On distingue deux formes caractéristiques :

❖ La mammite paraplégique

La vache est en décubitus, en syndrome fébrile (tachycardie, tachypnée, hyperthermie...), parfois en diarrhée. Les symptômes locaux pouvant être frustrés, il convient alors de faire le diagnostic différentiel avec une fièvre vitulaire en observant la sécrétion qui

est rare et séreuse. Des entérobactéries sont le plus souvent associées à ce type de mammite. (Bruyas, 1996).

❖ La mammite gangreneuse

L'inflammation du quartier atteint est très violente, puis suivie d'une nécrose avec apparition d'un sillon disjoncteur séparant les tissus sains des tissus nécrosés froids, noirâtres à gris plombé. La sécrétion est rare et nauséabonde. L'évolution rapide conduit à la mort en l'absence de traitement. Le germe mis en cause est *S. aureus*, parfois associé à des anaérobies. (Hanzen., 2009)

II.2.2. La mammite aigue

C'est une inflammation brutale de la mamelle ne s'accompagnant pas d'effets généraux. Les symptômes restent localisés au niveau de la mamelle qui apparait rouge, gonflée, douloureuse et chaude. La production laitière est modifiée en qualité et en quantité. Cette mammite évolue moins rapidement que la précédente, parfois pendant quelques semaines, mais peut dans certains cas, conduire l'animal à la mort. Elle survient à tous les stades de lactation et déclenchée par différentes bactéries. Elle peut revêtir une forme caractéristique appelée mammite d'été due à l'action conjuguée de plusieurs bactéries dont le *corynebacterium pyogènes* transmis par des mouches dont *hydrotea irritans*. La sécrétion lactée présente un aspect crémeux, de couleur bleu verdâtre et d'odeur nauséabonde. Le quartier atteint est le siège d'une inflammation intense et l'état général de l'animal peut être gravement affecté (Vandaele E., 2004).

II.2.3. La mammite subaiguë

La mammite subaiguë est une inflammation bénigne de la mamelle qui entraîne des modifications de la sécrétion avec présence de grumeaux surtout dans les jets. Le produit de sécrétion apparait plus ou moins visqueux, traversant difficilement le filtre à lait (Poutrel, 1985).

C'est une inflammation modérée mais persistante de la mamelle, évoluant lentement sur plusieurs mois, voire plusieurs années, parfois durant la vie entière de l'animal. Elle fait habituellement suite à une mammite aigue ou suraiguë.

L'état général de l'animal n'est pas affecté. Les signes locaux sont extrêmement discrets et se traduisent par la présence dans le parenchyme mammaire de zones fibrosées de taille et de localisation variables, palpables après la traite.

II.2.4.Mammite chronique

Elle est le plus souvent secondaire à une mammite aiguë. Les symptômes locaux sont discrets. Lentement le quartier évolue vers l'atrophie du fait de l'installation de zones de fibrose cicatricielle. La mamelle devient noueuse à la palpation. La sécrétion n'est souvent modifiée qu'en début de traite. L'évolution est lente vers le tarissement de la sécrétion au bout de plusieurs mois. Tous les germes donnant des mammites peuvent être isolés (**Hanzen, 2009**).

II.2.5.Mammite sub-clinique

Elle est par définition asymptomatique : la sécrétion paraît macroscopiquement normale même en début de traite, les signes locaux et généraux sont absents. Seul l'examen du lait au laboratoire permet de mettre en évidence des modifications chimiques, bactériologiques (présence de germes) et surtout cellulaire du lait, en l'occurrence augmentation des cellules somatiques du lait (surtout les polynucléaires neutrophiles).

Les germes en causes sont essentiellement à Gram positif (*staphylocoques* et *streptocoques*). Les mammites sub-cliniques, beaucoup plus fréquentes que les mammites cliniques, sont insidieuses et responsables de pertes économiques importantes par une baisse de la production laitière et une augmentation des comptages cellulaires du troupeau (**Hanzen Ch., 2010**).

II.3. Importance des mammites bovines

II 3.1.Importance médicale

Les mammites suraigües peuvent causer la perte de l'animal ou tout du moins du quartier atteint. Les mammites subcliniques sont souvent difficilement curables et entraînent la réforme de l'animal et son abattage précoce. Les mammites aiguës et suraigües altérant l'état général de l'animal, peuvent intervenir comme facteurs prédisposant à d'autres maladies de la vache laitière, comme les déplacements de caillette, des arthrites ou des endocardies secondaires au passage du germe dans la voie sanguine. D'autre part, les vaches atteintes de mammite même modérée, présentent des modifications de posture et une hyperalgie durable (de quelques jours à quelques semaines) (**Berthelot X. et al., 2007**).

II.3.2.Importance sanitaire

Le lait de mammite clinique n'est pas commercialisé mais celui des infections subclinique peut entrer dans la production de fromage et autres produits laitiers. La contamination de ceux-ci par certains germes (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella*) peut-être responsable de toxi-infections alimentaires en l'absence de pasteurisation (**Gedilaghine V., 2005**).

II.3.3.Importance économique

Les infections mammaires en élevage bovin laitier sont la principale cause, loin devant la reproduction, de pertes économiques pour des raisons sanitaires : lait non produit, non commercialisé, moindre paiement du lait pour qualité cellulaire insuffisante, réforme des vaches non soignables, coûts des traitements et facteur temps à les exécuter (**Dumas Pl. et al., 2004**). Le cout moyen des mammites bovines, selon Araujo (**Araujo W., 2004**) est de 78 € par vache et par an (52 € de pertes et 26 € de couts de traitement). L'incidence moyenne des mammites est variable selon les études, d'environ 50 cas pour 100 vaches et par an en Grande-Bretagne (**Green Mj., 2007**) et de 22 à 140 cas pour 100 vaches.

En France (**Berthelot X., 2006**), elle reste élevée malgré l'amélioration des conditions d'élevage et de traite. Le paradoxe est que, malgré le coût très important des infections mammaires (2 fois plus que les maladies de la reproduction) (**Araujo W., 2004**), elles sont les moins bien gérées par l'éleveur. Dans 95 % des cas, les mammites cliniques sont traitées par l'éleveur sans l'intervention du vétérinaire, alors que couramment les troubles de reproduction sont suivis par le praticien ou le technicien du centre d'insémination.

II.4.Pathogénies des infections mammaires

II.4.1.Pénétration des bactéries dans la mamelle

A part le cas particulier des mammites tuberculeuses et brucelliques d'origine hématogène, les germes pathogènes pénètrent généralement dans le quartier par le canal du trayon. Celui-ci constitue une première barrière contre la colonisation de la mamelle : le sphincter à la base du canal assure l'étanchéité entre la mamelle et le milieu extérieur. Les cellules kératinisées de la muqueuse se décortiquent régulièrement, participant à l'élimination des germes en début de traite. Ainsi la pénétration des germes se réalise au moment où le sphincter est ouvert, durant la traite et surtout en fin de traite (le sphincter reste ouvert environ une demi heure après la traite), mais aussi à l'approche du vêlage, ou au tarissement où le

sphincter laisse suinter voire couler un peu de lait par la pression de celui-ci. La pénétration des bactéries se produit suivant trois possibilités :

II.4.1.1.Par le phénomène d'impact

Une entrée d'air se réalise au niveau des manchons trayeurs, provoque une baisse du niveau de vide dans la griffe et un reflux de lait sous forme de brouillard, vers les autres manchons ou le niveau de vide est plus élevé. Le lait se dépose sur les trayons et peut même pénétrer le canal. Ce lait peut être contaminé par des germes d'un quartier malade ou par la présence de ceux-ci dans les manchons. (Lafont Jp, et al., 2002).

II.4.1.2.Par le phénomène de traite humide ou Reverse Flow

C'est le retour du lait qui vient d'être traité vers le trayon en raison d'un mauvais réglage des phases de massage de la machine à traire (Lafont Jp. et al., 2002).

II.4.1.3.Par l'introduction de germes par l'être humain

Que ce soit par l'éleveur ou le vétérinaire, l'introduction dans le sinus lactifère de germes est réalisée par la mise en place de traitement intra mammaire ou de sondage du canal du trayon de manière non adéquate (défaut d'hygiène). Après cette étape, les bactéries se retrouvent dans le lait intra mammaire. C'est le site infectieux obligatoire pour tous les types de mammites.

II.5.Guérison ou persistance de l'infection

Suivant les pouvoirs pathogènes de la bactérie et l'efficacité des défenses immunitaires, l'infection mammaire peut évoluer vers une guérison spontanée ou vers l'extension dans le cas de mammite clinique. Certaines bactéries, après adhésion à la surface des cellules épithéliales, peuvent y pénétrer et s'y multiplier. Cette localisation intracellulaire est associée à des infections de type chroniques et récurrentes (Bosquet G. et al., 2005). Certaines souches de *Staphylococcus aureus* en pénétrant dans les cellules épithéliales, sont capables de provoquer une apoptose (phénomène sous contrôle normalement hormonal qui se produit en fin de lactation, occasionnant une réduction de la production laitière). Lafont Jp. et al., 2002 ont montré que lors d'infection expérimentale par *Staphylococcus aureus*, la production lactée chute de manière significative par rapport à des vaches saines. D'autres souches de staphylocoques sont connues pour résister à la bactéricide des lysosomes, des macrophages et

des polynucléaires et peuvent même s'y multiplier. Lors de la localisation dans le parenchyme, il se produit une augmentation du tissu inter-alvéolaire au détriment des alvéoles productrices de lait (Bosquet G. et al., 2005).

II.6.Étiologie des mammites bovines

La grande majorité des mammites bovines est d'origine infectieuse (Durel L. et al., 2004). Il existe cependant quelques rares cas de mammites traumatiques, chimiques ou physiques. L'infection de la mamelle se fait par voie exogène principalement, la voie endogène est décrite notamment pour les mycoplasmes mais est rare (Legrand D. et al 2004). Les mammites mycosiques (*Candida*) ou causées par des algues (*Prototheca*) sont très peu courantes. Généralement une seule espèce bactérienne est responsable de l'infection, très rarement, l'association de deux espèces. (Van De Leemput E. et al., 2007).

On classe les espèces bactériennes responsables d'infections mammaires en deux groupes :

II.6.1.Les pathogènes majeurs

Les pathogènes majeurs sont les bactéries responsables des mammites cliniques et subcliniques, et sont le plus couramment isolées. Ils regroupent les coques Gram positifs (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*), les entérobactéries (*Escherichia Coli*, *Klebsiella pneumoniae*, Entérobactérie *aerogenes*...) et les entérocoques, plus rares (*Enterococcus faecalis*...). Aujourd'hui on constate la prédominance de trois pathogènes majeurs qui sont par ordre décroissant: *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli* (Schmitt et al., 2005).

Dans une étude française sur 618 prélèvements de lait pour analyse bactériologique entre novembre 2005 et juillet 2007, 70 % des isolats appartiennent à seulement quatre espèces bactériennes (dont les *Staphylococcus* coagulase négatifs qui sont des pathogènes mineurs, *Streptococcus uberis* représentant 25 % des isolats, *Escherichia Coli* : 18 % et *Staphylococcus aureus* : 13 % (Bidaud O. et al., 2007).

II.6.1.1.*Escherichia coli*

C'est un bacille Gram négatif provenant des fèces des animaux et se développant dans la litière ou les aires de couchage (logettes), souillées par ceux-ci. Une étude de WENZ et al. (Wenz Jr., 2006) sur les facteurs de virulence de *Escherichia Coli*, a montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre les gènes de virulences (gène *eae A* codant par une protéine d'adhésion, les gènes CNF1 et CNF2 provoquant des dommages vasculaires et le gène CS31

A, commun à *Escherichia Coli* retrouvé dans les entéropathies des veaux) et la gravité des symptômes de mammites. La sévérité des symptômes dépendrait plus de l'animal et de sa réaction immunitaire. Les facultés d'adhésion des colibacilles n'est pas excellente et ils ne sont pas retrouvés en position intracellulaire (Durel L., 2004).

II.6.1.2. *Staphylococcus aureus*

Ce germe est présent partout à la surface de la peau et des muqueuses et en particulier au niveau des trayons (Van De Leemput E. et al., 2007). La contamination d'une vache à une autre, se réalise par ceux-ci, par les mains du trayeur ou des lavettes. Après pénétration dans le canal du trayon, il envahit les canaux galactophores et colonise rapidement les cellules épithéliales (des 24 heures) (Salat O. et al., 2007). Il se multiplie plutôt lentement, le pic étant entre 2 et 11 jours, suivant l'animal (Durel. et al., 2004). La concentration en bactéries dans le lait est toujours faible. Puis il colonise le parenchyme mammaire assez rapidement. Il y est détectable dès 4 jours après inoculation. La réaction inflammatoire est lente et souvent modérée (Salat O, et al., 2007).

II.6.1.3. *Streptococcus uberis*

Ce germe est responsable en général de mammite clinique plutôt en début de lactation et au moment du tarissement. Il est présent comme *Escherichia Coli*, dans la litière souillée par les fèces des animaux, mais aussi sur la peau et les muqueuses ainsi que les trayons et leurs lésions, et le matériel de traite où il peut persister (Wenz Jr., et al., 2006). Il produit une hyaluronidase qui pourrait être responsable de la désorganisation des barrières tissulaires (Serieys F., 2003), favorisant son passage dans le parenchyme. BOSQUET et al. (Bosquet G. et al., 2005) précisant qu'il est détectable dans le parenchyme dès 6 jours après l'infection.

Les mammites à *Streptococcus uberis* sont en général aiguës avec inflammation du quartier, hyperthermie et caillots dans le lait. Lors du passage à la chronicité, ou avec certaines souches, la réaction inflammatoire est beaucoup plus modérée, sans hyperthermie, mais elle est généralement supérieure à celle rencontrée lors de mammite sub-clinique à *Staphylococcus aureus*. Le tableau 1 résume les localisations préférentielles de ces trois pathogènes majeurs:

Tableau 1 : Situations épidémiologiques types. Localisation des principales bactéries responsables de mammite au sein de la mamelle.

	Lait	Phagocytes	Cellules épithéliales	Parenchyme sans fibrose	Parenchyme avec fibrose	Sang
<i>E.coli</i>	+	-	+ Si infection chronique avec souche spécifique excrétion dans le lait intermittente	-	-	+ Si bactériémie précoce en cas de mammite aiguë
<i>Staphylococcus</i>	+	-	Certaines souches d'infection chronique	+ <i>Streptococcus uberis</i> précocement	+ Sur <i>Streptococcus uberis</i> et mammite ancienne ou récidive	-
<i>S. aureus</i>	+	+ Dans certains cas	+	+ Précocement	Sur ancienne infection ou vache âgée	-

Tableau 01 d'après Faroult et Lepage 2006.

II.6.2. Les pathogènes mineurs

Normalement les pathogènes mineurs ne sont qu'exceptionnellement responsables de mammites cliniques mais plutôt responsables d'infections subcliniques. Ce sont surtout les *Staphylococcus* coagulase négatifs (*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus chromogènes*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus haemolyticus*...) (Ben Hassen S. et al., 2007).

Longtemps considérés comme pathogènes mineurs comme décrits dans cette classification traditionnelle, ils sont devenus des pathogènes majeurs responsables de

mammites cliniques et chroniques (**Taponen S. et al., 2007**), avec de fortes inflammations du quartier ainsi que des mammites subcliniques.

Ils représentent 14 % des isolats de l'étude précédemment citée, et seraient responsables de 20 % des mammites bovines en France, d'après (**Taponen S. et al., 2007**). Ils sont prédominants dans les isolats réalisés au sein de la clinique vétérinaire de Gavray dans la Manche, de mai 2007 à janvier 2008, représentant 32 % des 118 bactériologies réalisées et 33% dans l'étude de DUREL 2004. (**Durel L. et al., 2004**).

Les staphylocoques coagulase négatifs sont des germes de la flore cutanée normale. La source d'infection est en général un défaut d'hygiène au moment de la traite, ou ils colonisent le canal du trayon à la faveur d'une blessure. La pathogénie est encore mal connue (**Van De Leemput E. et al., 2007**).

Ces germes sont en général plus prévalents sur les primipares (**Taponen S. et al., 2007**). La colonisation de la mamelle des primipares s'est réalisée bien avant le vêlage (**Bravard M. et al., 2006**).

Lors d'infections mammaires, les vétérinaires sont surtout confrontés à quelques espèces bactériennes, vu les résultats de bactériologie obtenus en Mayenne (**Van De Leemput E. et al., 2007**) ou à Gavray (Manche).

Les différentes études de terrain sur l'étiologie des mammites bovines montrent la prédominance des *Staphylococcus* coagulase négatif, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli*, *Klebsiella spp*, *Streptococcus dysgalactiae et agalactiae*, ceux-ci devenant rares (**Bouchard E. et al., 1995**).

III. Les toxi-infections alimentaires

Les intoxications alimentaires sont fréquentes dans le monde y compris dans les pays occidentaux. Dans les pays en voie de développement, elles demeurent un gros problème de santé publique. A côté des causes infectieuses aux quelles nous nous limiterons, il existe des causes allergiques par ingestion d'allergènes ou produits chimiques contenus dans les aliments (**Pr Bourlioux P., 2014**)

Une toxi-infection alimentaire (T.I.A.) se définit comme une infection par des bactéries, des virus ou des parasites, dûe à la consommation d'un aliment contaminé. L'attaque microbienne peut être liée aux propriétés invasives du micro-organisme et/ou aux produits toxiques qu'il est capable d'élaborer au cours de sa croissance. Le concept englobe aussi bien les toxi-infections alimentaires classiques à *Staphylococcus aureus* ou *Salmonella sp*, que les pathologies infectieuses moins classiques liées à la consommation d'aliments contaminés par des virus, des parasites ou des prions. Les T.I.A bactériennes, représentent la majorité des cas recensés. (**Pr Bourlioux P., 2014**)

III.1.Physiopathologie

Si les aliments consommés par l'homme lui permettent de couvrir ses besoins nutritionnels, nombre de micro-organismes (et plus particulièrement les bactéries) y trouvent aussi tout ce dont ils ont besoin pour s'y multiplier très rapidement et produire des métabolites éventuellement toxiques. Certains aliments sont considérés comme particulièrement à risque, comme le lait et la viande. Pratiquement tous les aliments peuvent induire une toxi-infection alimentaire si des précautions ne sont pas prises lors de leur récolte, leur préparation et leur conservation (**Pr Bourlioux P., 2014**).

III.1.1.Les T.I.A. dues a l'action directe des bactéries

Les bactéries à action directe sont invasives : elles adhèrent puis pénètrent dans les cellules intestinales. Elles possèdent des « facteurs de virulence », codés par des gènes chromosomiques et /ou plasmidiques. Ces facteurs peuvent être acquis par la bactérie : certaines (non pathogènes) ne les ont pas, tandis que d'autres si (**Daniel Rigaud., 2015**).

Deux processus de TIA dûes à l'action directe des bactéries sont possibles :

1. La bactérie détruit les cellules et une partie de la paroi interne de l'intestin : ceci conduit à une réaction inflammatoire locale avec diarrhée infectieuse, fébrile et présence de sang et de leucocytes dans les selles.

2. La bactérie reste confinée et se multiplie, sans attaquer les membranes des cellules. Elle est à l'origine d'une cascade de réactions responsables d'une diarrhée fébrile éventuellement accompagnée de vomissement (gastro-entérite).

III.1.2. Les TIA dues à la production de toxine

Les toxines sont des substances fabriquées par les germes qui ont un impact direct sur nos cellules. Les toxines staphylococciques agissent sur le métabolisme de l'eau et des électrolytes alors que la toxine botulinique a une affinité pour le système nerveux central. Les toxines donnent des diarrhées liquides plus ou moins importantes. Le plus souvent il n'y a pas de fièvre. La rapidité d'action des toxines ne permet pas à l'organisme de produire des anticorps et de se défendre. Les toxines étant thermorésistantes, même des aliments cuits peuvent déclencher des toxi-infections alimentaires (**Daniel Rigaud, 2015**).

III.2. Définition d'une TIAC

Une toxi-infection alimentaire collective est une infection alimentaire qui touche de façon simultanée un groupe plus ou moins important de personnes ayant consommé des denrées alimentaires contaminées. Dans la majorité des cas, elles sont liées à la prolifération de bactéries avec apparition au même moment de troubles digestifs ou neurologiques similaires chez au moins deux personnes ayant consommé un repas en commun. (**Gallay A., 1997**).

III.3. Toxi-infection bactériennes dues au lait cru

Le lait de vache peut poser des problèmes de santé publique s'il est contaminé par des germes pathogènes. La plupart de ces contaminations ont lieu lors de la traite et de la manipulation de lait, mais les germes présents dans la mamelle peuvent aussi être à l'origine d'accidents chez l'homme. (**Cainaud E., 2005**) Un certain nombre de ces germes pathogènes sont capables de produire des entérotoxines et des infections. En absence de pasteurisation, ces souches pathogènes peuvent contaminer les produits laitiers (**Debuyser M.L. et Lapeyre C., 1994**). L'homme peut être infecté par la brucellose, la tuberculose et la fièvre lors de consommation de lait cru. (**Cainaud E., 2005**).

III.3.1. *Staphylococcus aureus* : (agent de l'intoxication à Staphylocoques).

Staphylococcus aureus est un pathogène opportuniste qui peut causer diverses maladies chez les humains, allant des affections qui évoluent spontanément vers la guérison à des pathologies mortelles (**Murray P.R. et al., 2003**). Cette bactérie est une des principales

causes de toxi-infections alimentaires, résultant de la consommation d'aliments contaminés par des entérotoxines (Le Loir Y. et al., 2003). L'intoxication alimentaire par les staphylocoques se caractérise par une apparition brutale de quelques symptômes qui disparaissent habituellement après 24 heures (Le Loir Y. et al., 2003). L'érythrodermie bulleuse avec épidermolyse est causée par des toxines exfoliatives sécrétées sur l'épiderme et elle touche surtout les nouveau-nés et les jeunes enfants (Murray P. R. et al., 2003). *S. aureus* peut également causer une fasciite nécrosante chez les sujets immunodéprimés, mais c'est très rare (Miller L. G. et al., 2005). La fasciite nécrosante est une maladie potentiellement mortelle qui s'accompagne d'une importante morbidité due à l'ingestion d'aliments contenant des entérotoxines (Le Loir Y. et al., 2003). Le lait cru non pasteurisé peut survenir par l'intermédiaire de porteurs sains ou infectés, ou par l'environnement. (Poutrel B., 1992).

Certaines personnes peuvent être des porteurs chroniques et d'autres des porteurs intermittents (Kluytmans, J. et al., 1997).

Les symptômes :

Les symptômes apparaissent habituellement 30 minutes à 8 heures après la consommation des aliments contaminés (Le Loir Y., et al 2003), par des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales, des crampes et des diarrhées (Murray P. R. et al., 2003).

III.3.2. *Brucella* :

Les *Brucella* sont des bactéries pathogènes responsables de la brucellose, maladie connue également sous les noms de « fièvre de Malte », « fièvre méditerranéenne », « fièvre ondulante » ou « mélitococcie » (OIE, 1995).

La brucellose, maladie aux cent visages est une zoonose transmise à partir de diverses espèces animales à l'homme, qui est un hôte accidentel, soit par voie cutanéomuqueuse (contact avec un animal infecté ou un objet contaminé) soit par voie digestive (consommation de lait cru ou de produits laitiers non pasteurisés contaminés (Stackebrandt E., 1988). Seules quatre espèces sont pathogènes pour l'homme : *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* (bovins), *Brucella suis* et *Brucella canis*.

Il s'agit d'une maladie professionnelle à déclaration obligatoire, certaines professions étant particulièrement exposées, tels que les agriculteurs, les éleveurs, les vétérinaires et le personnel d'abattoir (OIE, 1995).

Le 30 juillet 2015, 16 personnes atteintes de brucellose dans la wilaya de Bouira, ont été hospitalisées à l'hôpital Mohamed Boudiaf (Ali Cherarak, 2015).

Les Symptômes:

La brucellose se manifeste par les symptômes suivants: fièvre, sudation abondante, anorexie, maux de tête, douleurs musculaires, maux de dos, faiblesse physique. Ils se manifestent habituellement dans les huit semaines suivant l'ingestion d'aliments contaminés.

III.3.3. Campylobacter

Campylobacter jejuni et *C. coli* sont les causes habituelles de La campylobactériose chez l'humain (Graham B., et al., 2011).

La campylobactériose est généralement causée par la consommation de viandes et de volailles qui ne sont pas assez cuites, d'eau potable contaminée ou de lait cru. Les personnes qui voyagent dans des pays en voie de développement ont également un risque plus élevé de contracter la campylobactériose. Bien que cela soit rare, la campylobactériose peut se transmettre d'une personne à une autre par voie oro-fécale (via le tube digestif), un moyen de propagation des maladies par lequel une personne devient infectée lorsqu'elle avale des matières fécales (selles) de personnes ou d'animaux infectés (McDowell SW., 2008).

Les campylobactérioses montrent plusieurs ressemblances avec les salmonelloses. Ce sont des infections relativement sévères et quelquefois mortelles. La croissance de *Campylobacter* nécessite également une température d'incubation élevée, supérieure à 30 °C (température optimale voisine de 42 °C). L'ingestion de 500 bactéries suffit pour causer de la diarrhée (Graham B., et al., 2011).

les symptômes

L'infection par *Campylobacter* peut entraîner une variété de symptômes, dont les suivants :

Diarrhée bénigne à grave (parfois diarrhée sanglante), douleurs abdominales, nausée et vomissement, fièvre, coliques, crampes, maux de tête, douleurs musculaires, malaise.

Les symptômes de la campylobactériose apparaissent habituellement deux à cinq jours après l'infection par la bactérie, mais ils peuvent aussi se manifester dès la première journée ou jusqu'à 10 jours après la contamination. Les symptômes durent habituellement trois à six jours. Certaines personnes infectées par la bactérie peuvent ne présenter aucun symptôme, et néanmoins transmettre la maladie à d'autres (McDowell SW., 2008).

III.3.4 .Bactérie *Escherichia coli*

La bactérie *E. coli* se trouve communément dans les intestins des humains et des animaux à sang chaud (Leclerc H., 1993). Il existe différents types d'*E. Coli*. Certaines formes de la bactérie sont inoffensives, son rôle est de nous protéger de l'invasion d'autres bactéries et d'assurer le bon fonctionnement du système gastro-intestinal, et d'autre comme les souches entérohémorragiques (ECEH), peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires graves, pouvant causer des maladies graves (Delarras C., 2010).

Les toxi- infections à *E. coli* peuvent se transmettre par de nombreux aliments comme le jus de pomme et le lait cru, les viandes à sandwich, les légumes crus, le fromage et l'eau contaminée. Cette infection peut se transmettre d'une personne à l'autre par contact des mains ou de la bouche. Les manifestations cliniques de ces contaminations peuvent aller de la diarrhée simple ou sanglante à la colite hémorragique, jusqu'au syndrome hémorragique et urémique (SHU) (Delarras C., 2010 ; Madigan M. et Martinko J., 2007)

Type d'*Escherichia coli*

a. *Escherichia coli* entérotoxique (ECET)

Ils sont responsables d'une diarrhée infantile dans les pays en voie de développement. (Leclerc H., 1993). Ils sont aussi responsables de la turista du voyageur qui atteint les adultes et les enfants. (Mehlman I.J., et al 1976). La contamination est indirecte par l'eau ou le lait cru, mais la contamination directe interhumaine est possible. (Madigan M. et Martinko J., 2007). Ces toxi-infections se manifestent par une diarrhée cholériforme due à la production d'une toxine thermolabile (LT) ou thermostable (ST), qui peut être violente, et dont l'incubation varie de quelques heures à quelques jours (Breitenmoser A. et al., 2011). Elle dure généralement un ou deux jours, et peut s'accompagner de vomissements mais pas de fièvre. La déshydratation qu'elle provoque est un facteur de gravité de la toxi-infection. (Leclerc H., 1993).

b. *Escherichia coli* entérotoxigènes (ECEP)

Ce groupe est le plus anciennement signalé, reconnu responsable de diarrhées infantiles épidémiques dans les années 50 Neter, 1959 (Nataro JP., et al., 1987). Son pouvoir pathogène n'a été confirmé qu'en 1978, et son mécanisme d'action cellulaire et commence seulement à être compris. (Prescott J.F., 1978).

Ils provoquent des diarrhées aqueuses profuses d'incubation courte (quelques heures), qui surviennent surtout chez les nourrissons et s'accompagnent de vomissements et de fièvre. **Pospischil A., et al., 1987**). Ces infections sont fréquentes et épidémiques dans les pays en voie de développement, mais rares dans les pays dont l'hygiène est correcte. Quand on les rencontre dans ces pays, elles ont un caractère communautaire (cantine, repas familial) (**Prohaszka L., 1972**).

c. *Escherichia coli* entérohémorragique (ECEH) (*E.coli* 0157:H7)

Ils sont surtout rencontrés en Amérique du Nord et au Japon. La souche *E.coli* 0157:H7 peut provoquer de graves maladies transmises par les aliments. Les bovins sont le principal réservoir de cet agent pathogène. On le trouve également dans l'eau non chlorée et le jus de pomme non pasteurisé. *E.coli* produit des toxines, appelées verotoxines, ou toxines de type Shiga (**Madigan M. et Martinko J., 2007**). Les symptômes se développent en trois à cinq jours après ingestion des aliments contaminés : fièvre, nausées, vomissements.

Les complications ont souvent lieu chez les plus jeunes, les personnes âgées et les individus ayant un système immunitaire affaibli (**Madigan M. et Martinko J., 2007**). L'hospitalisation est alors infectieuse et grave puisque mortelle dans 20 à 30 % des cas.

La maladie peut se compliquer d'un purpura thrombotique thrombocytopénique ou d'un syndrome hémolytique urémique (SHU) caractérisé par une anémie hémolytique, une thrombopénie, une insuffisance rénale. (**Madigan M. et Martinko J., 2007; Baumgartner A., Grand M., 1995**).

 **Symptômes de l'infection à *E. coli***

Les symptômes se développent en trois à cinq jours après ingestion des aliments contaminés : crampes d'estomac, diarrhée (parfois sanglante), fièvre, nausées, vomissements (**Madigan M. et Martinko J., 2007**).

III.3.5. La listériose

La listériose est causée par une bactérie répandue dans l'environnement, notamment dans le sol, l'eau, la boue, les fourrages et l'ensilage. Les personnes âgées, les nouveau-nés, les femmes enceintes et les individus dont le système immunitaire est affaibli sont les plus vulnérables à la listériose. La maladie est causée par l'ingestion d'aliments contaminés par la

bactérie *Listeria*. Cette bactérie peut se trouver dans les produits laitiers non pasteurisés (crus), les légumes et les viandes crues (**Lailier,2006**).

Toutes les grandes catégories d'aliments, qu'il s'agisse du lait cru et des produits laitiers, de viande crue et des produits carnés, des végétaux, ou encore des poissons peuvent être contaminés par cette bactérie, avec des fréquences et des taux de contamination variables, selon la catégories d'aliments, qu'il s'agisse d'aliments crus ou transformés (**Lailier,2006**).

La listériose peut se manifester sous forme sporadique ou épidémique. La listériose de l'adulte est typiquement à symptomatologie neuroméningée. La listériose de la femme enceinte survient avec contamination fœtale par voie sanguine transplacentaire ou transmembraneuse à partir du liquide amniotique infecté par des abcès placentaires. Elle est difficile à dépister, voire asymptomatique, et révélée par ses conséquences obstétricales. En l'absence de traitement, les conséquences sont redoutables pour l'enfant (avortements précoces surtout du 2^e trimestre, accouchements prématurés, seulement 20% de naissances à terme) (**Malvy et al., 1998**).

Symptômes

Ils sont caractérisés par des vomissements, des nausées, des crampes, des diarrhées, des maux de tête violents, de la constipation ou de fièvre. Chez certaines personnes, les symptômes sont bénins, semblables à ceux de la grippe. Chez les nourrissons, les symptômes sont la perte d'appétit, la léthargie, la jaunisse, les vomissements, des éruptions cutanées et des difficultés à respirer (**Malvy et al., 1998**).

III.3.6.Salmonella

La plupart des sérotypes de salmonelles connus sont pathogènes pour l'homme, l'animal ou les deux, comme *Salmonella Typhimurium* (STm) ou *Salmonella Enteritidis* (SE). (**Yves M., 1998**).Les salmonelles provoquent une toxi-infection typique, car elle nécessite l'ingestion d'un grand nombre de bactéries vivantes, multipliées dans l'aliment avec leur(s) toxine(s). C'est aussi, mais rarement une zoonose par contact direct. Chez l'homme, elles sont responsables de deux grandes catégories d'infections : la gastro-entérite d'origine alimentaire et la fièvre typhoïde, lorsque la dose infectante est importante (10^5 - 10^6 bactéries) (**Fauchere Et Avril, 2002; Hastings L. et al., 1996**).

Les viandes crues de volaille sont les principales cibles de la Salmonella. Les viandes crues ou insuffisamment cuites, le lait non pasteurisé, tout comme les fruits et les légumes, si

le sol dans lequel ils ont été cultivés a été contaminé par des déchets animaux (**Hastings L. et al., 1996**).

Symptômes

Chez l'humain, la salmonellose cause principalement des signes de gastroentérite, mais elle peut parfois conduire à une infection généralisée .La période d'incubation est de 6 à 72 heures. (**Zweifel C. et al., 2004**).

Les symptômes possibles sont : poussée de fièvre soudaine, maux de tête, diarrhée, crampes d'estomac, nausées, vomissements (**Fauchere Et Avril, 2002**).

I. Matériel et méthode

I.1.Objectif de l'étude

L'objectif de notre travail est l'analyse microbiologique du lait cru qui peut être un contrôle sanitaire, visant à protéger la santé animale et la santé humaine. Comme il peut être un contrôle de qualité dans le cadre du paiement du lait à sa qualité hygiénique et nutritionnelle (**Plusquellec, 1991**). Le contrôle de la qualité du lait cru se fait comme suit :

- Par l'évaluation de la qualité bactériologique du lait cru au niveau de quelques fermes de la wilaya de Bouira par la recherche des *Staphylococcus aureus*, des germes aérobies à 30° C, des *streptocoques fécaux*, des coliformes fécaux, des clostridium sulfite réducteurs et de l' *E. coli*.
- Par l'étude des techniques utilisées et des germes identifiés par le Laboratoire des hygiènes EPSP de Bouira à partir des prélèvements de lait cru.

I.2. La Région et période d'étude

Nous avons réalisé notre étude au niveau de quelques fermes de la wilaya de Bouira durant 5 mois.

La wilaya de Bouira est une ville Algérienne de 695583 habitants. Ses coordonnées géographiques sont : latitude 36.25 et longitude 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 Boumerdès et de Tizi Ouzou ; à l'est par les deux wilayas de Béjaïa 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).

La Wilaya de Bouira compte environ 42000 vaches, et produit 71 200 000 litres de lait (**l'Activité économique, Mai 2017**).

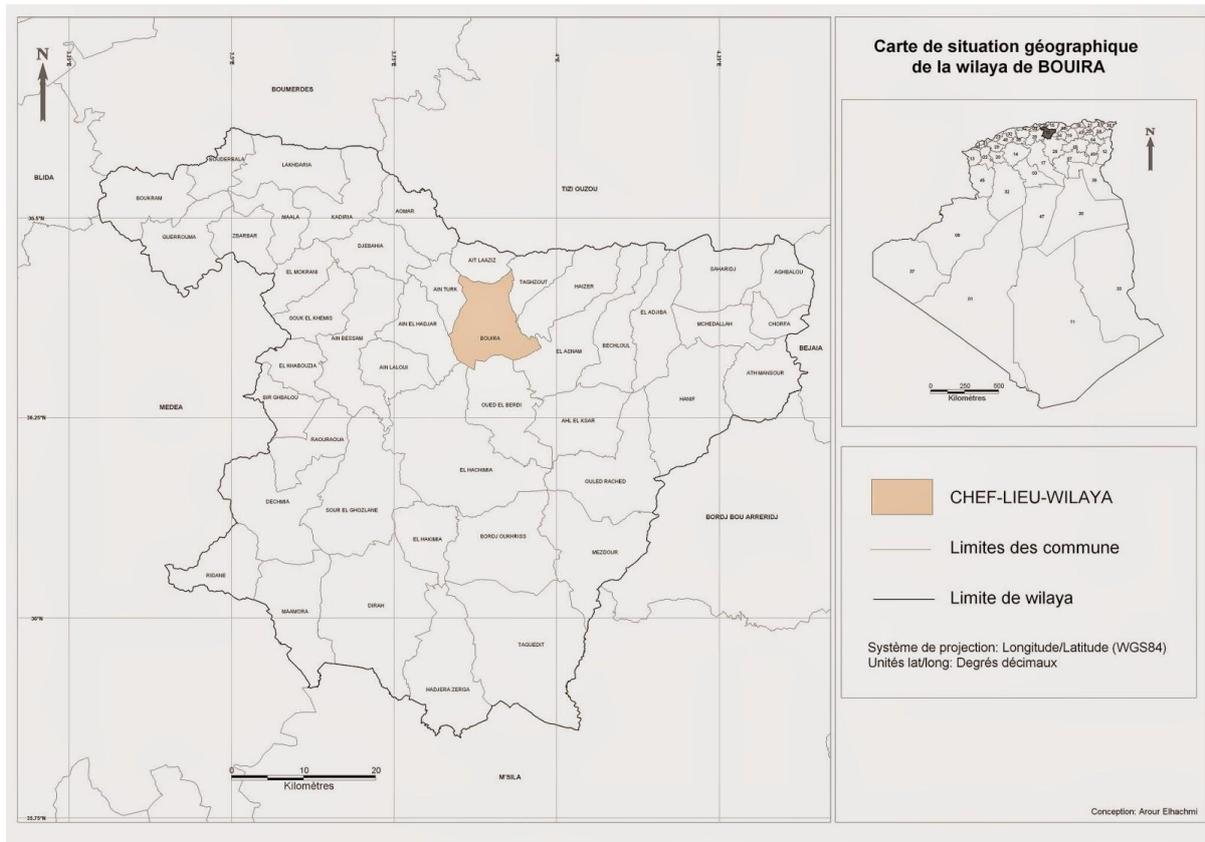


Figure 07: Représentation des régions de l'étude sur la carte géographique de Bouira.

I.3. Nombre de prélèvements et d'élevages étudiés : échantillonnage

Le nombre total d'échantillons de lait cru étudiés est de 20. Nous avons effectué ces prélèvements au niveau de plusieurs élevages de la wilaya de Bouira. Dans le tableau 2 (voir Annexe I) nous présentons le nombre de prélèvements par ferme visitée, la date de leur réalisation ainsi que l'état d'hygiène des étables lors de notre visite.

I.4. Technique de prélèvement du lait

Avant de prélever nos échantillons, nous avons procédé au lavage des mamelles avec du savon et de l'eau tiède. Après nettoyage nous avons rejeté les premiers jets et nous avons prélevé 50ml de lait dans un flacon stérile.

I.5. Transport des prélèvements du lait

Une fois les prélèvements effectués, ils sont immédiatement acheminés dans une glacière vers le laboratoire des hygiènes EPSP de Bouira. Les premières étapes de notre partie expérimentale au laboratoire sont entamées le jour même.

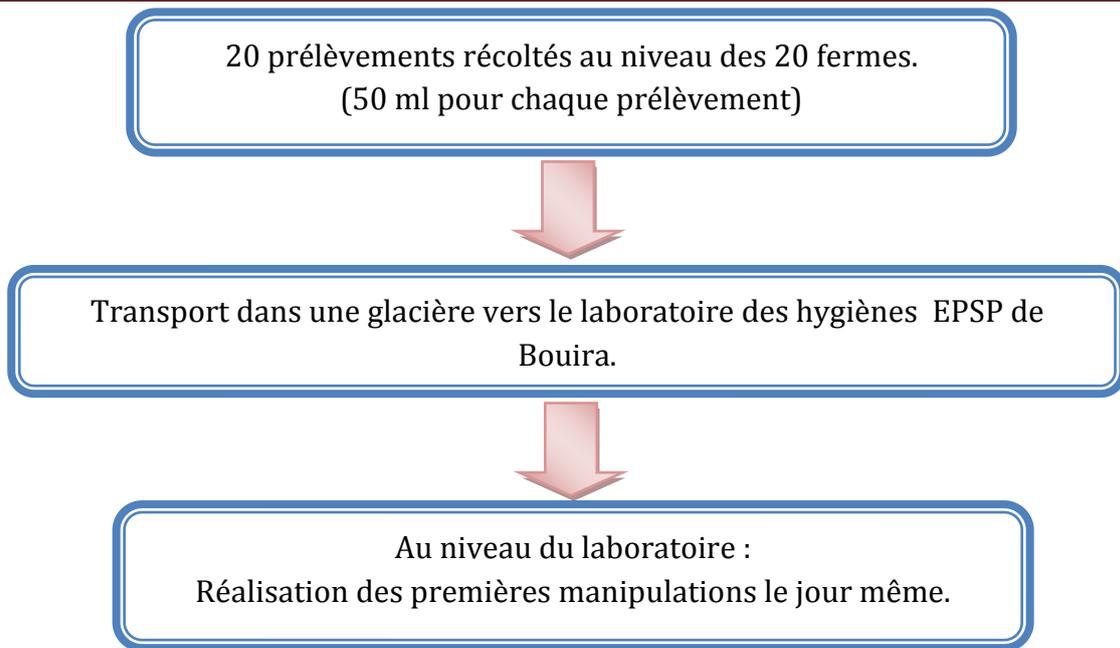


Figure 08 : Diagramme des différentes étapes de prélèvement.

I.6. Analyses bactériologiques du lait

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

L’arrêté interministériel du 24 janvier 1998, relatif aux spécificités microbiologiques de certaines denrées alimentaires, fixe les critères microbiologiques du lait cru ainsi que les modalités d’interprétation des résultats d’analyses microbiologiques, comme suit :

Tableau 3 : Spécificités microbiologiques du lait cru (J.O.R.A., 1998).

Bactéries recherchées dans le lait cru	n	c	m
Germes aérobies à 30°C.	1	-	10 ⁵
Coliformes fécaux.	1	-	10 ³
<i>Streptocoques fécaux.</i>	1	-	Absence/0.1ml
<i>Staphylocoques aureus.</i>	1	-	Absence
Clostridium sulfito-réducteurs à 46°C.	1	-	50
Antibiotiques.	1	-	Absence

« M » et « m » représente le nombre de germes dans 1 ml du lait cru.

m: seuil au- dessous duquel le lait cru est de qualité satisfaisante.

M : seuil limite d'acceptation au-delà duquel le lait est de qualité non satisfaisante et considéré comme toxique.

M = 10 m lors le dénombrement effectué en milieu solide.

M= 30 m lors du dénombrement effectué en milieu liquide.

n : nombre d'unités composant l'échantillon.

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

I.6.1.Matériels pour analyses microbiologiques

Matériel courant de laboratoire de microbiologie, et notamment :

1. Appareillage

- Homogénéisateur ;
- Etuves d'incubation ;
- Bain marie;
- Bec Bunsen ;
- Portoirs.

2. Verrerie :

- Pipettes graduées ;
- Pipettes Pasteur ;
- Boîtes de pétri ;
- Tubes à essai.

3. Milieux de culture :

1. Bouillons:

- TSE (tryptone sel eau)
- Milieu Rothe (simple et double concentration) ;
- Milieu Eva litsky ;
- Bouillon Giolitti cantoni;
- bouillon Schubert avec cloche de Durham.

2. Milieu solide (gélose)

- Les milieux de culture hydratés prêts à l'emploi conditionnés en flacon de 250ml ou 180ml utilisés sont :
- Milieu VRBL ;
- Gélose Chapman;
- Gélose PCA;
- Gélose viande- foie (VF) ;

3. Les additifs

- Solution Tellurite de potassium ;
- Solution Alun de fer;
- Solution sulfite de sodum ;

4. Réactif

- réactif de Kovacs,

I.6.2. Préparation des solutions mères et dilutions

Dilution : 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 ml de lait, après homogénéisation, on répartit stérilement 25 ml 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 embouts jetables.)
3. Après avoir homogénéisé par agitation le contenu du tube N° 1, on en transfert 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} (Bourgeois et Leveau, 1991).

La méthode utilisée est résumée dans la figure 9.

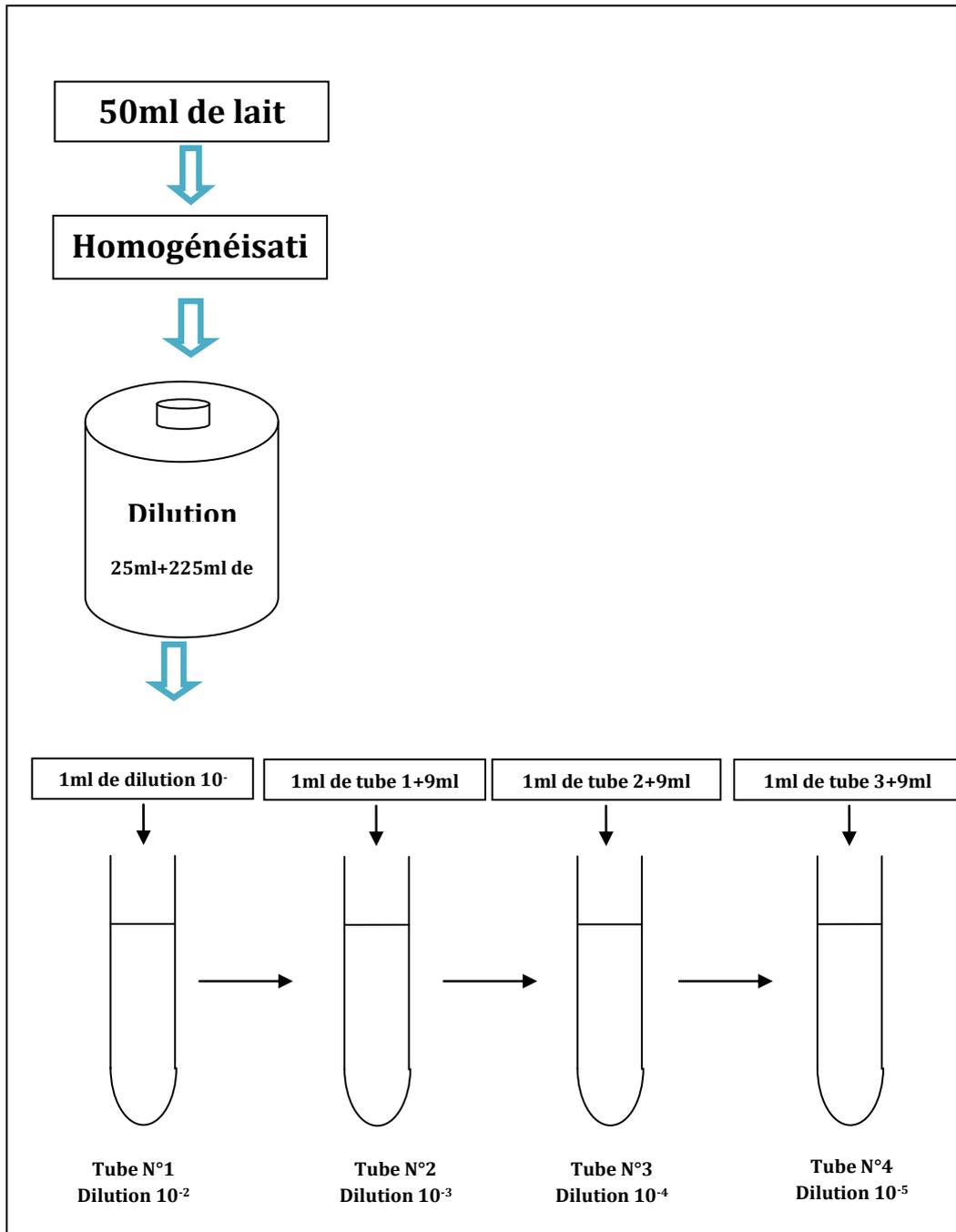


Figure 09 : Diagramme de la méthode utilisée pour la préparation de la solution mère et des dilutions.

I.6.3. Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30° C

- **Mode opératoire :** L'ensemencement se fait en profondeur.
 1. Après identification des boîtes, déposer stérilement 1 ml de lait cru de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) homogénéiser.
 2. Couler 12 à 15 ml de gélose PCA fondue au préalable et refroidie dans un bain d'eau à 45°C ou dans une étuve à 50°C.
 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, ensuite 6 « allers et retours » de haut en bas et 6 autres de gauche à droite en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis laisser refroidir.
 4. Rajouter 5 ml de la gélose PCA.
 5. Les boîtes seront incubées dans une étuve à 30°C pendant 72h avec :
 - Première lecture : 24h.
 - Deuxième lecture : 48h.
 - Troisième lecture : 72h.

La méthode utilisée est résumée dans le diagramme de la figure 10.

- **Dénombrement :** Pour interpréter les résultats, on doit tenir compte seulement des boîtes qui contiennent entre 30 et 300 colonies (en surface et dans la masse),

On compte toutes les colonies de tailles et de formes différents (Bourgeois et Leveau, 1991). (Figure 11, Annexe IV) La moyenne du dénombrement est réalisée selon la formule suivante :

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

N : nombre de micro-organismes par ml.

Σc : 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.

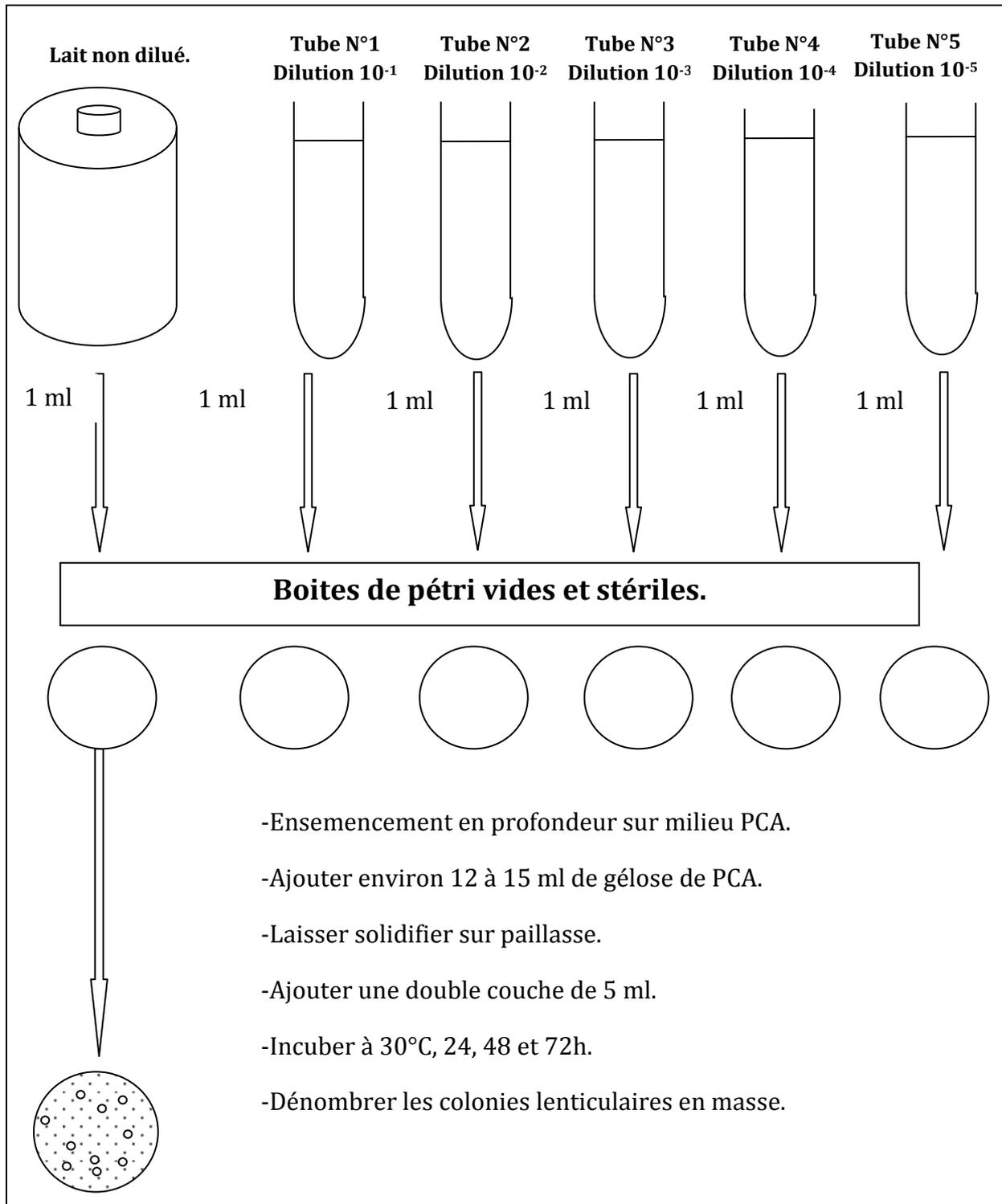


Figure 10 : Diagramme de Recherche et dénombrement des germes aérobies à 30°C.

I.6.4. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux à 44°C et *Escherichia coli*

Les *coliformes fécaux* sont des entérobactéries qui possèdent la capacité de se multiplier 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 des *coliformes fécaux* dans le lait cru est un indice de contamination fécale (Lapied et Petransxiene, 1981).

- **Mode opératoire**

- **1^{ère} étape:** l'inoculation (test présomptif).

L'ensemencement se fait en profondeur.

1. Après identification des boîtes, déposer stérilement 1 ml chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}).homogénéiser.
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.
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, ensuite 6 « allers et retours » de haut en bas et 6 autres de gauche à droite en prenant garde de ne pas faire d'éclaboussures, puis laisser refroidir.
4. Rajouter 5 ml de la gélose VRBL.

Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 44°C pendant 24h, 48h (figure 12).

- **Lecture**

Après la période d'incubation, procéder au comptage des colonies caractéristiques de coliformes totaux (violacées, d'un diamètre de 0.5 mm au plus et entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile) (voir la figure 14 Annexe IV).

- **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:

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

N : nombre de micro-organismes par ml.

Σc : la somme des colonies comptées sur les deux boites retenues.

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

- **2^{ème} étape**

Repiquage sur milieu de confirmation (test confirmatif)

Prendre quelques colonies dans les boites pétries positives de la recherche des coliformes fécaux de 1^{ère} étape, et l'introduire dans des tubes de bouillon Schubert avec cloche de Durham puis incubé à 37°C pendant 24h. (Figure 13).

- **Lecture**

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

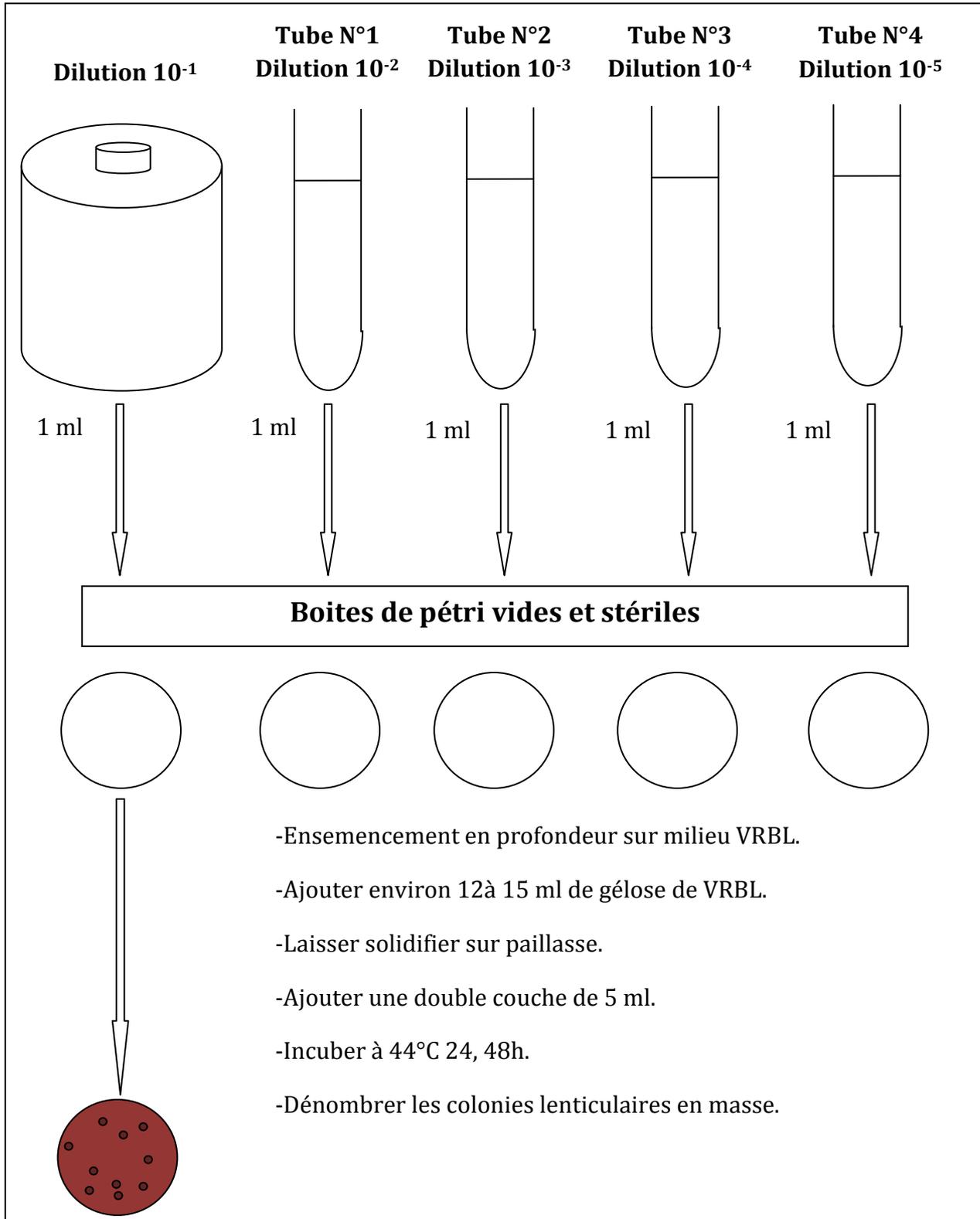


Figure 12 : Diagramme de Recherche et dénombrement des coliformes fécaux à 44°C.

(Test présomptif).

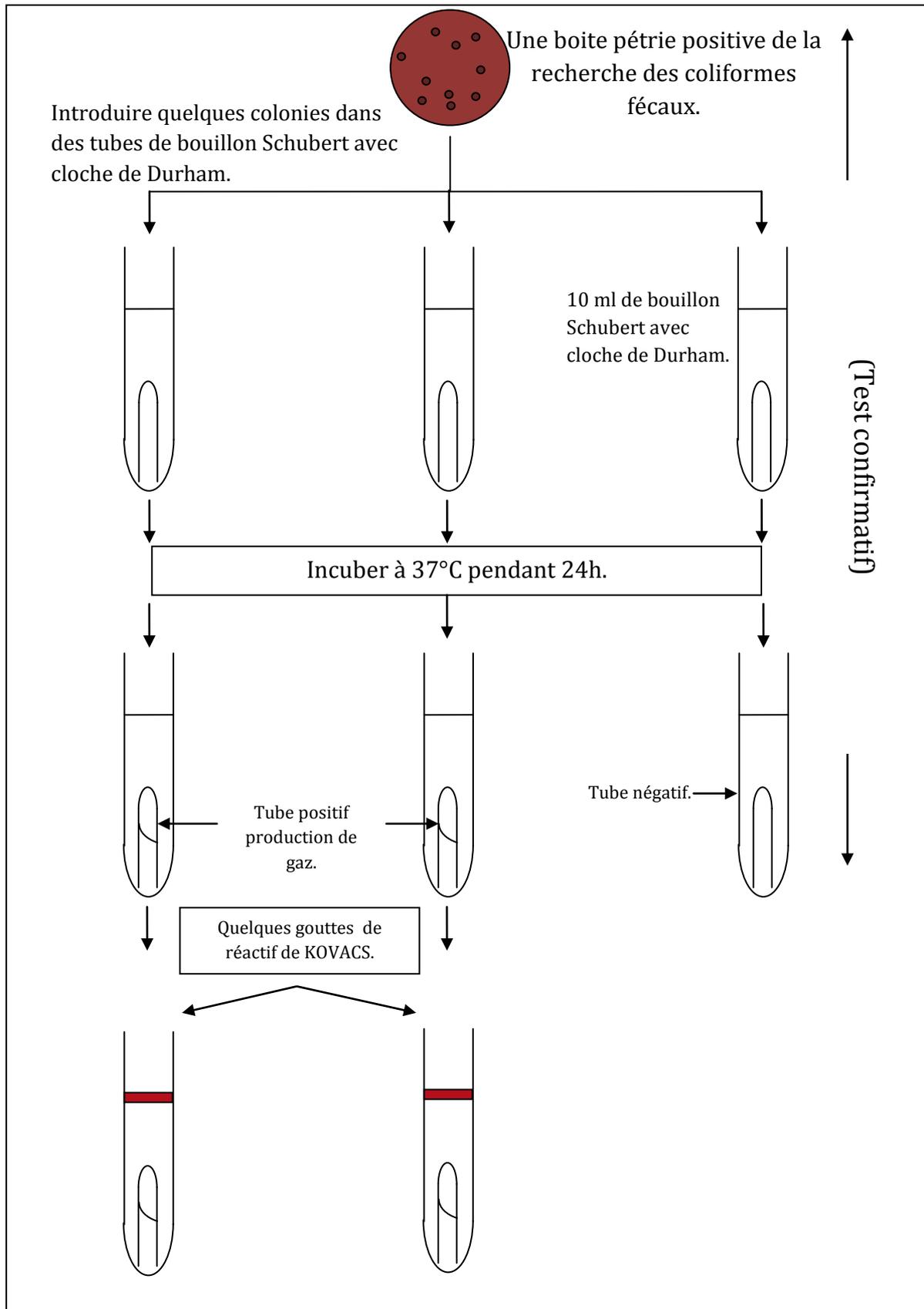


Figure 13 : Diagramme présente le test confirmatif et méthode de Recherche d'*Escherichia Coli*.

❖ **Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli***

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 Kovacs au tube contenant le bouillon Schubert avec la cloche du Durham positif pour la révélation de l'indole.

• **Lecture de résultats**

Les résultats est positif lorsqu'il y'a virage de couleur et production de gaz dans la cloche de Durham, et l'apparition d'anneau rouge en surface. (Figure 15, Annexe IV).

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

I. 6.5. Recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux*

Les *streptocoques fécaux* sont dénombrés par la technique du NPP (nombre plus probable) à l'aide de deux milieux de culture (Rothe et Eva Litsky). Cette méthode fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Test de présomption (réaction positive en 48h à 37°C).
- Test de confirmation (réaction positive en 24h à 37°C).

I.6.5.1. Test de présomption

• **Mode opératoire**

Préparation dans un portoir d'une série de 09 tubes contenant le milieu sélectif de Rothe (10 ml) à raison de trois tubes par dilution.

A partir des dilutions décimales 10^{-1} à 10^{-3} , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée comme l'indique la figure 16, puis mélanger soigneusement et doucement le milieu. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h à 48h.

- **Lecture**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant un trouble avec ou sans dépôt blanchâtre dû à la croissance bactérienne. Ces derniers feront systématiquement l'objet d'un test de confirmation, il n'ya pas de dénombrement à ce niveau. (Figure 17 Annexe IV).

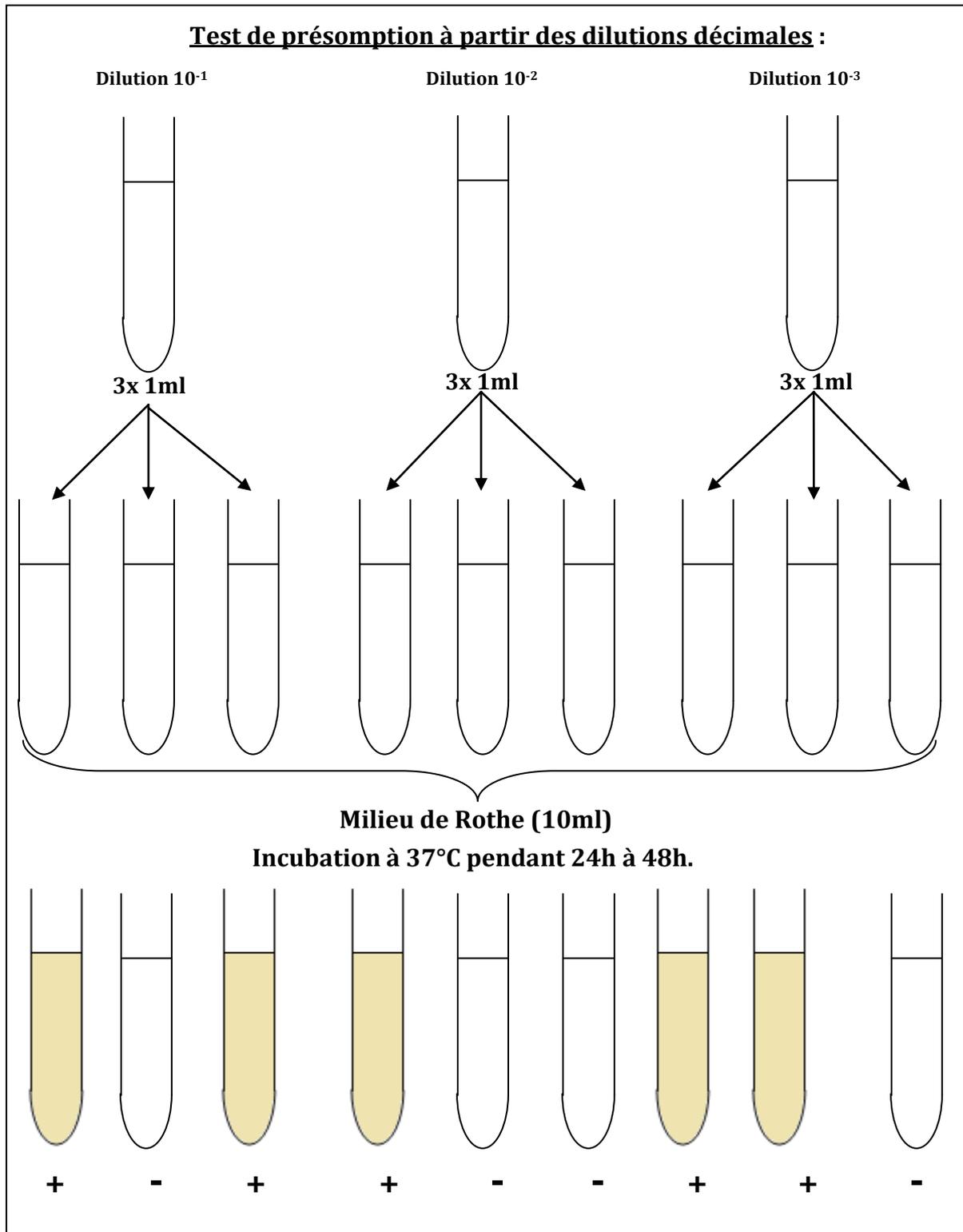


Figure 16 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux* (test de présomption).

I.6.5.2. Test de confirmation

- **Mode opératoire**

Ce dernier consiste à repérer et à numéroter les tubes positifs sur milieu de Rothe qui feront l'objet d'un repiquage (2 à 3 gouttes) sur milieu Eva Lytski, à l'aide d'une anse bouclée. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h. (Figure 18)

- **Lecture et interprétation**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

-Un trouble microbien.

-Une pastille blanchâtre au fond du tube dûe à la croissance bactérienne (Figure 19 Annexe IV).

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

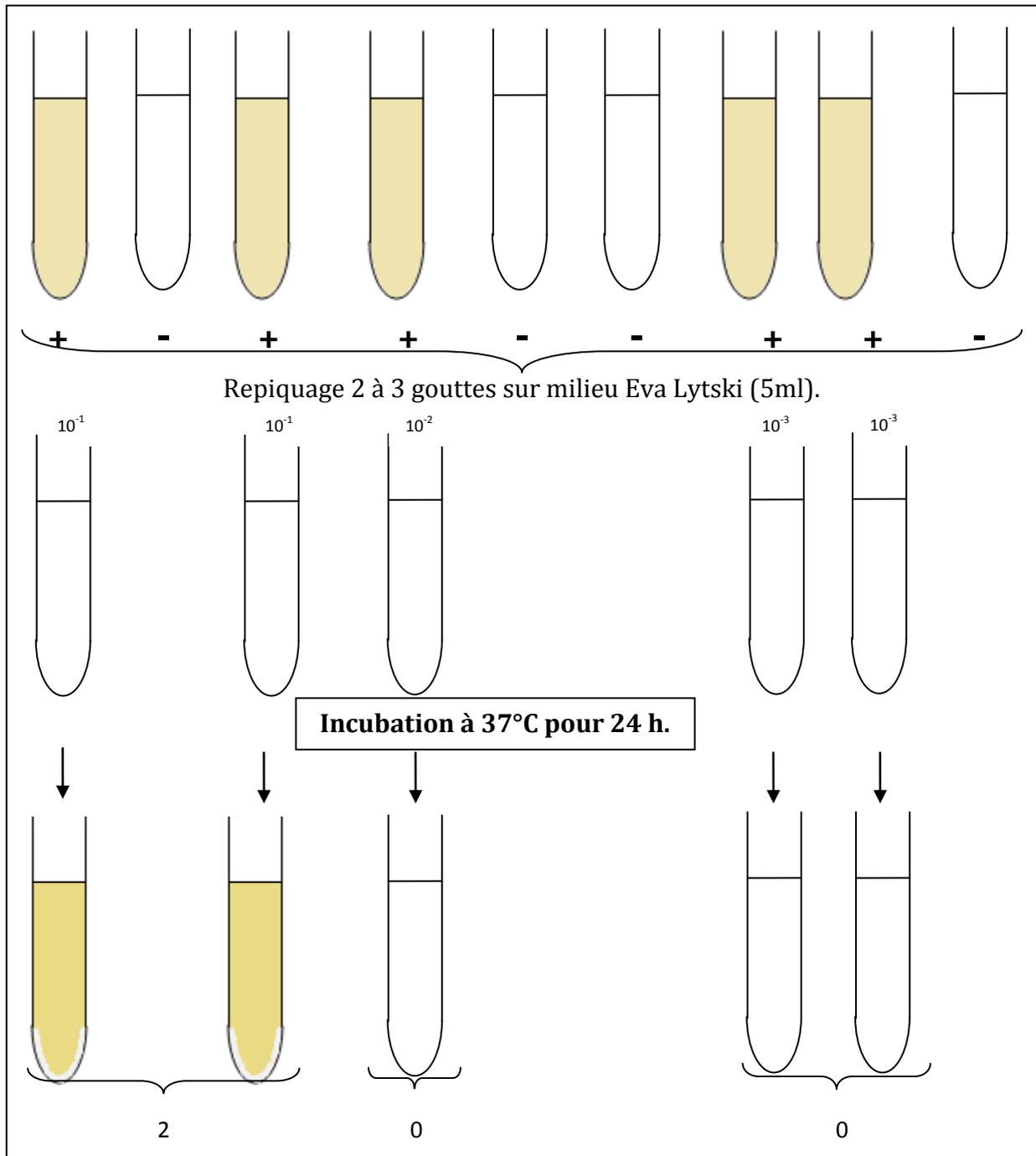


Figure 18: Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux* (test de confirmation).

I.6.6. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus à coagulase positive est la principale espèce bactérienne entérotoxigène. En effet l'ingestion d'enterotoxines staphylococciques présentes dans les aliments provoque un syndrome gastro-intestinal ou toxi-infection alimentaire (T I A) à staphylocoques (Bourgeois et al., 1996).

- **Mode opératoire**

Préparation des milieux d'enrichissement :

Au moment d'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon de 180 ml contenant le milieu Giolliti Cantoni pour y ajouter 2.8 ml de solution de tellurite de Potassium, mélanger soigneusement, le milieu est prêt à l'emploi.

Préparation dans un portoir une série de 05 tubes à vis stériles, contenant 15 ml du milieu d'enrichissement (bouillon Giolitti Cantoni) à raison d'un tube par dilution.

A partir des dilutions décimales 10^{-1} à 10^{-5} , porter aseptiquement 1 ml dans chacun des Cinq tubes correspondant à une dilution donnée comme l'indique la figure 20, puis mélanger soigneusement et doucement le milieu.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24h à 48h.

- **Lecture**

Seront considérés comme positifs, les tubes ayant viré au noir (Figure 21).

Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'un isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîtes de pétri et bien séchée.

Les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leurs tour à 37°C pendant 24h à 48h Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir celles de taille moyenne, lisses, pigmentées en jaune.

- **Confirmation par essai de coagulase :**

Prélever les colonies suspectes puis les ensemercer dans 1ml de TSE et en ajoute 1 ml du plasma humain, le volume total de 2 ml incubé à 37°C de 02 à 24h.

- **Lecture**

L'épreuve est reconnue positive lorsque le coagulum occupe plus $\frac{3}{4}$ du volume initial. La moyenne de dénombrement est réalisée selon la formule suivante :

$$N=1x (1/d)$$

N : nombre de micro-organismes par ml.

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

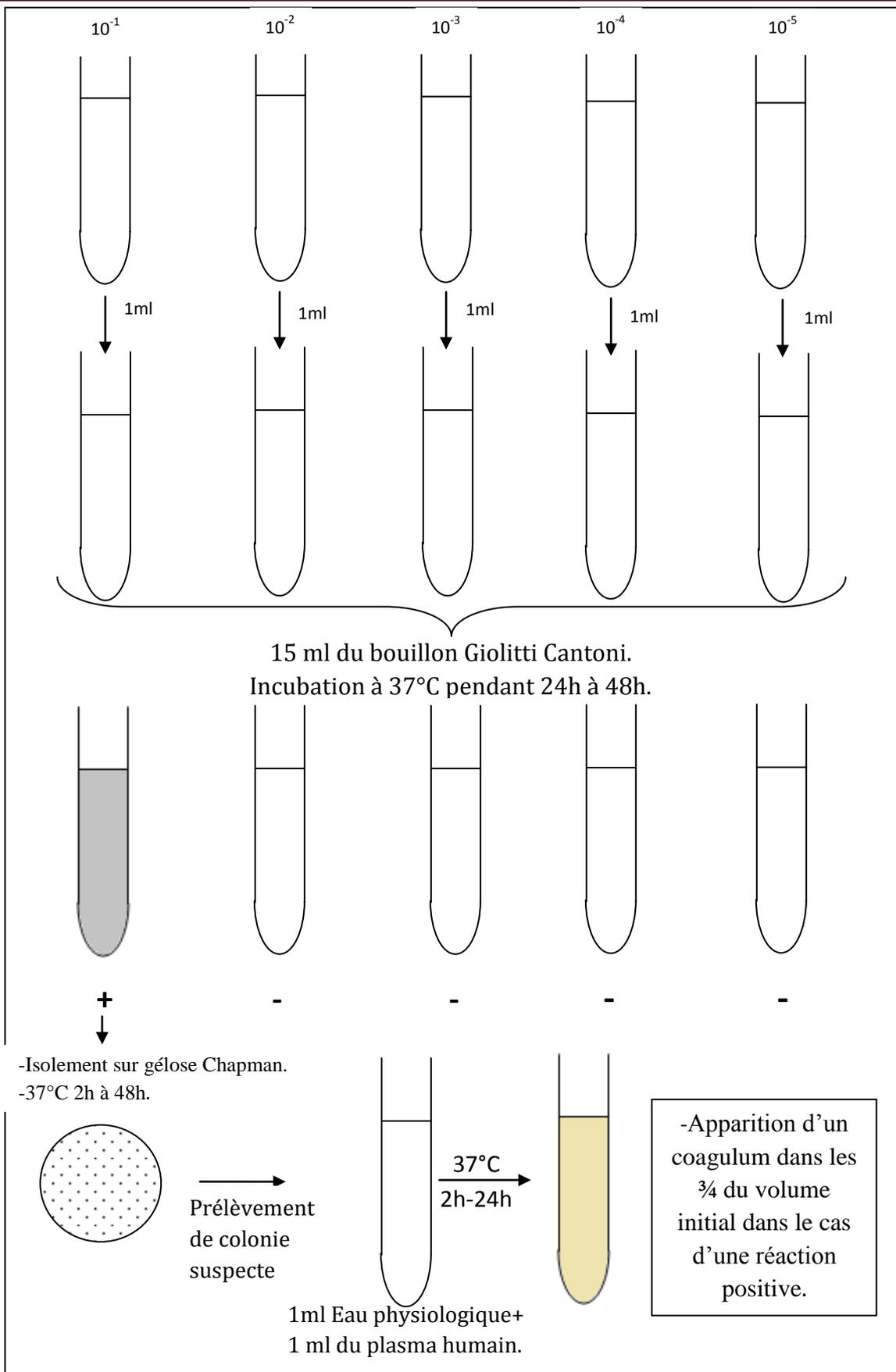


Figure 21 : Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement de *staphylococcus aureus*.

I.6.7. Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs

Les clostridium sulfito-réducteurs sont considérés comme germes témoins de la contamination.

- **Mode opératoire**

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des bactéries d'anaérobiose des bactéries sulfito-réducteur, ces dernières forment en anaérobiose, des colonies caractéristiques noires.

Préparation du milieu :

En moment de l'emploi, faire fondre le flacon contenant 225 ml de gélose viande foie, le refroidir ensuite à 45°C, puis ajouter une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium. Mélanger soigneusement, le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 50°C jusqu'au moment de l'utilisation sans le conserver plus de 24h.

Ensemencement :

Les tubes contenant de lait et les dilutions seront soumis :

- D'abord à un chauffage 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.

A partir de ces tubes, porter aseptiquement 1 ml de chaque tube (lait, 10^{-1} , 10^{-2}) dans un tube à vis stérile, puis ajouter environ 15 ml de gélose VF prête à l'emploi, dans chaque tube. Laisser solidifier sur la paillasse pendant 30 minutes.

L'incubation se fait à 46°C pendant 24h à 48h (Figure 22).

- **Lecture**

-La lecture 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 de nombre des colonies par millilitre.

-La moyenne de dénombrement est réalisée selon la formule suivante :

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

N : nombre de micro-organismes par ml.

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

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

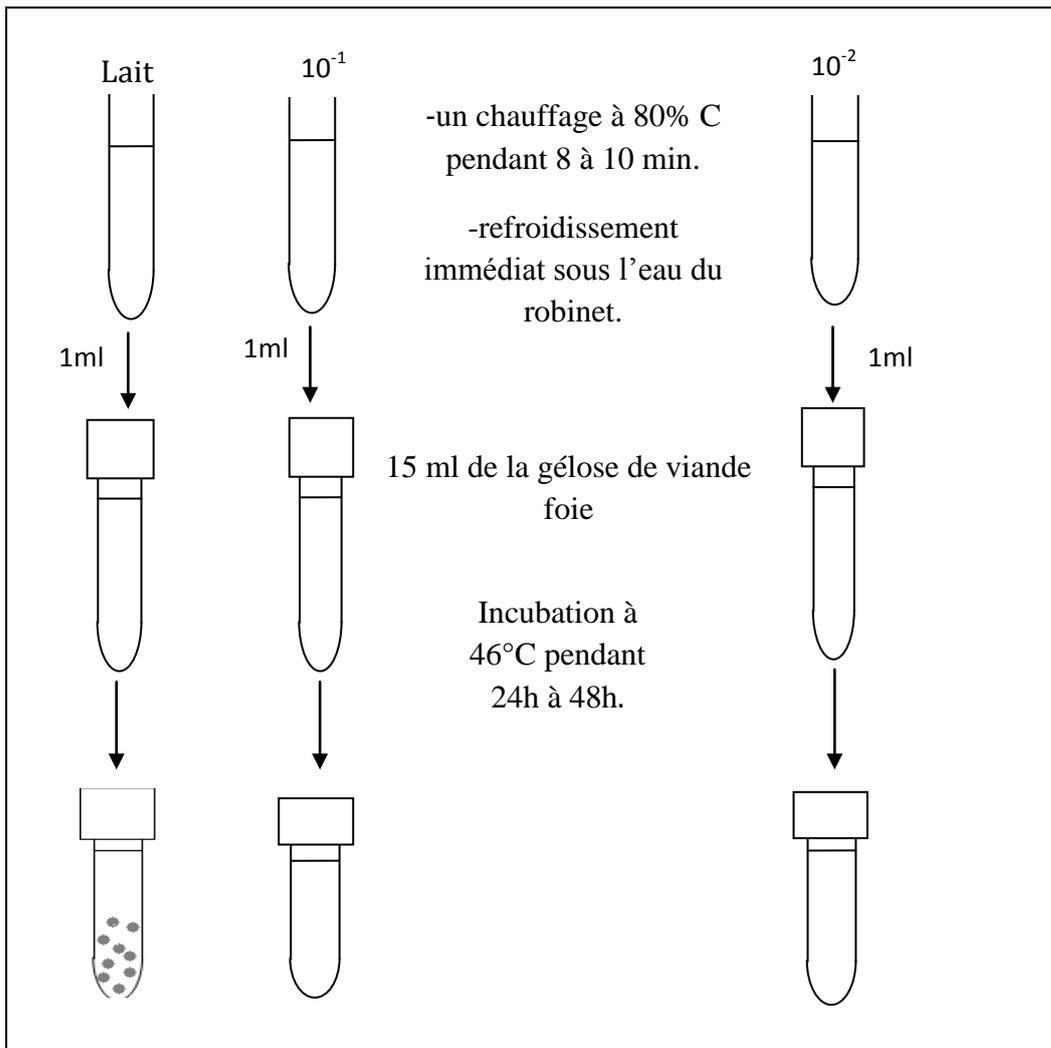


Figure 22: Diagramme de la méthode de recherche et dénombrement des Clostridium sulfitoréducteurs.

II. Résultats et interprétations

II.1. Résultats

L'ensemble de nos résultats bactériologiques est résumé dans le tableau ci-dessous :

Tableau 04: Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements analysés.(UFC/ml)

	G. à 30° (UFC/ml)	CF (UFC/ml)	<i>S. aureus</i> (UFC/ml)	Strepto. (UFC/ml)	<i>E.Coli</i> (UFC/ml)	CSR (UFC/ml)
1	1,1x10 ⁴	Abs	10	Abs	Abs	Abs
2	1,6x10 ⁵	7,1x10 ²	10 ²	1,5x10 ²	Abs	Abs
3	2,2x10 ⁷	1,3x10 ⁵	10 ²	1,5x10	1,5x10	Abs
4	1,9x10 ⁶	1,2x10 ⁵	10 ³	1,1x10 ²	9	Abs
5	4,1x10 ³	Abs	Abs	4	Abs	Abs
6	9,5x10 ⁴	1,5x10 ²	10	1,1x10 ³	Abs	Abs
7	4,9x10 ⁵	1,5x10 ²	Abs	1,4x10 ³	Abs	Abs
8	1,1x10 ⁴	Abs	10 ⁵	2,9x10	Abs	Abs
9	3x10 ⁴	7,2x10 ³	Abs	1,4x10 ³	Abs	Abs
10	2,8x10 ⁴	10 ⁴	10 ³	2,1x10 ²	Abs	Abs
11	2,7x10 ⁵	8,6x10 ²	10 ²	1,5x10	Abs	Abs
12	Abs	7,2x10 ²	10 ⁵	4,6x10 ²	Abs	Abs
13	2,7x10 ⁶	Abs	10 ³	2,1x10 ²	Abs	Abs
14	1,1x10 ⁴	3x10 ²	10 ²	1,5x10	Abs	Abs
15	2x10 ⁵	1,2x10 ⁵	10 ³	1,5x10 ²	4	Abs
16	1,2x10 ⁶	2x10 ²	10	2,8x10	Abs	Abs
17	2,3x10 ⁶	3,4x10 ²	10 ⁵	2,4x10 ²	Abs	Abs

18	10^3	$5,2 \times 10^2$	10^2	$7,5 \times 10$	Abs	Abs
19	$1,6 \times 10^6$	2×10^2	10^3	$7,5 \times 10$	Abs	Abs
20	$2,6 \times 10^5$	3×10^4	10^2	$1,5 \times 10$	4	Abs
moyenne	$1,7 \times 10^6$	$2,1 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$2,9 \times 10^2$	1,6	Abs
écart type	$4,9 \times 10^6$	$4,5 \times 10^4$	$3,6 \times 10^4$	$4,5 \times 10^2$	3,9	Abs

G à 30° : germes à 30°, **CF**: coliformes fécaux, **S. aureus**: *staphylococcus aureus*, **Strepto f .:** *Streptocoques fécaux*, **E.Coli**: *Escherichia Coli*, **CSR**: clostridiuims sulfito-réducteurs.

II.2. Interprétation des résultats

L'interprétation a été réalisée en référence aux normes établies par l'arrêté interministériel du 27Mai 1998.

Tableau 05: Tableau récapitulatif des résultats de l'analyse bactériologique.

Germes recherchés	Lait cru selon les normes (j.o, 1998) « m » (UFC/ml)	Moyenne (UFC /ml)
Germes aérobies à 30°C	10^5	$1,7 * 10^6$
<i>Coliformes fécaux</i>	10^3	$2,1 * 10^4$
<i>Escherichia Coli</i>	Absence	1,6
<i>Streptocoques fécaux</i>	Absence / 0,1ml	$2,9 * 10^2$
<i>Staphylocoques aureus</i>	Absence	$1,5 * 10^4$
Clostridium sulfo- réducteurs à 46°C	50	Absence

Selon le journal officiel (27/05/1998) cette interprétation a été faite selon trois classes dont le principe fixe trois niveaux de contamination, à savoir :

- Celle inférieure ou égale au critère « m » qualité satisfaisante :

<3m en milieu solide.

<10m en milieu liquide.

- Celle compris entre le critère « m » et « M » qualité acceptable.
- Celle supérieur au seul « M » qualité non satisfaisante.

II.2.1. Application pratique

1- La qualité du lait cru considérée comme satisfaisante ou acceptable en application de l'article de l'arrêté du 23 juillet 1994, si aucun résultat ne dépasse M.

Avec : M= 10m en milieu solide ; M=30m en milieu liquide.

2- La qualité du lait cru considérée comme acceptable quand les valeurs observées sont inférieurs à 3m en milieu solide ou inférieur à 10m en milieu liquide.

3- La qualité du lait cru considérée comme non satisfaisantes quand les résultats obtenu sont supérieure à M.

4- Mes expressions :

-« absence » : les résultats considérés comme satisfaisantes.

-« présence » : les résultats considérés comme non satisfaisantes. Dans ce cas le produit est considéré comme impropre à la consommation.

II.2.2. Les moyennes du dénombrement microbiologique du lait

Tableau 06 : taux de contamination moyens des échantillons de lait cru analysés pour les six indicateurs bactériens (Par Log₁₀ UFC/ml).

	Log ₁₀ (Germes à 30°C)/ml	Log ₁₀ (CF) /ml	Log ₁₀ (<i>s.aureu</i>) /ml	Log ₁₀ (stript. Fécaux)/ml	Log ₁₀ (<i>E.coli</i>)/ml	Log ₁₀ (CSR) /ml
Les normes selon J.O.	5	3	Abs	Abs	Abs	1,7
Moyenne± écart type	6,22±6,68	4,31±4,66	4,20±4,57	2,47±2,66	0,16±0,59	Abs

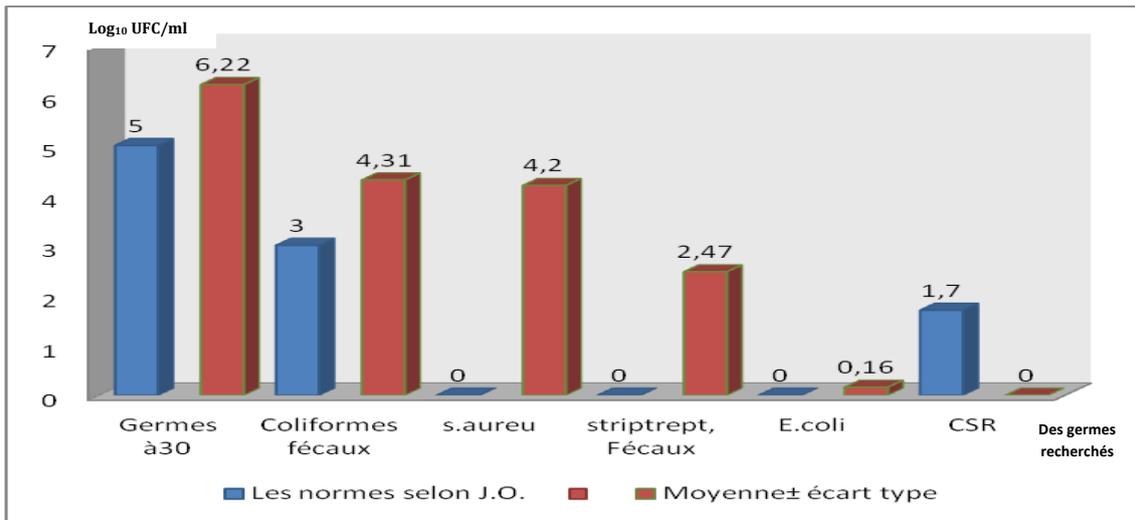


Figure 23 : Histogramme de contamination moyenne des échantillons de lait cru analysés pour les six indicateurs bactériens.

II.2.3. Interprétation des résultats des Germes à 30°C

-Les valeurs observées sur les échantillons : 1, 2, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 18 et 20 sont inférieures à 3m, donc ils sont de qualité satisfaisante.

-La valeur observée sur l'échantillon : 7 est comprise entre 3m et 10m (M), donc il est de qualité acceptable.

-Les valeurs observées sur les échantillons : 3, 4, 13, 16, 17 et 19 sont supérieurs à 10m (M), sont de qualité non satisfaisante.

Tableau 07: taux de contamination par des germes à 30°C:

	Satisfaisante	Acceptable	Non satisfaisante	Totale(%)
Germes à 30°C	65% (13)	5% (1)	30% (6)	100% (20)

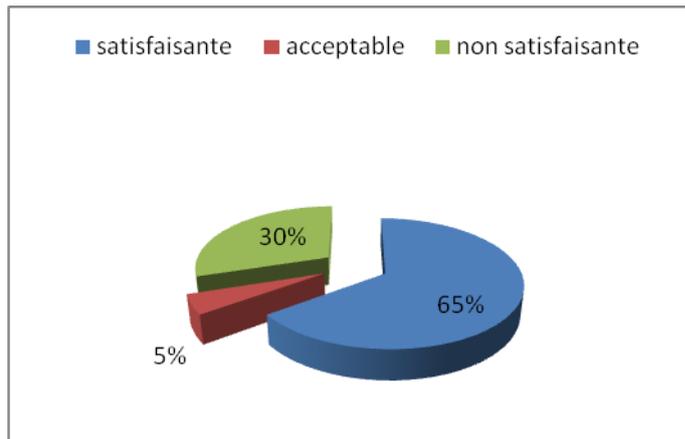


Figure 24: Diagramme des taux de contamination par les germes à 30°C.

Tableau 08: Moyenne du dénombrement des Germes à 30°C.

	La norme selon J.O.	Moyenne
Log ₁₀ (Germe à 30°C)/ml	5	6.22

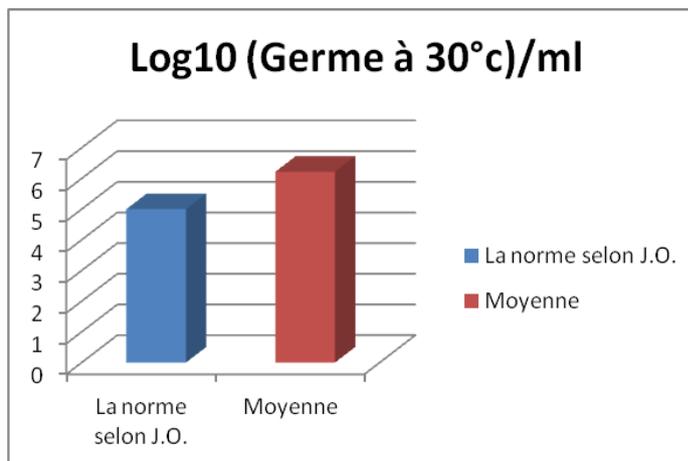


Figure 25: Histogramme du Moyenne du dénombrement des Germes à 30 °C.

II.2.4. Interprétation des résultats des coliformes fécaux

-Les valeurs observées sur les échantillons: 1, 2, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18 et 19 sont inférieures à 3m, donc ils sont de qualité satisfaisante.

-Les valeurs observées sur les échantillons : 9 et 10 sont comprises entre 3m et 10m(M) sont de qualité acceptable.

-Les valeurs observées sur les échantillons : 3, 4, 15 et 20 sont supérieur à 10m (M) sont de qualité non satisfaisante.

Tableau 09: Taux de contamination des coliformes fécaux.

	Satisfaisante	Acceptable	Non satisfaisante	Totale(%)
Coliformes F.	70% (14)	10% (2)	20% (4)	100% (20)

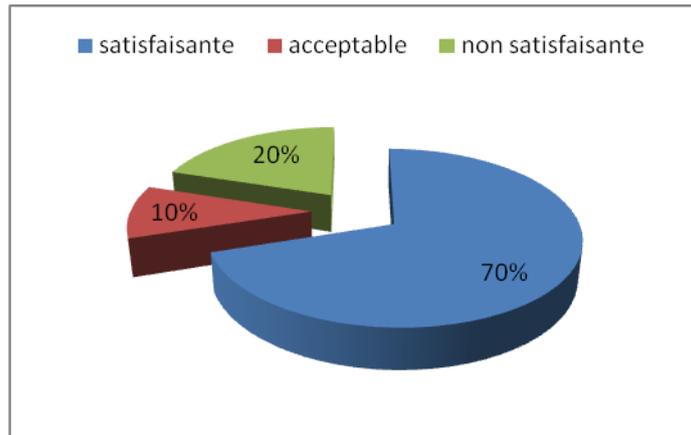


Figure 26: Diagramme des taux de contamination par les coliformes fécaux.

Tableau 10: Moyenne du dénombrement des Coliformes fécaux.

	La norme selon J.O.	Moyenne
Log₁₀ (Coliformes fécaux)/ml	3	4,31

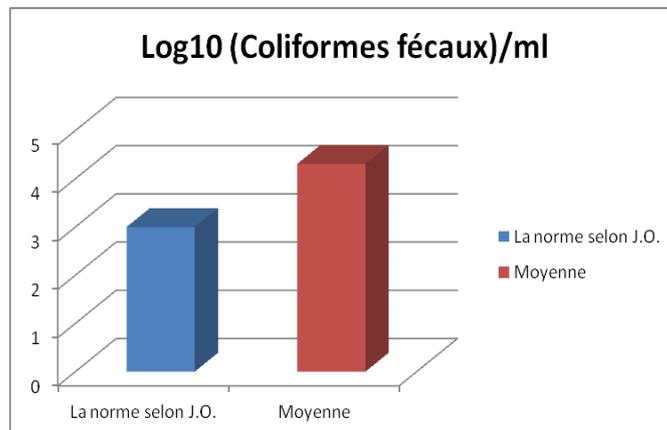


Figure 27: Histogramme du Moyenne du dénombrement des Coliformes fécaux.

II.2.5. Interprétation des résultats des *Staphylococcus aureus*

-Les valeurs observées sur les échantillons: 5, 7 et 9 sont des résultats négatifs, donc sont de qualité satisfaisante.

-Les valeurs observées sur les échantillons: 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 et 20 sont des résultats positifs, donc de qualité non satisfaisante.

Tableau 11: Taux de contamination par les *Staphylococcus aureus* .

	Satisfaisante	Non satisfaisante	Totale(%)
<i>S. aureus</i>	(3) 15%	(17) 85%	100% (20)



Figure 28: Diagramme des taux de contamination par *Staphylococcus aureus*.

Tableau 12: Moyenne du dénombrement des *Staphylococcus aureus*.

	La norme selon J.O.	Moyenne
Log_{10} (<i>Staphylococcus aureus</i>)/ml	Abs	4,20

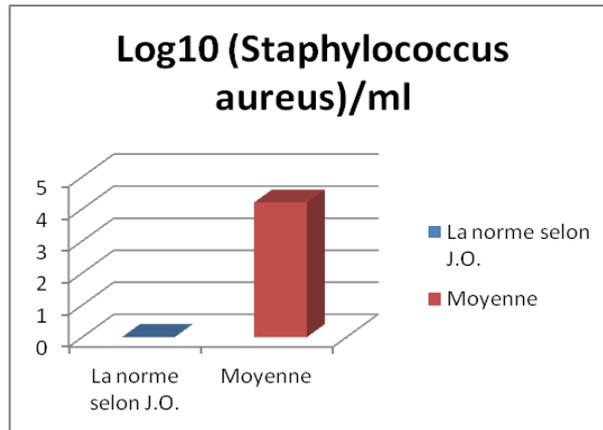


Figure 29: Histogramme du Moyenne du dénombrement des *Staphylococcus aureus*

II.2.6. Interprétation des résultats des *Streptocoques fécaux*

-La valeur observée sur l'échantillon: 1 est un résultat négatif, donc il est de qualité satisfaisante.

- Les valeurs observées sur les échantillons:2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 et 20 sont des résultats positifs, donc de qualité non satisfaisante.

Tableau 13: Taux de contamination par les *streptocoques fécaux*.

	Satisfaisante	Non satisfaisante	Totale(%)
<i>Streptocoques fécaux</i>	(1) 5%	(19) 95%	100% (20)



Figure 30: Diagramme des taux de contamination par *streptocoques fécaux*.

Tableau 14: Moyenne du dénombrement des *streptocoques fécaux*.

	La norme selon J.O.	Moyenne
Log₁₀ (<i>streptocoques fécaux</i>)/ml	Abs	2,47

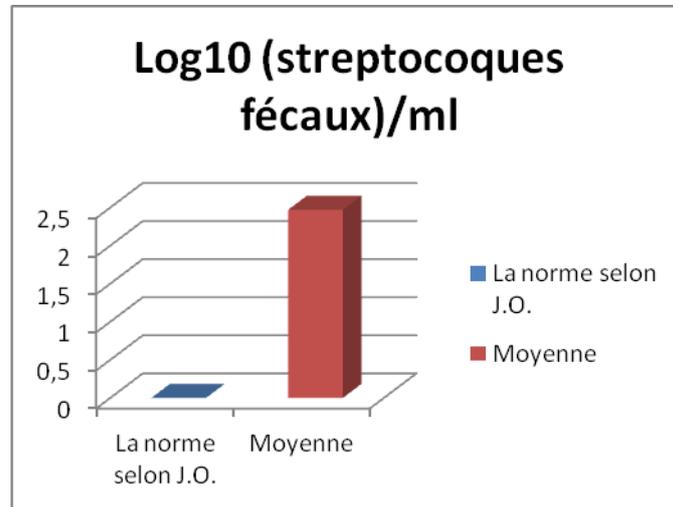


Figure 31 : Histogramme du Moyenne du dénombrement des *streptocoques fécaux*.

II.2.7. Interprétation des résultats d'*Escherichia coli*

-La valeur observée sur l'échantillon:1,2,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,16,17,18 et 19 sont des résultats positifs, donc de qualité satisfaisante.

-Les valeurs observées sur les échantillons:3, 4, 15 et 20 sont des résultats positifs, donc de qualité non satisfaisante.

Tableau 15: Taux de contamination par *Escherichia coli*.

	Satisfaisante	Non satisfaisante	Totale(%)
<i>Escherichia coli</i>	80% (16)	20% (4)	100% (20)



Figure 32: Diagramme des taux de contamination par *Escherichia coli*.

Tableau 16 : Moyenne du dénombrement d'*Escherichia coli*.

	La norme selon J.O.	Moyenne
Log_{10} (<i>Escherichia coli</i>)/ml	Abs	0,16

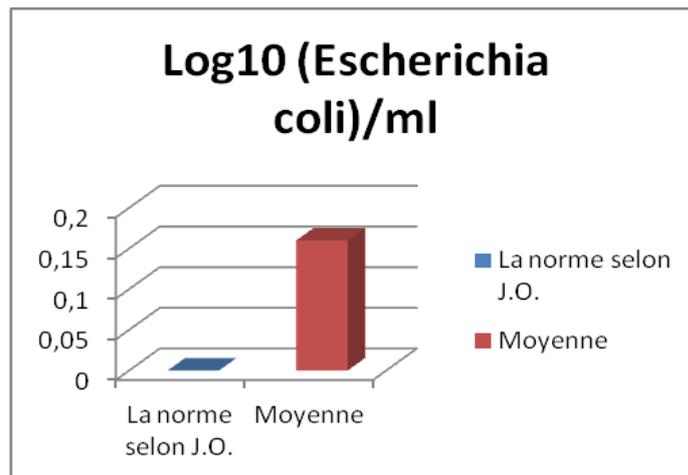


Figure 33: Histogramme du Moyenne du dénombrement d'*Escherichia coli*

II.2.8. Interprétation des résultats des Clostridium sulfito-réducteur

Les résultats observés dans nos échantillons sont de qualité satisfaisante.

	Satisfaisante	Non satisfaisante	Totale(%)
CSR	100% (20)	0% (0)	100% (20)

Tableau 17: Taux de contamination par les Clostridium sulfito-réducteur.



Figure 34: Diagramme des taux de contamination par les Clostridium sulfito-réducteur.

Tableau 18: Moyenne du dénombrement des CSR.

	La norme selon J.O.	Moyenne
Log₁₀ (CSR)/ml	1.7	Abs

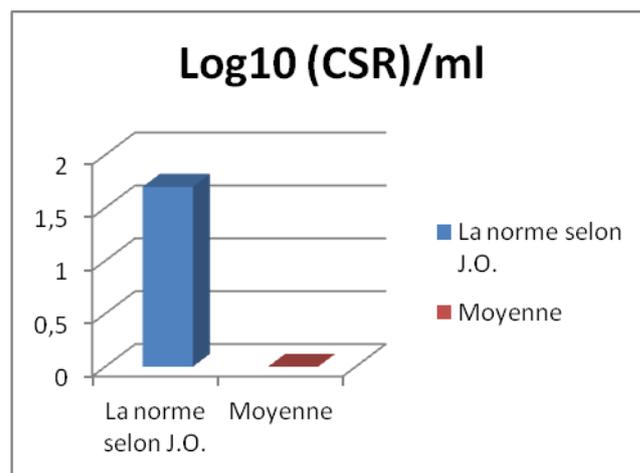


Figure 35: Histogramme du Moyenne du dénombrement des CSR.

II.2.9. Les Analyses statistiques

Les résultats de différentes analyses ont été traités par le test KHI-DEUX (logiciel Stat View 5.0 - SAS Institute) :

Tableau 19 : Les résultats de différentes analyses ont été traités par le test KHI-DEUX .

Germes	Les normes selon J.O 1998 (UFC/ml)	Les moyennes (UFC/ml)	P _{cal}
Germes à 30°C	10 ⁵	1,7 x10 ⁶	0,8238
Coliformes fécaux	10 ³	2.1x10 ⁴	0,1153
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abc	1.5x10 ⁴	<0.0001 (***)
<i>Streptocoques fécaux</i>	Abc	2,9*10 ²	<0,0001 (***)
<i>Escherichia Coli</i>	Abc	1,6	0.1250
CSR	50	Abc	<0.001

Ce teste consiste à calculer une valeur (P_{cal}) pour les 20 échantillons de chaque germe, celle-ci sera comparé à la valeur théorique(P_t) qu'on retrouve dans la table statistique de Student a (n) degré de liberté.

Dans le cas ou : P_{cal}>0.05 : la différence n'est pas significative donc le résultat est conforme.

P_{cal}<0.05 : la différence est significative donc le résultat est non conforme, (*)

P_{cal}<0.01 : la différence est très significatif. (**)

P_{cal}<0.0001 : la différence est très hautement significatif. (***)

II.3. Discussion

Nous avons constaté sur terrain que l'état d'hygiène de nos élevages ciblés, la négligence du nettoyage, la désinfection des locaux et du matériel d'élevage influencent à cout sûr sur la santé des vaches et la qualité du lait produit et mis à la consommation. D'où l'intérêt de connaitre l'état de contamination de ce lait et son influence sur la santé publique; c'est dans cette prospective que nous nous somme intéressés à l'étude de la qualité bactériologique du lait cru récolté au niveau de 20 fermes dans 10 communes de la région de

Bouira et les environs, ceci en utilisant des méthodes normalisées, fixées par la réglementation.

Après l'analyse des 20 prélèvements réalisés au niveau des 20 fermes et en comparaison avec les normes Algériennes en vigueur, nous avons obtenu les résultats suivants:

Le dénombrement des Germes à 30°C est un indicateur utile pour surveiller les conditions hygiéniques de lait cru, mais leur dénombrement ne pourrait pas indiquer la source directe de contamination, telle qu'une infection de la mamelle (les mammites restent toujours la principale cause de contamination du lait cru).

Nous avons retrouvé un taux de contamination de 30%, l'ordre de 6.22 ± 6.68 (\log_{10} UFC/ml) ce qui correspond au 3^{ème}, 4^{ème}, 13^{ème}, 16^{ème}, 17^{ème} et 19^{ème} prélèvements, ce ci indiquerait une contamination de lait immédiatement après la traite, suite à une mauvaise hygiène du milieu ou lors de la présence des mammites subclinique. Ce résultat rejoint celui retrouvé par Sahraoui (2009), qui est l'ordre de 31,55%.et ($<10^5$ UFC/ml) recherché sur milieu PCA à 30°C ont été rapportés par Bazzize D. (2006), où elle a observé que 81% de lait analysé est non- satisfaisant.

Dans les échantillons, ou il y a un dépassement des normes, le lait est impropre à la consommation.

Les coliformes fécaux, quant à eux, sont considérés comme des témoins de l'hygiène de traite en raison de leur origine fécale (Jeusier X. et Cohen- Morelle,1986).

Nos résultats révèlent un taux de l'ordre de $4,31 \pm 4,66$ (Log_{10} UFC/ml) correspondant à 20% de la contamination globale, ce qui pourrait être dû à une contamination fécale.

Ce résultat rejoint celui retrouvé par Bazzize D. (2006) qui est de l'ordre de 26,22%.

On ne constate pas d'augmentation des coliformes fécaux pendant le transport, ceci étant dû aux bonnes conditions de conservation du lait cru 4°C, sachant que le trajet ne dépasse pas 2 heures.

Nous avons constaté la présence de *streptocoque* avec un taux de contamination de l'ordre de $2,47 \pm 2,66$ (Log_{10} UFC/ml) correspondant à 95% de contamination, ceci indiquerait la présence des mammites.

Pour les *staphylococcus aureus* (S- aureus) l'ensemble des résultats révèlent que 17 sur les 20 prélèvements correspondent à un taux de contamination de l'ordre de $4,20 \pm 4,57 \text{ Log}_{10}$ UFC/ml. Ces résultats sont liés au passage des staphylocoques d'environnement et à l'inflammation de la mamelle. Les résultats de Hamzaoui et Kenane(2005), rapportaient un taux de 0% alors que Sahraoui et Bellal (2009) retrouvent un taux de contamination de l'ordre de 30,22%.

85% des échantillons sont de qualité non satisfaisante.

Pour l'*Escherichia coli* nous retrouvons un taux de l'ordre de $0,16 \pm 0,59 \text{ Log}_{10}$ UFC/ml. 20% des échantillons sont de qualité non satisfaisante, ce qui pourrait être dû à une contamination fécale ou à la présence d'une mammite.

Pour les Clostridium sulfito- réducteur, le résultat ne dépasse pas les normes, satisfaisant à 100%. Le lait analysé est dépourvu de Clostridium sulfito-réducteur donc il est conforme à la norme du J.O.R.A(1998) qui est égale à 50 UFC/ml. Clostridium sulfito-réducteur est responsable de gastro-entérites, se retrouve dans le sol, les eaux et dans l'intestin de l'homme et des animaux. Les Clostridium sont donc capables de survivre dans l'environnement et de contaminer n'importe quel type d'aliment ou matériel si les conditions d'hygiène et de stérilisation ne sont pas respectées (LEBRES, 2002).

Les résultats obtenus révèlent la présence des germes à 30°C, des coliformes fécaux, d'*Escherichia Coli*, des *streptocoques fécaux*, des *staphylococcus aureus*, ce qui peut être dû à un manque de nettoyage et de désinfection des locaux et des sanitaires, et/ou une inflammation des mamelles. C'est ainsi qu'un lait hautement contaminé représente un danger pour la santé humaine et une entrave à la transformation en industrie laitière.

L'analyse statistique a permis de mettre en évidence que l'apparition des *staphylococcus aureus* et *streptocoques fécaux* dans le lait cru est significative hautement non conforme à la consommation humaine ($p < 0,0001$).

Les niveaux de contamination obtenus au cours de notre étude montrent que la contamination de la plupart des fermes dépasse les normes imposées par la réglementation nationale en vigueur d'où le fait que leurs laits sont de qualité non satisfaisante.

Conclusion et perspectives

À la lumière de cette étude, il apparaît que l'importance de la charge bactérienne du lait cru prélevé au sein de certaines exploitations bovines laitières de Bouira n'est que le résultat de contaminations et multiplications successives associées à certaines mammites, non ou mal traitées, aux mauvaises conditions hygiéniques et au non respect de la température lors de la traite à la ferme.

La présence de germes responsables d'intoxication alimentaire tels que *Staphylococcus aureus* à 85%, et *Streptocoques fécaux* à 95%, peut devenir un problème de santé publique majeur, même par la suite, pour le lait traité thermiquement si des mesures ne sont pas prises pour éviter les contaminations. La qualité hygiénique du lait cru à la vente peut être également améliorée par l'instauration d'une politique de traçabilité et de bonnes pratiques pour l'utilisation des antibiotiques dans la filière laitière afin d'assurer l'hygiène durant toute la chaîne de production du lait.

En matière de qualité microbiologique, la situation paraît plus préoccupante malgré la diversité des situations.

Il va de soit que la modernisation des élevages reste à inscrire comme un leitmotiv des programmes de développement. Cette modernisation doit se baser sur la remise en état des installations des élevages qui restent trop vétustes (bâtiments, matériel, ustensiles, cuves...). Elle doit aussi couvrir le volet formation, très important pour inculquer aux éleveurs et aux personnels de la filière, les comportements nécessaires pour produire et accompagner ce produit biologique pur et fortement périssable.

Suite à notre étude qui a montré les déficits pour qu'un programme d'approfondissement puisse avoir lieu afin de renforcer les bonnes pratiques d'hygiène (BPH) et de fabrication (BPF), et surtout les approfondir selon le codex alimentaire permettant un suivi rigoureux et individuel (contrôle de performances individuel). Ce plan pourrait alors guider au mieux les pouvoirs responsables du développement de la filière lait en Algérie.

Référence bibliographiques

- Ali Cherarak.** 14 cas de brucellose humaine détectés à Bouira Archives Edition du 07/08/2015 El Watan, 1.
- Araujo W. 2004.** Le cout des maladies en élevage bovin laitier, quelques repères et application pratique. *Journées Nationales des G.T.V.*, 463-470.
- Baggett H. C., Hennessy T., Klejka J., Parks D., & Stevens A. M., 2010.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage and Risk Factors for Skin Infections, Southwestern Alaska, USA. *Emerging Infectious Diseases*, 16(5), 797.
- Barone R., 2001.** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 3.fasc.2 .splanchnologie.- Paris. Vigot frères : 956p.
- Bastien J., 1994.** Suivi de la qualité du lait et de sa transformation à la ferme exemple de démarche coordonnée appliquant les vétérinaires praticiens. *Rec.Méd.Vét.* 170,486-492.
- Baumgartner A., Grand M., 1995.** Detection of verotoxin-producing *Escherichia coli* in minced beef and raw hamburgers: comparison of polymerase chain reaction (PCR) and immunomagnetic beads. *Arch. Lebensm. Hyg.* 46: 127-130.
- Bazzize D., 2006.** évaluation de la qualité microbiologique du lait cru de vache dans la région de la Mitidja. Mémoire de magister, Département des sciences vétérinaires, université de Blida, 77p.
- Ben Hassen S., Ben Hassen A., Messadi L., 2003.** Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. In : documents en ligne: *Annales de Médecine Vétérinaire*, 147 41-47 [[http://facmu . ulg . ac.be /amv/articles / 2003-147-1-04.pdf](http://facmu.ulg.ac.be/amv/articles/2003-147-1-04.pdf)] (consulte le 18 Juillet 2007).
- Bergonier D., Berthelot X., 2006.** La maîtrise des mammites cliniques en peripartum : Traitements et prévention. *Le nouveau praticien vétérinaire* 1 : 17-26
- Berthelot X., Legay Jb., Schmitt E..**Localisation des bactéries et traitements des mammites en Lactation. « *Ouvrons le dossier* », session 2, Conférence de consensus organisée par le Laboratoire Bohringer Ingelheim, Février 2007 : 63.

Bidaud O., Houffschmitt P., Viguerie Y., 2007. Etiologie des mammites bovines en France entre 2005-2007. Journées bovines nantaises: 121-122.

Bosquet G., Ennuyer M., Goby L., Leiseing E., Martin S. Le praticien face au ciblage du traitement en lactation des Mammites. « *Ouvrons le dossier* », conférence de consensus organisée par le laboratoire Boehringer Ingelheim, Novembre 2005, 45p.

Bouchard E., Tremblay D., 1995. Formation petit groupe. Programme de contrôle de la mammite, version html, Pdf, Adobe Acrobat (format) [[http://132.204.160.19/FR/laitier vétérinaire/formation/ASMAMM99.pdf](http://132.204.160.19/FR/laitier_vet%C3%A9rinaire/formation/ASMAMM99.pdf)](consulte le 18 juillet 2007).

Bourlioux Pierre, 2014. Université de Paris Sud - Châtenay-Malabry. Les toxi infections alimentaires alimentation pour la sante institut danone.

Bradley A., Green Mj., 2000. Study of the incidence and significiance of intramammary ente-robacterial infections acquired during the dry period. *Journal of Dairy Science*, 83:1957-1965.

Bradley A., Breen Je., Green Le., Green Mj., Leach Ka., 2007.Survey of incidence and aetiology of mastitis on dairy frams in England and Wales. *Veterinary Record*, 160:253-258.

Bravard M., Schmitt-Van De Leemput E., 2006. Infection à staphylocoques coagulase négatif. *Le Point Vétérinaire*, 37(266), 76-79.

Breitenmoser A., Fretz R., Schmid J., 2011. Outbreak of acute gastroenteritis due to a washwater-contaminated water supply. *Journal of Water and Health*, 09.3: 569- 576.

Brouillet P., Durel L., Faroult B., Lepoutre D.,. Mammites des bovins (cliniques et subclinique). Démarches diagnostiques et thérapeutiques. *La Dépêche Technique*. Supplément technique 87 à la Dépêche Vétérinaire du 20 Décembre 2003 au 2 janvier 2004, 39.

Bowen R., Edmondson P. Mastitis control in dairy herds. Farming Press 1995.

Buyser M.L., 1996. Les staphylocoques. *In* Microbiologie alimentaire, Tome 1 (C. Bourgeois & J.F. Mesclé, édit.). Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 106-119.

Cainaud E., 2005. Les mammites subclinique: Détection et mesures de lutte, Etude dans des élevages de la Drome, Thèse de doctorat en science vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire (Lyon),134p.

Carbannelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Vargues R., 1987. Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. *SIMEP SA*, Paris, 121-137 ; 146-155.

Concannon P.W., Hansel W., Knight P.J. Et Hamilton J.M., 1978. Parturition and lactating in the bitch: Serum.

Coussi G., 1995. Pathologie de la peau du trayon *La Dépêche*, supplément Technique (42) du 18 au 24 février 1995.

Cuq J.L., 2007. Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier, 20-25.

Daniel RIGAUD, Association autrement, Côte d'Or, Dijon 2015. Les toxi-infections alimentaires article 67.

Debuyser M. L., Lapeyre C., 1994. Mammites à Staphylocoques et sécurité alimentaires. Le point vétérinaire, Vol.26, Numéro spécial, Ruminant et santé publique, 78- 82.

De Jongh C., Emonts M., Van Belkum A., Wertheim H., 2007. The role of human innate immune factors in nasal colonization by *Staphylococcus aureus*. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 9(1213), 14711477. doi : 10.1016/j.micinf.2007.08.003.

Delarras C., 2010. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris, 247-253 ; 255-263.

Delbès-Paus C., Dorchies G., Chaabna Z., Callon C., Montel MC., 2010. Contribution of hydrogen peroxide to the inhibition of *Staphylococcus aureus* by *Lactococcus garvieae* in interaction with raw milk microbial community. *Food Microbiol.* 27, 924-932.

Dubril E. 2008 .Les analyses bactériologiques du lait de l'infection mammaire bovine applicable au cabinet vétérinaire en pratique courant et leur intérêt dans le traitement des mammites. Thèse .doct vét école nationale vétérinaire d'ALFORT.france 5.

Dumas Pl., Faroult B., Serieys F. 2004. Assurer le traitement en exploitation laitière : expérience et perspectives de l'action G.T.V. Partenaire. *Journées Nationales des G.T.V.*,71-75.

Dupont J. P. L., 1980. L'infection mammaire inapparente : agents microbiens en cause et antibiogramme. Thèse : Méd. Vét: Alfort, 53.

Durel L., Hugues G. Et Leonard T., 2011. Mammites Bovine, Vade-mecum. Edition Med'com 270, 18,218.

Eicher R., Sutter-Lutz B., Berger L., 2003. Contrôler les mammites a *Staphylococcus Aureus*. Le Point Vétérinaire, 33(228) : 50-54.

Eisenstein, B. I., 2008. Treatment challenges in the management of complicated skin and softtissue infections. Clinical Microbiology and Infection. The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1725p.

Fabre Jm., Bazin S., Faroult B., Cail P., Berthelot X., 1996 .Lutte contre les mammites : résultats d'une enquête réalisée auprès de 1038 élevages français. Bulletin des G.T.V.,B. 517 : 13-16.

FAO et OMS, 1986, Sixth report of the joint FAO/World Health Organisation (WHO) Expert Committee on brucellosis. Technical Report Series No. 740, OMS, Genève, 132.

Faroult B, Lepage P., 2006. Quels prélèvements de lait pour le diagnostic bactériologique des mammites bovines. Bulletin des G.T.V., 33 : 24-30.

Fauchere J.L., Avril J.L., 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses, Paris, 239-241 ; 245 ; 249-250

Gallay A., 1997. Estimation du nombre de Toxi-infections alimentaires collectives à salmonelles, à partir de trois systèmes de surveillance par la méthode capture-recapture : Réseau National de Santé Publique. Mémoire pour le DES "Epidémiologie et Intervention en Santé Publique".

Gambo H. Et Etchike C., 2001. Dépistage De Mammite Subclinique Chez Vache Goudali En Lactation Au Nord Cameroun. Revue. Med Vêt Pays Trop, 51(1) :5-10.

Gedilaghine V., 2005. La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action G.T.V.Partenaire dans le département de la Manche. *Thèse pour le doctorat vétérinaire,* Maisons Alfort: 106.

Graham B., McBride Et Steven C., Chapra B. New hydroepidemiological models of indicator organisms and zoonotic pathogens in agricultural watersheds , *Ecological Modelling*, vol. 222, n° 13, 10 juillet 2011, 2093–2102 .

Green Mj.,2007. National intervention study of mastites control in dairy herds in England and Wales., 160(9) : 287-296. 61: 35p.

Guiraud J.P. 1998. Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD, paris.137p.

Guiraud J.P., 2003. Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. 136-139.

Haeghebaert S., Delarocque Astagneau E., Vaillant V., Gallay A., 1997.Epidémiologie des maladies infectieuses en France : synthèse sur les toxi-infections alimentaires collectives en France 1996. Institut de veille sanitaire.

Hanzen Ch., 2010. Propédeutique de la glande mammaire sémiologie et diagnostic individuel et de troupeau. Approche individuelle.

Hanzen Ch., 2009. Propédeutique de la glande mammaire, propedmammaire-sympt diagnostic-2009.pdf [http : www.therioreminant ulg.ac.be/benot 200809r2](http://www.therioreminant.ulg.ac.be/benot200809r2)

Hanzen Ch., 2006. Pathologie infectieuse de la glande mammaire. « En ligne ». Accès Internet : <http://ulg.ac.be/oga/formation/chap30/index.htm?page=30-0.htm>.

Hacini N ., 2007.La filière lait et risques alimentaires.Mag Vet N°58 pages 22 à 29.

Hamiroune M., Berber A. ,Boubekeur S., 2014.Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida et impact sur la santé publique.

Hastings L, Burnens Ap, De Jong B, Ward Lr, Fisher Ist, Stuart J., 1996.Salm-Net facilitates collaborative investigation of an outbreak of *Salmonella* infection in Europe. Communicable Disease Report; 6: 100-102.

allat C., Aubel D., Darfeuille-Michaud A., Joly B., 1991 .Toxines et adhérence du colibacille dans les diarrhées, Med. Mal. Infect., 21, 556-561.

Jeusier X. Et Cohen Morelle, 1986. Manuel de Réf qualité du lait. FNPL. Paris: 199.

- Kluytmans J., Van Belkum A., Verbrugh H.,** 1997. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(3), 505-520.
- Krause DO., Smith WJM., Conlan LL., Gough JM., Williamson MA., McSweeney CS.,** 2003. Diet influences the ecology of lactic acid bacteria and *Escherichia coli* along the digestive tract of cattle: neural networks and 16S* rDNA. *Microbiology*. 149, 57-65.
- Lafont Jp., Martel Jl., Maillard R., Chaslus-Dancla E.,** 2002. Antibiothérapie bovine. Acquis et consensus. Conférences organisées par le laboratoire Pfizer Santé Animale. Ed. Du Point Vétérinaire: 318.
- Lailier R.,** 2006. Fiche de description de danger transmissible par les aliments, *Listeria monocytogenes*. Afssa.
- Le grand D., Arcangioli Ma., Giraud N.,** 2004. Conduite à tenir face à des mammites à mycoplasmes. *Le Point Vétérinaire*, 35(245) : 34-37.
- Le loir Y., Baron F., Gautier M.,** 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research : GMR*, 2(1), 637-6.
- Le Minor L., Veron N., 1989. *Bactériologie Médicale Flam Med. Science*, Paris, 333-318 ; 773-823.
- Lebres.** 2002. Manuel des travaux pratiques, cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments, unité microbiologie des laits et des produits laitiers, institut Pasteur d'Algérie, 21-27.
- Leclerc H.,** 1993. Les *Escherichia coli* responsables de diarrhées. *Arch. fr. Pédiatr.*, 50, 57-67.
- Liberté,** 2016. Défiant les plus élémentaires règles d'hygiène: Le lait cru vendu sur la voie publique 18 septembre 2016 **Liberte-algerie.com**
- Madigan M., Et Martinko J.,** 2007. Brock biologie des micro-organismes. 11^{ème} Ed. PEARSON Education, France, 356p.
- Malvy D., Djossou F., Le Bras M.,** 1998. Les toxi-infections alimentaires collectives aspects cliniques et épidémiologiques, 267-272.
- Mcdowell S.W., Menzies F.D., McBride S.H., Oza A.N., Mckenna J.P., Gordon A.W..** *Campylobacter* spp. in conventional broiler flocks in Northern Ireland: epidemiology and risk factors, *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 84, n° 3-4, 15 mai 2008, 261-76.

- Prohaszka L.**, 1972. Study of pathogenesis of enteric *Escherichia coli* infection in model experiments on rabbits. Zentralbl Veterinärmed B27, 631-639.
- Rainard P.**, 1985. Les mammites colibacillaires. *Rec. Méd. Vét.*161 (6-7): 529- 537.
- Remy D.**, 2005 : Traitement des mammites suraigües. *Journées Nationales des G.T.V.*, Nantes, 29-37.
- Salat O., Lhermie G., Bastien J.**, 2007.Démarches pratique de traitement des infections mammaires a *staphylocoques aureus*. Journées Nationales des G.T.V., Nantes,783-794.
- Salmon S.A., Watts J.L.**, 1999, activity of antimicrobial agents against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections that produce slactamase. Journal of Dairy Sciences, 80: 788-791.
- Sanaa M., Menard J. L.**, 1994. Contamination du lait cru par Listéria monocytogènes: origines, facteurs de risque, prevention. *Rec. Méd. Vét.*, 170(6-7), 437-442.
- Schmitt-Beurrier A., Schmitt-Van De Leemput E.**, 2005. Bactériologie sur le lait en clientèle. *Le Point Vétérinaire*, 36(255) : 52-53.
- Seergers H., Fourichon C., Menard J. L.**, 1997 .Mammites en élevage bovin laitier: importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. *Renc. Rech. Ruminants*, 4, 233-242.
- Serieys F.**, 2003. Abord du traitement des infections à *Streptococcus uberis*. *Le Point Vétérinaire*, (239): 36-37.
- Soltner D.**, 2001. La reproduction des animaux d'élevage tome1, zootechnie générale, 161: 497-510
- Stacke Brandt E., Truper H.G.**,1988. Proteobacteria classis nov., a name for the phylogenic taxon that includes the purple bacteria and their relatives. *Int. J. syst. Bacteriol.*, 38, 321-325.
- Stephan R., Zweifel C., Zychowska M.A.**, 2004.Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland. *Int. J. Food Microbiol.* 92, 45-53.
- Taponen S., Koort J., Bjorkroth J., Saloniemi H., Pyorala S.**, 2006: Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative *staphylococci* may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism based analyses. *Journal of Dairy Science*, 90: 3301-3307.

Taponen S., Pyorala S., 2007. Emerging pathogen Heifer Mastitis Conference, Final Program and Abstract Book, Ghent Belgium, juin 2007: 18-20.

Van De Leemput E.. Analyse bactériologique du lait. Conférence organisée par le laboratoire Pfizer pour les vétérinaires en exercice, Nantes, Mai 2007.

Vandaele E. 2004. Première quinolone injectable contre les mammites bovines. Le Point Vétérinaire, 35(247): 14-15.

Varnam A.H. Et Sutherland P., 2001. Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York, 35- 37.

Vignola C., 2002. Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. 3-75.

WATTS J.L., SALMON S.A., 1999. Activity of antimicrobial agents against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections that produce slactamase. Journal of Dairy Sciences. 80: 788-791.

Wenz Jr., Barrington Gm., Garry Fb., Ellis Rp., 2006. *Escherichia coli* isolated stéréotypes, génotype and virulence gènes and clinical coliforme mastites severity. Journal of Dairy Science, 89: 3408-3412.

Yves Millemann, 1998, Le pouvoir pathogène des salmonelles : facteurs de virulence et modèles d'étude. Veterinary Research, BioMed Central, 29 (5). 385-407.

Zweifel C., Zychowska M.A. et Stephan R., 2004. Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland. *Int. J. Food Microbiol.* 92, 45-53.

Annexe I

Tableau 2 : Tableau du lieu et date d'échantillonnage du lait cru.

N° de prélèvement	Date	Ferme ou élevage.	Race	L'âge	Etat hygiénique constaté de la ferme
01	14-03-2017	Bir-ghbalou	Montbéliard	60 mois	Mauvais
02	20-03-2017	Souk el khemisse	Holstein	36 mois	Mauvais
03		Ain bessame	Montbéliard	36 mois	Mauvais
04		Ain hdjer (Bouira)	Montbéliard	80 mois	Mauvais
05	05-04-2017	El khabozia	Brun de l'atlas	80 mois	Mauvais
06		Bir-ghbalou	Montbéliard	48 mois	Mauvais
07		Bir-ghbalou	Holstein	60 mois	Mauvais
08	05-04-2017	El kramia	Race local	36 mois	Mauvais
09	06-04-2017	El maaichia	Holstein	45 mois	Mauvais
10		Bir-ghbalou	Montbéliard	60 mois	Mauvais
11		Ain hdjer	Holstein	36 mois	Mauvais
12		Ain el aloui	Rac locale	40 mois	Mauvais
13	10-04-2017	Wlad zidan	Normande	36 mois	Mauvais
14		Bir ghbalou	Montbéliard	36 mois	Mauvais
15		Rawrawa	Brun de l'atlas	36 mois	Mauvais
16		Rawrawa	Simmentales	24 mois	Mauvais

17	16-04-2017	El hachimia	Holstein	46 mois	Mauvais
18	20-04-2017	Ain hdjer	Holstein	24 mois	Mauvais
19		Souk el khemisse	Holstein	60 mois	Mauvais
20		El khabozia	Brun de l'atlas	36 mois	Mauvais

Annexe II

La Composition des milieux de culture :

1-Solution Eau Peptone Sel (TSE) :

Peptone	1,0g
Chlorure de sodium (NaCl)	8,5g
Eau distillée	1000ml

2-Gélose PCA :

- Hydrolysate Trypsine De Caséine	5g
- Extrait De Levure	2,7g
- Glucose	1g
- Agar	9g
- Eau Distillée	1000 ml

(Institut Pasteur, 2002)

3-Gélose viande –foie -Sulfito- réducteurs (Gélose viande foie pour germes sulfito –réducteurs) :

- Extrait viande foie	30g
- Peptone	2g
- Amidon	2g
- Gélose	12g

4-Milieu Giolitti et Cantoni :

- Tryptone	10g
- Extrait de viande	5g
- Extrait de levure	5g
- Chlorure de lithium	5g
- Mannitol	20g
- Chlorure de sodium	5g
- Glycine	1,2g
- Pyruvate de sodium	3g

(Guiraud, 1998).

5-Gélose de Chapman :

Tryptone	5g
Peptone pepsique de viande	5g

Extrait de viande	1g
Mannitol	10g
Chlorure de sodium	75g
Rouge de phénol	25mg
Agar-agar bactériologique	15g

6-Milieu VRBL (Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet au Rouge neutre)

Peptone	10g
Lactose	10g
Désoxycholate de sodium	0,5g
Chlorure de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Agar-agar	12à 15 g
Rouge neutre	0,03g
Eau distillée	1000ml

7-Milieu de Roth :

Hydrolysats tryptique de caséine	12,6g
Peptone bactériologique	8g
Glucose	5g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate dipotassique	2,7g
Phosphate monopotassique	2,7g
Azide de sodium	0,2g

Annexe III

8	JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35	Aouel Safar 1419 27 mai 1998	
ANNEXE I			
CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES			
TABLEAU I			
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS			
PRODUITS	n	c	m
1. Lait cru :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	10 ⁵
— coliformes fécaux	1	—	10 ³
— streptocoques fécaux	1	—	abs/0,1ml
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	1	—	50
— antibiotiques	1	—	absence
2. Lait pasteurisé conditionné :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	3.10 ⁴
— coliformes :			
* sortie usine	1	—	1
* à la vente	1	—	10
— coliformes fécaux			
* sortie usine	1	—	absence
* à la vente	1	—	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	1
— phosphatase	1	—	négatif
3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	< 10/0,1 ml
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	négatif
— test chaleur	5	0	négatif
4. Lait concentré non sucré :			
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	négatif
— test chaleur	5	0	négatif
5. Lait concentré sucré :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	10 ⁴
— coliformes	5	0	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	0	absence
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
6. Lait déshydraté conditionné (1) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 ⁴
— coliformes	5	2	5
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	2	50
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
— antibiotiques	1	0	absence

ANNEXE III

TECHNIQUE DE PRISE D'ESSAI
ET INTERPRETATION DES RESULTATS
D'ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

1. Technique de prise d'essai :

La prise d'essai destinée à la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales porte :

— sur les parties superficielles et profondes, notamment pour les produits en tranches, hâchés, les plats cuisinés à l'avance... ;

— sur la partie profonde après cautérisation de la surface du produit, notamment pour les viandes (pièces), les volailles (pièces), les produits carnés (pièces) et les poissons entiers ;

— sur le produit homogénéisé ou sur les parties superficielles et profondes, selon la nature du produit liquide ou semi-liquide, notamment les produits laitiers.

Dans le cas des examens microbiologiques effectués à la suite de toxo-infections alimentaires, il est nécessaire de pratiquer la recherche des germes pathogènes, toxinogènes et/ou de leurs toxines, aussi bien en surface qu'en profondeur.

2. Interprétation des résultats d'analyses microbiologiques :

En matière d'échantillonnage et d'interprétation des résultats d'analyse, il est tenu compte, dans la présente annexe, des travaux menés en la matière au sein des organisations internationales.

2.1 Plan à trois classes

2.1.1 Principe :

Ce plan est ainsi désigné parce que les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de fixer trois classes de contamination, à savoir :

- * celle inférieure ou égale au critère "m" ;
- * celle comprise entre le critère "m" et le seuil "M" ;
- * celle supérieure au seuil "M".

Les critères qualitatifs "m" et "M", sauf autre indication, expriment le nombre de germes présents dans un gramme (g) ou un millilitre (ml) d'aliment et dans 25 grammes d'aliment pour les *Salmonella* et les *Listeria monocytogenes*.

m : seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante. Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants ;

M : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique ;

M = 10 m lors du dénombrement effectué en milieu solide

M = 30 m lors du dénombrement effectué en milieu liquide

n : nombre d'unités composant l'échantillon ;

c : nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre "m" et "M".

2.1.2 Application pratique :

2.1.2.1 La qualité du lot est considérée comme satisfaisante ou acceptable en application de l'article 4 de l'arrêté du 23 juillet 1994 lorsque, aucun résultat ne dépasse M :

a — Les valeurs observées sont :

< 3 m lors d'emploi de milieu solide	} qualité satisfaisante
< 10 m lors d'emploi de milieu liquide	

b — les valeurs observées sont comprises :

entre 3 m et 10 m (=M) en milieu solide, entre 10 m et 30 m (=M) en milieu liquide,	} qualité acceptable
et c/n inférieur ou égal au rapport fixé; par exemple c/n < 2/5 avec le plan m = 5 et c = 2 (ou tout autre plan d'efficacité équivalente ou supérieure)	

2.1.2.2 Les résultats sont considérés comme non satisfaisants :

a — lorsque c/n est supérieur ou égal au rapport fixé ;

b — dans tous les cas où les résultats obtenus sont supérieurs à M.

Cependant, le seuil de dépassement pour les micro-organismes aérobies à + 30° C, alors que les autres critères sont respectés, doit faire l'objet d'une interprétation, notamment pour les viandes, volailles et produits crus.

Toutefois, le produit doit être considéré comme toxique ou corrompu lorsque la contamination atteint une valeur microbienne limite "S" qui est fixée dans la cas général à :

$$S = m.10^3$$

Annexe IV

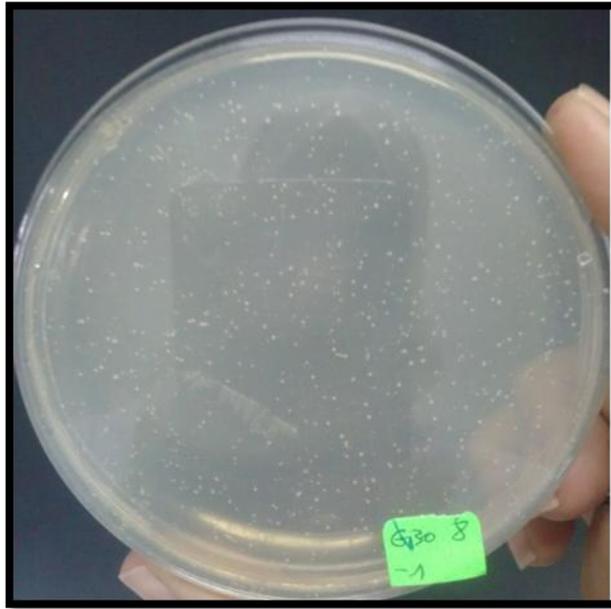


Figure 11 : colonies des germes aérobies à 30°C dans le milieu du PCA.
(Photo personnelle).

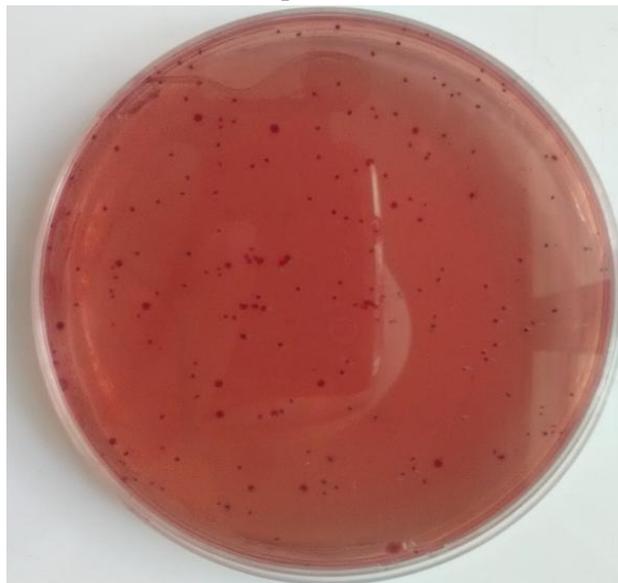


Figure 14 : colonies des coliformes fécaux à 44°C dans le milieu du VRBL (Photo personnelle).



Figure 15 : Recherche d'*Escherichia Coli* (Photo personnelle).



Figure 17 : Résultat Recherche des *streptocoques fécaux* (test de présomption)
(Photo personnelle).



Figure 19: Résultat de recherche des *streptocoques fécaux* (test de confirmation)
(Photo personnelle).



Figure 20 : Résultat de recherche de *staphylococcus aureus* (Photo personnelle).

Annexe V

Tables NPP (d'après la norme ISO 7218 :1996(F))

Tableau 1 - Table NPP pour 3 x 1 g (ml), 3 x 0,1 g (ml) et 3 x 0,01 g (ml).

Nombre de résultats positifs			NPP	Catégorie lorsque le nombre d'essais de mesures est de 1 pour le lot considéré	Limites de confiance			
					>95%	>95%	>99%	>99%
0	0	0	<0,30		0,00	0,94	0,00	1,40
0	0	0	0,30	3	0,01	0,95	0,00	1,40
0	1	0	0,30	2	0,01	1,00	0,00	1,60
0	1	1	0,61	0	0,12	1,70	0,05	2,50
0	2	0	0,62	3	0,12	1,70	0,05	2,50
0	3	0	0,94	0	0,35	3,50	0,18	4,60
1	0	0	0,36	1	0,02	1,70	0,01	2,50
1	0	1	0,72	2	0,12	1,70	0,05	2,50
1	0	2	1,1	0	0,4	3,5	0,2	4,6
1	1	0	0,74	1	0,13	2,00	0,06	2,70
1	1	1	1,1	3	0,4	3,5	0,2	4,6
1	2	0	1,1	2	0,4	3,6	0,2	4,6
1	2	1	1,5	3	0,5	3,8	0,2	5,2
1	3	0	1,6	3	0,5	3,8	0,2	5,2
2	0	0	0,92	1	0,15	3,50	0,07	4,60
2	0	1	1,4	2	0,4	3,5	0,2	4,6
2	0	2	2	0	0,5	3,8	0,2	5,2
2	1	0	1,5	1	0,4	3,8	0,2	5,2
2	1	1	2,0	2	0,5	3,8	0,2	5,2
2	1	2	2,7	0	0,9	9,4	0,5	14,2
2	2	0	2,1	1	0,5	4,0	0,2	5,6
2	2	1	2,8	3	0,9	9,4	0,5	14,2
2	2	2	3,5	0	0,9	9,4	0,5	14,2
2	3	0	2,9	3	0,9	9,4	0,5	14,2
2	3	1	3,6	0	0,9	9,4	0,5	14,2
3	0	0	2,3	1	0,5	9,4	0,3	14,2
3	0	1	3,8	1	0,9	10,4	0,5	15,7
3	0	2	6,4	3	1,6	18,1	1,0	25,0
3	1	0	4,3	1	0,9	18,1	0,5	25,0
3	1	1	7,5	1	1,7	19,9	1,1	27,0
3	1	2	12	3	3	36	2	44
3	1	3	16	0	3	38	2	52
3	2	0	9,3	1	1,8	36,0	1,2	43,0
3	2	1	15	1	3	38	2	52
3	2	2	21	2	3	40	2	56
3	2	3	29	3	9	99	5	152
3	3	0	24	1	44	99	3	152
3	3	1	46	1	9	198	5	283
3	3	2	110	1	20	400	10	570
3	3	3	>110					
autres valeurs			non cité dans la table ISO 7218 : 1996 (F)					

Annexe VI

N° :	Date :						info. Sur la vache				
Dilution Germe	temps	Milieu	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵				
Germe à 30°											
Coliformes fécaux											
<i>E. Coli</i>											
<i>Staphylocoques aureus</i>											
CSR											
<i>Streptocoques fécaux</i>											

Tableau de dénombrement des germes.

ملخص:

يحتل الحليب مكانا بارزا في النظام الغذائي للجزائريين، فإنه يجلب حصة أكبر من البروتين الحيواني. وهو مصدر رئيسي في صناعة المواد الغذائية، وصناعة الألبان تشهد نمو سنوي يبلغ 8% في الجزائر (المعرض الدولي للألبان، 2008).

من أجل تقييم المخاطر المرتبطة باستهلاك حليب البقر الخام بولاية البويرة تم جمع عينات الحليب الخام من 20 مزارع الألبان تم تحليل عينات اللبن من أجل تقييم جودتها الجرثومية.

وأظهرت النتائج وجود أعداد كبيرة من البكتيريا كثيرة. التهاب الضرع المكورات العنقودية هي المصدر الرئيسي للتلوث إنتاج الحليب (Thieulon، 2005). وقد وجدت الجراثيم وفقا لمعايير وطنية، كانت العقديات عالية جدا في الحليب، الجراثيم مزارع في 30 ° C، القولونيات البرازية، ومضمون المكورات العنقودية، اشيريشيا كولي و كلوستريديا هي بالترتيب كالاتي 95%، 30%، 20%، 85%، 20%، 0%.

كان المكورات العنقودية الذهبية في أعداد أكبر في الحليب الخام مع العقديات البرازية.

وتشير هذه النتائج نوعية مثيرة للقلق التي تمثل تسويق واستهلاك الحليب الخام دون المعالجة الحرارية في الدولة أو في شكل الحليب المخمرة من أجل تجنب الإصابة بالأمراض المنقولة عن طريق الغذاء الإنسان التي هي من أجل 18% من كل TIAC في الجزائر.

كلمات البحث: البروتين، الحليب الخام، التهابات الثدي، التسمم الغذائي.

Résumé :

Le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens et apporte la plus grande part des protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière lait connaît une croissance annuelle de 8 % en Algérie (Salon international du lait, 2008).

En vue d'apprécier les risques liés à la consommation du lait cru de vache de Bouira, des échantillons de lait cru ont été prélevés dans 20 exploitations laitières, Ces échantillons de lait ont été analysés en vue d'apprécier leur qualité bactériologique.

Les résultats ont montré une présence significative de bactéries en trop grand nombre. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production. Les germes prévus par les normes nationales ont été recherchés. Les streptocoques étaient très élevés au niveau du lait de ces exploitations, les germes à 30°C, les coliformes fécaux, la teneur des staphylocoques, *E.Coli* et des CSR sont de l'ordre respectif 95%, 30%, 20%, 85%, 20%, 0%.

Les *Staphylococcus aureus* se trouvaient en plus grand nombre dans le lait cru avec *streptocoques fécaux*.

Ces résultats témoignent d'une qualité alarmante que représentent la commercialisation et la consommation de lait cru sans traitement thermique, en l'état ou sous forme de laits fermentés, afin d'éviter les toxi-infections alimentaires humaines qui sont de l'ordre de 18% de l'ensemble des TIAC en Algérie.

Mots clés : protéines, lait cru, infections mammaires, les toxi-infections alimentaires.

Summary:

Milk occupies a prominent place in the Algerian food ration, it brings the largest share of protein of animal origin. A key player in the agri-food industry, the milk sector is growing at an annual rate of 8% in Algeria (International Milk Exhibition, 2008).

In order to assess the risks associated with the consumption of raw milk from Bouira's cows, samples of raw milk were taken from 20 dairy farms. These milk samples were analyzed in order to assess their bacteriological quality.

The results showed a significant presence of too many bacteria. Staphylococcus mammary infections are the main source of milk contamination in production (Thieulon, 2005). The germs prescribed by the national standards were researched. The streptococci were very high in the milk of these farms, the germs at 30 ° C., the faecal coliforms, the staphylococci, E. coli and clostridia were of the order 95%, 30%, 20%, 85%, 20%, 0%.

Staphylococcus aureus was found in greater numbers in raw milk with fecal streptococci.

These results show an alarming quality of marketing and consumption of raw milk without heat treatment in the state or in the form of fermented milks in order to avoid human food poisoning, which is on the order of 18% of All the TIACs in Algeria (**Hacini.N., 2007**)

Key words: proteins, raw milk, breast infections, food poisoning.