

# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Sciences biologiques"

Spécialité: "Infectiologie"

Présenté et soutenu publiquement par

- M<sup>elle</sup> : AISSA Lalia

-M<sup>elle</sup> : BOUHEKA Nacira

- M<sup>elle</sup> : HANET Khadidja

## Thème

Recherche des principaux contaminants bactériologiques  
du lait pasteurisé impliqués dans les TIAC

### JURY:

- |                                  |             |
|----------------------------------|-------------|
| - Président : Dr. MOULAY Meriem  | Grade : MCA |
| - Promoteur : Dr. FERNANE Habiba | Grade : MCB |
| - Examineur : Dr. MAHOUZ Fatima  | Grade : MCB |

Année universitaire: 2017 -2018



## *REMERCIEMENTS*

*Tout d'abord nous tenons à remercier DIEU tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté pour terminer ce travail.*

*En tout premier lieu nous tenons à remercier M<sup>me</sup>*

*Fernane H pour l'honneur qu'elle nous a fait en nous encadrant, pour l'aide précieuse qu'elle nous a donné, pour ses remarques et ses conseils qui nous ont permis de mener à bien ce travail.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de juger le travail.*

*Nous remercions également tous les responsables et techniciens de laboratoire de microbiologie de l'institut de sciences vétérinaires :  
Soumia et Karima.*

*A toutes personnes ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leurs soutiens et encouragements*

*durant la réalisation de ce travail.*

*Merci à tous*

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :*

*À la mémoire de mon très cher père « رحمه الله »*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*À ma très chère mère, qui m'a entouré de son amour et sa gentillesse et qui m'a soutenu par ces valeureux conseils, je te dis infiniment merci et je prie Dieu de t'accorder santé et longue vie.*

*À mes très chers frères : BEN AISSA, NABIL, ABD ELHAK et KHALED*

*À ma très chère unique sœur : BADRA*

*À mes nièces : BASMA SALSSABIL et MARAM*

*À mes meilleurs amis : NORA, KHADIDJA et NACIRA*

*À mes collègues : NACIRA et LALIA*

*À tous mes collègues de la promotion de 2<sup>ème</sup> année Master Biologie Spécialité « Infectiologie »*

*À ceux que je n'ai pas cités mais que je porte toujours dans mon cœur*



# Dédicace

*Grâce à dieu tout clément et miséricordieux, qui m'a tracé la route, et m'a donné le pouvoir et le courage de continuer jusqu'à la fin.*

*Avec l'aide du bon dieu, tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie à :*

*Celle qui sacrifia tout ce qu'elle a de cher pour me prodiguer une éducation, un soutien, une assistance et un encouragement pour enfin devenir ce que je suis maintenant*

*Ma très chère mère « Malika ».*

*Celui qui m'a toujours soutenu moralement et matériellement au cours de mes études ; à qui j'éprouve un profond respect*

*Mon très cher père « Mohamed ».*

*A mes meilleurs-frères : Djamel, Djaffar, Yousef et Bouabdellah.*

*A mes irremplaçables sœurs : Souad et Chahrazad.*

*A mes proches amies : Noria, Khaira, Malika et Mahdjouba.*

*A mon binôme: Lalia et Khadidja*

*A tous mes collègues de la promotion de 2<sup>e</sup>me année Master Biologie Spécialité « Infectiologie »*



# Dédicace

*Grâce à dieu tout clément et miséricordieux, qui m'a tracé la route, et m'a donné le pouvoir et le courage de continuer jusqu'à la fin.*

*Avec l'aide du bon dieu, tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie à :*

*À mes très chers parents « Halima » et « Mohamed »  
Pour leurs nombreux efforts déployés tout au long de mon parcours.*

*Vous avez su me donner de vraies valeurs dans la vie et un équilibre qui m'a permis de réussir. Un grand merci et un profond respect.*

*Merci d'avoir fait de moi ce que je suis, je vous aime.*

*À mes chers frères, AEK, khaled AER djilali midou À mes irremplaçables sœurs kaltoum, fatima meriem halima,*

*À mes nièces et mes neveux, À ma famille,*

*À mes amis et mes collègues de la promotion master infectiologie,*

*À mon binôme Khadidja et Nacira*

*À toutes les personnes qui ont été à mes côtés dans les bons et les mauvais moments de ma vie.*



## SOMMAIRE

❖ .....	L
<b>liste des abréviations</b>	
❖ .....	L
<b>liste des tableaux</b>	
❖ .....	L
<b>liste des figures</b>	
❖ .....	I
<b>ntroduction générale</b>	

### Première partie : Étude bibliographique

#### Chapitre I: Lait et procédés de pasteurisation

I.1. Introduction .....	03
I.2. Définition du lait .....	03
I.3. Définition du lait pasteurisé .....	04
I.3.1. Lait pasteurisé non conditionné .....	05
I.3.2. Lait pasteurisé conditionné .....	05
I.3.3. Lait pasteurisé de haute qualité .....	06
I.4. Dégradation des constituants du lait .....	07

#### Chapitre II : Contaminants du lait

II.1. Introduction .....	08
II.2. Bactéries recherchées en microbiologie alimentaire et les effets nocifs des micro-organismes pathogènes .....	08
II.2.1. Germes totaux .....	08
II.2.2. Bactéries coliformes .....	08
II.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	09

II.2.4. <i>Salmonella</i> .....	09
II.2.5. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	10
II.3. Modification des éléments normaux du lait .....	11
II.3.1. Altérations d'origine microbienne .....	11
II.3.2. Altérations d'origine enzymatique .....	13
II.3.3. Altérations d'origine physico-chimique .....	13
II.4. Sources de contamination du lait .....	14
II.5. Altérations principalement rencontrées.....	15
 <b>Chapitre III : Toxi-infection alimentaire collective (TIAC)</b>	
III.1. Introduction .....	17
III.2. Définitions.....	17
III.2 .1. Maladies infectieuses .....	17
III.2.2. Toxi-infections alimentaires .....	17
III.2.3. Intoxinations .....	18
III.3. Principe de transmission des maladies microbiennes par les aliments .....	19
III.4. Toxi-infection alimentaire familiale ou collective .....	19
III.5. Les éléments du diagnostic d'une toxi-infection alimentaire collective(TIAC) .....	20
III.5.1. Déterminer l'origine alimentaire d'une pathologie.....	20
III.5.2. Apprécier la date du repas suspect .....	20
III.5.3. Identifier l'aliment responsable .....	21
III.5.4. Orienter l'étiologie .....	21
III.5.5. Identifier l'agent pathogène par l'analyse microbiologique .....	21
III.6. Recherche des causes d'une intoxication alimentaire .....	22
III.7. Conduite pratique devant une TIAC.....	23

III.8. Prophylaxie .....	24
III.8.1 Règles d'hygiène .....	24
III.8.2 Éducation, surveillance, contrôles .....	25
III.8.3 Services concernés .....	25
III.9. Principes de prévention d'une toxi-infection alimentaire .....	25
III.9.1. Prévention primaire .....	26
III.9.2. Prévention secondaire.....	26

## **Deuxième partie : Étude expérimentale**

### **Chapitre I : Matériel et méthodes**

I.1. L'objectif .....	27
I.2. Lieu et période de travail.....	27
I.3. Analyses bactériologiques .....	29
I.4. Protocole expérimental.....	30
I.4.1. Prélèvement .....	31
I.4.2. Traitement des échantillons.....	31
I.4.3. Préparation des dilutions décimales.....	32
I.4.4. Ensemencement et dénombrement des germes contaminants.....	32
I.4.4.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT).....	33
I.4.4.2. Dénombrement des coliformes .....	33
I.4.4.3. Dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
I.4.4.4. Recherche des <i>Salmonella</i> .....	35
I.5. Identification .....	36
I.5.1. Examen macroscopique .....	36
I.5.2. Examen microscopique .....	36



I.5.3. Etude biochimique .....	36
--------------------------------	----

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

II.A. Analyses bactériologiques .....	38
II.A.1. Flore mésophile aérobie totale .....	40
II.A.2. Coliformes totaux .....	42
II.A.3. Coliformes fécaux.....	43
II.A.4. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	45
II.A.4.1. Résultats d'identification des Staphylocoques retrouvés .....	46
II.A.4.2. Lecture de la Galerie .....	47
II.A.5. <i>Salmonella</i> .....	47
II.A.5.1. Résultat d'identification .....	48
II.A.5.2. Lecture de la Galerie .....	49
<b>II.B. Enquête sur les TIAC (de l'an 2015 jusqu'au premier trimestre de l'an 2018)</b> <b>dans la willaya de Tiaret .....</b>	<b>51</b>
❖ .....	<b>C</b>
<b>onclusion</b> .....	<b>59</b>
❖ .....	<b>R</b>
<b>ecommandations</b> .....	<b>60</b>
❖ .....	<b>R</b>
<b>éférences bibliographiques</b> .....	<b>62</b>
❖ .....	<b>A</b>
<b>nnexes</b> .....	<b>66</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

**BP:** Baird-Parker.

**CACQE :** Centre Algérien de Contrôle de Qualité et de l'Emballage.

**CNR :** Centre National de Référence.

**DCW :** Direction du Commerce de la Wilaya.

**DDAS :** Direction Départementale des Affaires Sanitaires.

**DDASS :** Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales.

**DDSV :** Direction Départementale des Services Vétérinaires.

**DLC :** Date Limite de Consommation.

**DSP :** Direction de la Santé et de la Population.

**DO :** Déclaration Obligatoire.

**DSV :** Direction des Services Vétérinaires.

**E.D.T.A :** Acide Éthylène Diamine Tétracétique.

**EPT :** Eau Peptonée Tamponnée.

**FMAT :** Flore Mésophile Aérobie Totale.

**JORA :** Journal Officiel de la République Algérienne.

**ND :** Non Déterminé.

**PCA :** Plate Count Agar.

**pH :** potentiel Hydrogène.

**RSV :** Rappaport-Vassiliadis avec peptone de Soja.

**SCN :** Staphylocoques à Coagulase Négative.

**S-S:** *Salmonella-Shigella*.

**TSE :** Tryptone - Sel- Eau.

**TIA :** Toxi-infection Alimentaire.

**TIAC :** Toxi-infection Alimentaire Collective.

**UFC :** Unité Formant Colonie.

**UHT :** Ultra Haute Température.

**VB :** Vert Brillant.

**VRBL :** Violet Red Bile Lactose agar (La gélose Lactosée Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre).

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau n° 01:</b> Différentes sources de contamination du lait.....	15
<b>Tableau n°02 :</b> Facteurs ayant contribué à la survenue des TIAC en 2001 .....	20
<b>Tableau n°03 :</b> Agents les plus fréquemment mis en cause en fonction des signes cliniques et de type d'aliment responsable (document du ministère chargé de la famille et de la santé).....	22
<b>Tableau n°04 :</b> Conduite à tenir devant une toxi-infection alimentaire collective .....	24
<b>Tableau n°05 :</b> Caractéristiques du lait pasteurisé prélevé .....	31
<b>Tableau n°06 :</b> Conditions des cultures des groupes bactériens susceptibles de se développer dans le lait .....	32
<b>Tableau n°07 :</b> Aspect des colonies bactériennes obtenues .....	38
<b>Tableau n° 08:</b> Résultats des principaux germes recherchés et retrouvés .....	39
<b>Tableau n°09 :</b> Résultats des études microscopiques et biochimiques .....	46
<b>Tableau n°10 :</b> Répartition annuelle des TIAC dans la willaya de Tiaret .....	51
<b>Tableau n°11 :</b> Répartition annuelle des TIAC en fonction du sexe dans la willaya de Tiaret (2016-2017 et le premier trimestre de l'an 2018 .....	51
<b>Tableau n° 12:</b> Répartition moyenne des TIAC selon le sexe dans la willaya de Tiaret (2016-2017 et le 1 <sup>er</sup> trimestre de l'an 2018) .....	52
<b>Tableaux n°13 :</b> Répartition des foyers de TIAC dans la willaya de Tiaret de l'an 2016 au 1 <sup>er</sup> trimestre de l'an 2018 en fonction des tranches d'âge .....	53
<b>Tableau n° 14 :</b> Nombre de TIAC en fonction des circonstances d'apparition en 2017 et le premier trimestre de l'an 2018 dans la willaya Tiaret .....	54
<b>Tableau n°15 :</b> Les aliments le plus incriminés dans les TIAC durant 2017 et le 1 <sup>er</sup> trimestre de l'année 2018 dans la willaya de Tiaret.....	56

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure n°01</b> : Lait pasteurisé vendu .....	04
<b>Figure n°02</b> : Taux résiduel de diverses vitamines après pasteurisation ou stérilisation d'un lait cru.....	07
<b>Figure n°03</b> : Principales interactions entre aliment microorganisme et consommateur...	19
<b>Figure n°04</b> : Protocole expérimental des analyses bactériologiques du lait pasteurisé ....	28
<b>Figure n°05</b> : Protocole expérimental des enquêtes sur les Toxi-infections alimentaires collectives .....	29
<b>Figure n°06</b> : Représentation des résultats obtenus pour la FMAT en comparaison avec la norme .....	40
<b>Figure n°07</b> : Colonies bactériennes sur milieu PCA .....	41
<b>Figure n°08</b> : Représentation des résultats obtenus pour les coliformes totaux en comparaison avec la norme.....	42
<b>Figure n° 09</b> : Colonies des coliformes totaux sur milieu VRBL.....	42
<b>Figure n° 10</b> : Représentation des résultats obtenus pour les coliformes fécaux en comparaison avec la norme.....	43
<b>Figure n° 11</b> : Colonies des coliformes fécaux sur milieu VRBL .....	44
<b>Figure n°12</b> :Colonies de Staphylocoques sur milieu CHAPMAN.....	45
<b>Figure n°13</b> : Colonies de Staphylocoques sur milieu Baird-Parker .....	45
<b>Figure n°14</b> : Aspect microscopique de <i>Staphylococcus xylosus</i> après coloration de Gram (Grx100).....	46
<b>Figure n°15</b> : Résultat d'identification biochimique sur Galerie api Staph.....	47
<b>Figure n°16</b> : Colonies de <i>Salmonella</i> sur milieu S-S.....	48
<b>Figure n°17</b> : Aspect microscopique des Salmonelles après coloration de Gram(Grx100).....	49

<b>Figure n°18</b> : Résultat d'identification biochimique sur Galerie api 20E .....	49
<b>Figure n°19</b> : Répartition annuelle des TIAC en fonction du sexe dans la willaya de Tiaret (2016-2017 et le premier trimestre de l'an 2018) .....	52
<b>Figure n°20</b> : Répartition moyenne des TIAC selon le sexe dans la willaya de Tiaret de 2016 au 1 <sup>er</sup> trimestre de l'an 2018 .....	53
<b>Figure n°21</b> : Répartition annuelle des TIAC par tranche d'âge dans la willaya de Tiaret.....	54
<b>Figure n° 22</b> : Répartition des TIAC en fonction des circonstances d'apparition dans la willaya de Tiaret en 2017 .....	55
<b>Figure n°23</b> : Répartition des TIAC en fonction des circonstances d'apparition dans la willaya de Tiaret en 2018 (1 <sup>er</sup> trimestre.....	55
<b>Figure n° 24</b> : Répartition des aliments le plus incriminés dans les TIAC dans la willaya de Tiaret durant 2017 et le 1 <sup>er</sup> trimestre de l'année 2018 .....	56

# *Introduction Générale*

Le lait est le premier aliment que nous consommons depuis notre naissance. Il joue un rôle essentiel dans notre régime alimentaire journalier puisqu'il est consommé en grande quantité sous forme de lait de consommation, de produits laitiers variés ou sous forme cachée dans les préparations alimentaires diverses (conserves, crèmes glacées, plats cuisinés, sauces, potages, pâtisseries, confiseries...) (**Cayot et Lorient, 1998**).

La présence de nombreux facteurs de croissance permettra de satisfaire de nombreuses espèces de microorganismes (existant dans tout notre environnement) exigeantes et difficile à cultiver dans un milieu moins complet qui trouveront un substrat idéal pour leur développement (**Ait abdelouahab, 2008**).

Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de microorganismes (**Ait abdelouahab, 2008**).

-Si le lait est prélevé dans d'excellentes conditions, il contient moins de 1000 germes /ml. La présence d'immunoglobulines, de lactoperoxydase-thiocyanate, de lysozyme, systèmes inhibiteurs de la croissance bactérienne, ralentit considérablement la croissance microbienne (**Ait abdelouahab, 2008**).

-Le plus souvent, on trouve des populations atteignant  $10^6$  à  $10^7$  micro-organismes / ml. Cette flore provient des fèces et des téguments de l'animal (les germes filtrent à travers l'épithélium mammaire et se retrouvent dans le lait), du sol, de la litière et des aliments, de l'air et de l'eau, de l'équipement de traite et de stockage du lait, des insectes et de l'homme (**Ait abdelouahab, 2008**).

Pour retarder le développement de cette flore, d'autant plus dangereuses qu'elle est composée de bactéries mésophiles, tous les pays recommandent le stockage du lait au froid (**Ait abdelouahab, 2008**).

Comme le lait est un excellent milieu de culture, de pH =6,5. Il permet le développement des bactéries, des levures, des moisissures. C'est donc une denrée très périssable (**Ait abdelouahab, 2008**).

Les infections transmises à l'homme par les aliments dont la contamination peut être le fait de la matière première (animale ou végétale), d'une contamination par l'environnement, l'homme ou un autre aliment (contamination croisée). Par conséquent les toxi-infections

alimentaires collectives (TIAC) sont fréquentes et parfois graves (**collège des enseignants de nutrition, 2011**).

Elles représentent un véritable problème de santé publique et sont, de ce fait, incluses parmi les maladies transmissibles à déclaration obligatoire. Parmi les facteurs qui contribuent à l'apparition de TIAC, on retrouve la contamination par l'équipement, la contamination de la matière première, le non-respect des températures réglementaires et des erreurs dans le procédé de fabrication (**collège des enseignants de nutrition, 2011**).

Signalons à titre d'exemple que les produits laitiers ayant nécessité manipulation sont plus fréquemment incriminés dans les TIAC à *Staphylococcus aureus* (**Jeantet et al, 2008**).

En outre, des germes pathogènes peuvent être présents dans le lait : certains sont capables de se multiplier, d'autres sont simplement transmis (dans ce dernier cas on ne les retrouvera qu'en faible quantité). La plupart des maladies graves sont qu'exceptionnellement transmises par le lait (**Guiraud, 2012**).

Le risque d'altération possible du lait par différents micro-organismes utiles ou pathogènes nécessite un suivi microbiologique et physicochimique rigoureux dès la traite jusqu'à la réception au niveau de la laiterie.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude. Elle se donne comme objectif :

- Evaluer les degrés de contamination microbiologique du lait pasteurisé.
- Rechercher les principales causes de la contamination.
- Connaitre le pourcentage des TIAC dues au lait pasteurisé au niveau de la wilaya de Tiaret.



*Première Partie*  
*Étude Bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Lait et procédés de pasteurisation*

### **I.1. Introduction**

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (**Bourgeois et al, 1996**).

Il est, par sa composition, un aliment de choix : il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et de l'eau (**Guiraud, 2012**).

Mais il est sujet à de multiples contaminations comme de nombreux autres aliments, alors la pasteurisation s'est peu à peu imposée dans le secteur de l'agroalimentaire comme l'une des techniques les plus utilisées pour l'allongement de la conservation des aliments (**Chillet, 2011**).

La pasteurisation est un traitement thermique ayant pour but de détruire la totalité des micro-organismes pathogènes non sporulés et de réduire significativement la flore végétative présente dans un produit. C'est un procédé de conservation limité pour lequel le produit doit être conditionné hermétiquement (avec ou sans atmosphère modifiée ou sous vide) et réfrigéré (le produit pasteurisé peut être en effet conservé à +4°C de quelques jours à quelques semaines) (**Chillet, 2011**).

### **I.2. Définition du lait**

Le lait est un liquide opaque, de teinte blanche, sécrété par les glandes mammaires des femelles des mammifères. Le lait le plus couramment utilisé est le lait de vache mais l'homme consomme, suivant le pays, le lait de chèvre, de brebis, de bufflonne et de chamelle.

Le lait est un aliment très nutritif et sa composition varie en fonction de :

- l'alimentation,
- la période de lactation,
- la saison,
- la race de l'animal (**Mohtadji-Lamballais, 1989**).

### I.3. Définition du lait pasteurisé

Le lait pasteurisé fabriqué à partir de lait cru ou de lait reconstitué, écrémé ou non, est un lait qui a subi un traitement thermique (pasteurisation) qui détruit plus de 90 % de la flore (jusqu'à 98 %) contenue dans le lait (tous les germes pathogènes non sporulés, notamment les germes de la tuberculose et de la brucellose) (M'boya, 2001).

Le lait pasteurisé est donc un lait qui conserve une certaine population microbienne inoffensive (quelques centaines à quelques milliers de germes banaux au millilitre). C'est pourquoi il doit être refroidi immédiatement à 3-4°C et distribué sous régime de froid (8-10°C) (Trémolières *et al*, 1980).

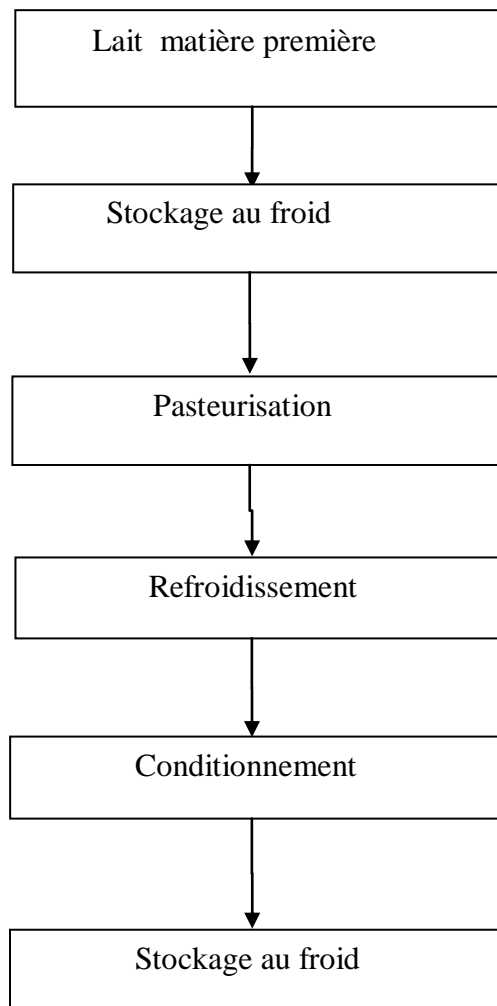


Figure n°01 : lait pasteurisé vendu (Journaux officiels, 2004).

### **I.3.1. Lait pasteurisé non conditionné**

Ce lait est souvent destiné aux collectivités ou aux industries (pour une transformation ultérieure).

A la sortie de l'atelier de traitement, ce lait ne doit pas contenir plus de 100 000 germes par ml.

A la vente, il doit renfermer moins de 200 000 par ml. En outre, il doit répondre aux critères suivants :

- avoir une phosphatase négative ;
- être reconnu propre (épreuve de filtration) ;
- être exempt des pathogènes détruits par la pasteurisation ;
- être maintenu à température inférieure à 10°C.

Si ce lait est destiné à l'exploitation, il doit en outre contenir moins de 100 coliformes par ml (**Plusquellec, 1980**).

### **I.3.2. Lait pasteurisé conditionné**

A la sortie du pasteurisateur, le lait est conditionné dans des récipients étanches qui, autrefois, étaient surtout des bouteilles en verre alors qu'aujourd'hui il s'agit le plus souvent de récipients en carton ou en plastique de formes diverses. Bien entendu, ces matériaux doivent être de qualité alimentaire afin de ne pas altérer le produit. Ils figurent sur une liste réglementaire de matériaux autorisés (**Trémolières et al, 1980**).

Ces laits ont fait l'objet d'une pasteurisation basse à 63°C pendant 30 minutes, ou d'une pasteurisation instantanée à 95°C.

Le lait pasteurisé conditionné doit répondre aux mêmes dispositions que le lait en vrac, en ce qui concerne la propreté, les pathogènes sensibles à la pasteurisation, la température de stockage, et la phosphatase.

Mais, ce lait doit contenir, lors de la vente ;

- moins de 30 000 bactéries aérobies mésophiles par ml,
- moins de 10 bactéries coliformes par ml (**Plusquellec, 1980**).

### **I.3.3. Lait pasteurisé de haute qualité**

Sous la dénomination « lait pasteurisé de haute qualité », on désigne un lait pasteurisé conditionné répondant à certains impératifs concernant la production, le traitement et la commercialisation (décret du 9 octobre 1965).

Ainsi, les laits crus mis en œuvre doivent être d'excellente qualité et provenir d'étables contrôlées par les services vétérinaires. La pasteurisation doit être effectuée à 72-75°C pendant 15 secondes et la distribution sous régime de froid doit être réalisée dans un délai maximum de 12heures (**Trémolières et al, 1980**).

On distingue trois types de traitement :

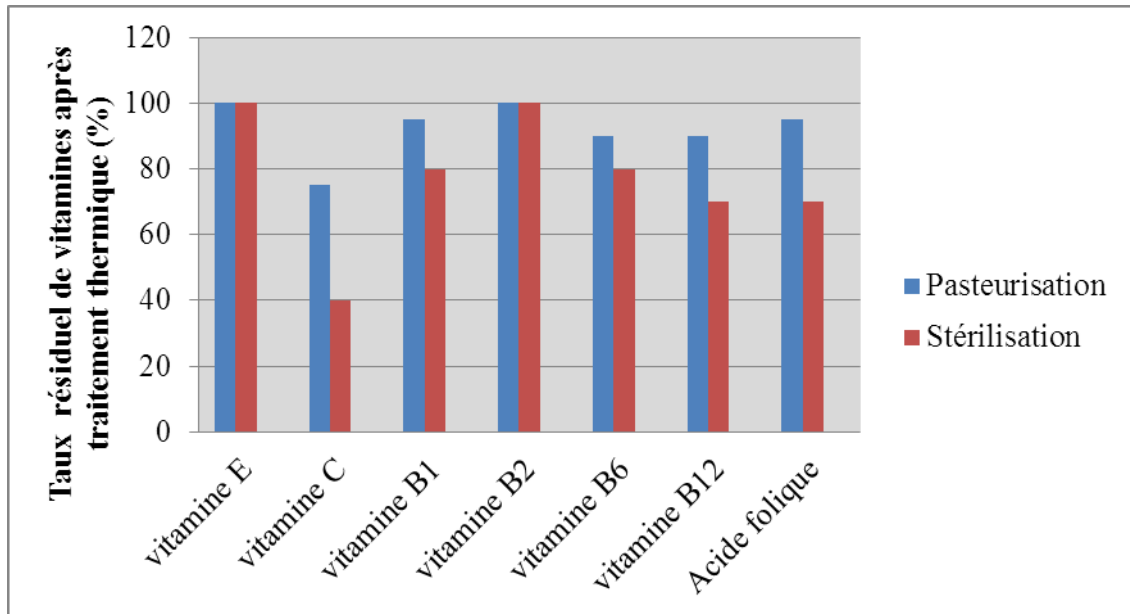
-pasteurisation basse (62-65°C/30min) : elle n'est réalisable qu'en batch et est abandonnée en laiterie ;

-pasteurisation haute (71-72°C/15-40s) ou HTST (High Temperature Short Time) : elle est réservée aux laits de bonne qualité hygiénique. Au plan organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets .Au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite ; par contre la peroxydase reste active et les taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines sont faibles. La DLC des laits ayant subi une pasteurisation haute est de 7jours après conditionnement (bouteille en verre ou en carton, polyéthylène ou aluminium) ;

-flash pasteurisation (85-90°C/1-2s) : elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne ; la phosphatase et la peroxydase sont détruites (**Jeantet et al, 2008**).

#### I.4. Dégradation des constituants du lait

La pasteurisation du lait entraîne peu de pertes en vitamines : la figure 03 présente le taux résiduel des diverses vitamines après pasteurisation ( $\approx 90\%$ ) et après stérilisation ( $\approx 75\%$ ).



**Figure n°02 :** Taux résiduel de diverses vitamines après pasteurisation ou stérilisation d'un lait cru (Chillet, 2011).

## *Chapitre II*

### *Contaminants du lait*



## **II.1. Introduction**

Les microorganismes sont présents dans l'environnement naturel de l'homme (eau, sol, surfaces diverses), sur l'homme lui-même et sur tous les êtres vivants- plantes, animaux -dont il tire son alimentation. De ce fait le risque de contamination pour un produit alimentaire, transformé ou non est permanent tout au long de la chaîne alimentaire. Selon les germes implantés, dont l'identité dépend des caractéristiques physicochimiques du produit, les contaminations peuvent avoir de plus ou moins grandes conséquences allant de la simple altération du produit, lui faisant perdre ses qualités organoleptiques ou sa valeur commerciale, à des toxi-infections graves (**Bourgeois et al, 1996**).

## **II.2. Bactéries recherchées en microbiologie alimentaire et les effets nocifs des micro-organismes pathogènes**

Les micro-organismes principalement présents dans le lait sont les bactéries. Mais on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voir des virus.

De nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue pour elles un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz (oxygène, hydrogène, gaz carbonique, etc.), des substances aromatiques, de l'acide lactique (responsable de l'acidification en technologie fromagère), diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologies chez l'homme (**Marguet, 2009**).

### **II.2.1. Germes totaux**

Le terme «germes totaux» ou «flore totale» ou encore «Flore Mésophile Aérobie Revivifiable» (FMAR) désigne l'ensemble des bactéries mésophiles aérobies qui se développent à 30°C pendant 72 heures en laboratoire sur un milieu nutritif gélosé standard. Il comporte un grand nombre de bactéries : lactique, psychrotrophes, thermorésistantes, coliformes et même pathogènes. Le dénombrement de cette flore est un indicateur pertinent pour évaluer le degré de contamination du lait (**Marguet, 2009**).

### **II.2.2. Bactéries coliformes**

Les coliformes sont des bactéries Gram- non sporulées, aérobies ou anaérobies facultatives capables de se multiplier en présence de sels biliaires et de fermenter le

lactose avec production d'acide et de gaz ( $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2$ ) en assez grande quantité. Ce sont des entérobactéries moyennement acidifiantes (pH =5).

Les coliformes se répartissent en 2 groupes distincts :

-les non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches. Ils sont détectés dès 30°C.

-les fécaux dont l'origine essentielle est le tube digestif, qui sont plus thermotolérants (détectés à 44°C). *Escherichia coli* fait partie de ce dernier groupe (Marguet, 2009).

### II.2.3. *Staphylococcus aureus*

Le staphylocoque doré ou *Staphylococcus aureus* est l'hôte naturel des muqueuses et de la peau chez l'homme et les animaux. Sa température de croissance se situe entre 7 et 48°C avec un optimum à 37°C. Il survit au froid et à la congélation. Il se multiplie quand le pH est compris entre 4 et 9,8, avec un optimum situé entre 5 et 7,5. Il survit à des taux de salinité élevés (20%) (Marguet, 2009).

*Staphylococcus aureus* seul n'est pas dangereux pour l'homme mais l'entérotoxine qu'il produit dans certaines situations est responsable de toxi-infections alimentaires qui se traduisent par des nausées, des douleurs abdominales et musculaires, des diarrhées, des maux de tête, voire de l'hypertension. La production de toxine dépend de la souche incriminée, du niveau de contamination du produit et de milieu. Les toxines produites résistent à la pasteurisation, à la déshydratation, à la congélation et à différents enzymes protéolytiques (Marguet, 2009).

Chez l'animal, la bactérie est responsable d'infections mammaires, qui constituent l'une des principales sources de contamination du lait à la production (Marguet, 2009).

### II.2.4. *Salmonella*

Les *Salmonella* sont des entérobactéries. Ce genre est divisé en trois espèces, *Salmonella enterica*, *Salmonella bongori* et *Salmonella subterranea*. L'identification immunologique différencie environ 2500 sérovars en 2004.

Elles sont le plus souvent pathogènes pour l'homme comme pour l'animal et sont généralement d'origine alimentaire. Les salmonelles sont le principal agent de TIAC actuellement en France (**Joffin et Joffin, 2010**).

Le pouvoir pathogène chez l'homme amène à distinguer deux catégories de *Salmonella* :

-celles donnant les **salmonelloses spécifiquement humaines** : les fièvres typhoïdes (*S. Typhi*) et paratyphoïdes (*S. Paratyphi* A, B, C), maladies graves de longue durée ;

-celles donnant des **salmonelloses humaines et animales** provoquant le plus souvent une gastro-entérite d'évolution rapide. Elles pouvant toutefois être redoutables.

La localisation digestive des salmonelloses entraîne la contamination des matières fécales : les malades, les porteurs asymptomatiques (porteurs sains), souvent d'anciens malades, éliminent les *Salmonella* dans leurs selles. Ainsi les aliments, à l'occasion d'une contamination fécale, pourront être eux-mêmes pollués par les *Salmonella*.

Les sérovars trouvés dans les intoxications alimentaires sont principalement : *Salmonella Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg*, *S. Virchow*, *S. Hadar*, *S. Newport*, *S. Choleraesuis*, *S. Infantis*, *S. Indiana*, *S. Arizonae*, *S. Brandebourg*, *S. Panama*, *S. Paratyphi B*, *S. Typhi* ...

Une contamination relativement massive semble le plus souvent nécessaire pour que les troubles surviennent. La mise en évidence des *Salmonella* est difficile. Les critères de sécurité sont rigoureux pour les aliments et leur présence absolument anormale (**Joffin et Joffin, 2010**).

### **II.2.5. *Listeria monocytogenes***

*Listeria monocytogenes* est une bactérie à Gram positif, largement répandue dans la nature. Les réservoirs primaires sont surtout la terre, l'eau et les végétaux en décomposition. Elle n'est pas capsulée ni sporulée. On la trouve sous forme de chaînes courtes ou en petits amas. C'est une bactérie intracellulaire facultative, capable de survivre et de croître à l'intérieur de la plupart des cellules de l'hôte infecté.

Cette bactérie peut être responsable d'infections sporadiques (listérioses) sévères chez l'homme et les animaux. Elle est capable de traverser le placenta (infections du fœtus) et de provoquer des méningites en pénétrant le système nerveux central

**(Marguet, 2009).**

Cette bactérie, psychrophile (elle pousse de 0-1 à 45°C) et halophile, est très résistante et peut échapper à la pasteurisation. Son pouvoir pathogène est lié à la présence d'hémolysines (listériolysines O et B) **(Guiraud, 2012).**

On peut trouver plus rarement d'autres bactéries comme *Campylobacter*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, et certains Streptocoques **(Guiraud, 2012).**

### **II.3. Modification des éléments normaux du lait**

L'origine de la modification peut être microbienne, enzymatique ou physico-chimique.

#### **II.3.1. Altérations d'origine microbienne**

- **Acidification spontanée et coagulation lactique** : Elle est due à la transformation du lactose en acide lactique par les bactéries lactiques. *Streptococcus lactis*, qui se développe bien à la température ambiante, est le plus souvent responsable de l'altération. Lorsque l'acidité atteint 35 à 40°D, la caséine floccule à l'ébullition. C'est la « tourne ». Si l'acidité s'élève à 60-70°D, la coagulation intervient à la température ambiante.

Les bactéries lactiques ne sont pas les seuls agents de l'acidification. De nombreux autres micro-organismes peuvent la provoquer : bactéries coliformes, entérocoques, microcoques, Staphylocoques...certains de ces germes constituent l'essentiel de la flore mammaire **(Veisseyre, 1979).**

- **Coagulation à faible acidité** : Parfois la déstabilisation intervient sans que l'acidité atteigne les chiffres cités précédemment. Le phénomène est alors dû à la présence de germes producteurs d'enzyme coagulante. C'est le cas des *Micrococcus caseolyticus* et *liquefaciens*, de *Bacillus subtilis*, de *proteus vulgaris*. Ces germes dits présurigènes sont souvent sporulés et se développent

bien à basse température. Ils peuvent donc cailler le lait refroidi (Veisseyre ,1979).

- **Protéolyse ou putréfaction** : Après acidification du lait, des micro-organismes peuvent intervenir pour brûler l'acide lactique formé. Ce sont surtout les moisissures (*Geotricum*, *Penicillium*, *Mucor*) qui sont responsables de cette combustion. L'acide lactique disparu, la dégradation des matières azotées devient possible. Les germes protéolytiques qui entrent en jeu sont des moisissures et certaines bactéries.

Les micro-organismes présurigènes sont aussi protéolytiques et peuvent intervenir sans acidification importante préalable.

La présence dans le lait de nombreux produits de dégradation fait apparaître également une saveur amère caractéristique (Veisseyre ,1979).

- **Lipolyse ou rancissement** : Nous avons vu que des micro-organismes, bactéries et moisissure, hydrolysent les glycérides du lait afin de consommer le glycérol. Les acides gras à faible poids moléculaire dont l'acide butyrique sont alors mis en liberté et communiquent au lait une saveur particulière désagréable. C'est le rancissement qui est une altération assez rare dans le lait mais très fréquente dans la crème et le beurre (Veisseyre ,1979).
- **Modification de couleur** : Elles sont peu fréquentes. Parmi elles nous noterons :
  - le lait bleu dû au développement en milieu acide de *Pseudomonas cyanogenes*.
  - le lait jaune dont est responsable *Pseudomonas synxantha*, par ailleurs présurigène et caséolytique.
  - le lait rouge dû à la pullulation de *Serratia marcescens* ou de *Bacillus lactis erythrogenes*. Il ne faut pas confondre cette altération avec la simple hémorragie mammaire (Veisseyre ,1979).
- **Augmentation de la viscosité** : Elle est parfois si prononcée que le lait devient filant. De nombreux germes peuvent être à l'origine du défaut. Citons en particulier certaines espèces d'*Alcaligenes*, de *Bacillus*, de *Micrococcus*, de *Klebsiella*. Des bactéries lactiques (*S.lactis hollandicus*) peuvent également épaissir le lait par production de substances mucilagineuses (Veisseyre ,1979).

- **Modification de saveur** : Une levure, *Torula amara*, rend le lait amer. Des bactéries peuvent parfois développer des goûts de noix, de navet, de savon, etc. Certaines variétés de streptocoques lactiques sont à l'origine de goûts de cuit, de brûlé, de malt, de caramel (*Str.lactis maltigenes*) (Veisseyre ,1979).

### II.3.2. Altérations d'origine enzymatique

La lipase naturelle peut devenir active dans le lait soit à la suite d'un simple refroidissement soit à la faveur de diverses manipulations telles que l'agitation ou l'homogénéisation. Dans le premier cas, la lipase se fixe irréversiblement sur les globules au cours du refroidissement. Dans le second cas, la formation de mousse et la réduction de la taille moyenne des globules gras sont de nature à favoriser la lipolyse.

Il a été noté que le goût de rance apparaît surtout en fin de lactation et en particulier lorsque les deux derniers mois de lactation se situent en période de stabulation (Kuzdzal-Savoie et Mocquot, 1960) (Veisseyre ,1979).

Certains laits sont anormalement riches en lipase et s'altèrent donc très rapidement. Ils proviennent souvent d'animaux présentant des troubles physiologiques (Veisseyre ,1979).

### II.3.3. Altérations d'origine physico-chimique

Sous le nom de saveur oxydée, on groupe habituellement une série de défauts affectant le lait entier et, plus rarement, le lait écrémé : goût métallique, goût huileux, goût suiffeux, goût de papier, goût de carton.

La saveur oxydée serait constituée essentiellement par deux éléments bien distincts. Le premier (goût huileux, suiffeux et métallique) est dû aux produits d'oxydation de la matière grasse : peroxydes, aldéhydes et surtout cétones. Le second (goût de papier et de carton) est lié à la présence de substances volatiles encore mal connues qui apparaissent à la suite de réactions se produisant à la lumière dans le lait entier et le lait écrémé. On a noté, en particulier, la présence fréquente de *méthional* provenant de l'oxydation de certains constituants azotés du lait. La lactoflavine intervient dans le phénomène comme photosensibilisateur (Veisseyre ,1979).

L'acide ascorbique, les carotènes et les tocophérols peuvent inhiber ou freiner l'apparition de la saveur oxydée. La diminution de ces substances, dans les laits d'hiver, est de nature à favoriser le développement de la saveur oxydée (Veisseyre ,1979).

On peut également expliquer par un mécanisme du même ordre, la résistance à l'oxydation du lait provenant de certaines races bovines. Ainsi les vaches normandes produisent un lait plus riche en carotènes et moins sensible à l'oxydation que les vaches frisonnes ou montbéliardes (Veisseyre ,1979).

Enfin, certains facteurs physiques et chimiques favorisent le développement de la saveur oxydée : lumière, présence de sels de métaux lourds tels que le fer, le zinc et surtout le cuivre qui est le métal le plus actif, même à l'état de traces (1 à 2 mg par litre) (Veisseyre ,1979).

#### II.4. Sources de contamination du lait

Le lait et les produits laitiers ne deviennent toxiques que s'ils sont contaminés par des souches productrices d'entérotoxines et si des conditions favorables à une multiplication bactérienne importante et à la toxinogénèse se trouvent réunies.

*Staphylococcus aureus* fait partie de la flore de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. Parasite habituellement inoffensif, il peut provoquer des infections (abcès cutanés, mammites). La contamination du lait peut survenir par l'intermédiaire de porteurs sains ou infectés, ou par l'environnement. Chez les bovins, *S. aureus* est isolé dans les narines. On le retrouve dans de petites lésions cutanées et dans les manchons des machines à traire. La colonisation des trayons peut entraîner l'infection de la mamelle (Brisaboiset al,n.d).

Les sources de contamination du lait sont nombreuses et variées celles comprennent l'eau, le sol, le personnel dans l'équipement laitier (tableau 07) (Frank et Hassan, 2002).

Tableau n°01: Différentes sources de contamination du lait (Frank et Hassan, 2002).

Sources	Genres du germe
Personnel	Coliformes, <i>Salmonella</i> , <i>Entérocooccus</i> <i>Staphylococcus</i>
Air	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebactérium</i> , <i>Bacillus</i> . Levures et Moisissures.
Interieur du pis	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebactérium</i>
Exterieur du pis	<i>Micrococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Entérocooccus</i> , <i>Bacillus</i>
Fèces	<i>Eschérichia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Listéria</i> , <i>Mycobactérium</i> . <i>Salmonella</i>
Appareil de traite	<i>Micrococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Coliformes</i> . <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>klebsiella</i>
Litières	<i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Mycobactérium</i>
Sol	Levures et Moisissures
Alimentation	<i>Clostridium</i> , <i>Listéria</i> , <i>Bacillus</i> , Bactérie lactiques
Eau	Coliformes, <i>Pseudomonas</i> , <i>Corynebactérium</i> , <i>Alcaligenes</i>

### II.5. Altérations principalement rencontrées dans les laits pasteurisés

-Goût de cuit : provoqué par un chauffage trop intense, ce goût de cuit peut être plus ou moins prononcé ;

-Contamination microbienne : elle a lieu surtout au moment du conditionnement. Elle peut provenir de la machine elle-même, de l'emballage, ou encore de l'environnement ;



-Présence de germes sporulés thermorésistants : ces germes peuvent provenir du lait cru lui-même, puis de tank de réfrigération, des équipements industriels. Le chauffage ne les a pas détruits et on peut les retrouver ainsi dans le lait pasteurisé ;

-Phénomènes physico-chimiques, tels que la lipolyse ou l'oxydation des matières grasses : pour prévenir ces problèmes, il faut soustraire le lait de l'action de la lumière et l'entreposer à une température suffisamment basse (+6°C). De même, les opérations mécaniques de pompage doivent être correctement maîtrisées (**Leseur et Melik, 1990**).

## *Chapitre III*

### *Toxi-infection alimentaire collective (TIAC)*

**III.1. Introduction**

Les aliments peuvent être les vecteurs ou de véritables milieux de culture de microorganismes. Ils sont alors potentiellement capables de provoquer diverses affections chez le consommateur dont la gravité dépend d'abord de la nature et du nombre de microorganismes et/ou de la toxicité de leurs produits d'excrétion (**Cuq, 2007**).

Des considérations d'ordre étiologique et d'ordre pathogénique font classer ces affections sous les trois rubriques suivantes :

- maladies infectieuses
- toxi-infections alimentaires
- intoxinations (**Trémolières et al, 1980**)

**III.2. Définitions****III.2 .1. Maladies infectieuses**

Chacune des affections groupées sous ce titre est le résultat d'une contamination par une bactérie obligatoirement pathogène ; les signes cliniques sont pathognomoniques. La contamination peut être réalisée par un nombre restreint de bactéries.

Ces maladies infectieuses sont la tuberculose, les brucelloses, les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, les shigelloses et certaines viroses (**Trémolières et al, 1980**).

**III.2.2. Toxi-infections alimentaires**

Le terme toxi-infection alimentaire désigne un vaste cadre nosologique incluant des infections stricto sensu avec invasion de la muqueuse digestive, des intoxications pures (ou intoxications) et des toxi-infections associant un processus invasif et toxinique (**Delarue et al, 2011**).

Les toxi-infections se distinguent des maladies infectieuses d'origine alimentaire dont il a été traité ci-dessus, par les faits suivants :

-elles sont dues soit à des bactéries commensales de l'homme et des animaux, soit à des bactéries pathogènes ;

-d'une façon générale, toutes ces bactéries provoquent des accidents très proches les uns des autres par leurs caractères symptomatiques ;

-pour que l'accident se produise, il faut une absorption massive de corps bactériens (ou de substances toxiques), c'est-à-dire que, seuls des aliments dans lesquels les bactéries ont pu cultiver, sont à l'origine de toxi-infections alimentaires (**Trémolières et al, 1980**).

Les bactéries responsables de ces accidents sont des salmonelles, des Staphylocoques, dans certains cas des Shigelles, et des bactéries commensales

(Entérocoque, *Welchia perfringens*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Proteus*).

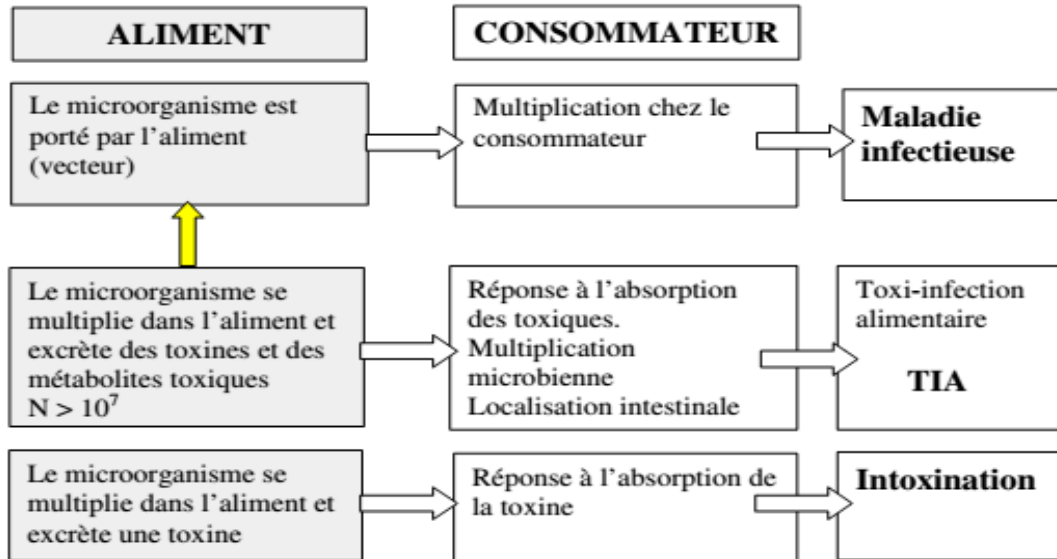
(**Trémolières et al ,1980**).

### **III.2.3. Intoxinations**

Les intoxications résultent de l'ingestion d'une toxine préformée dans l'aliment. Il s'agit essentiellement des intoxications botuliniques, Staphylococciques et à *Bacillus cereus*. Les microorganismes synthétisent ces toxines de nature protéique au cours de la phase exponentielle de croissance (*C. botulinum*) ou en fin de cette phase (*S. aureus*) (**Cuq, 2007**).

### III.3. Principe de transmission des maladies microbiennes par les aliments

Chaque système aliment / microorganisme / consommateur est particulier. Néanmoins il est possible de schématiser les principales interactions susceptibles de se produire de la façon suivante :



**Figure n°03 :** Principales interactions entre aliment microorganisme et consommateur (Cuq, 2007).

### III.4. Toxi-infection alimentaire familiale ou collective

Une toxi-infection alimentaire collective (ou TIAC) est définie par l'apparition d'au moins deux cas groupés similaires d'une symptomatologie, en général gastro-intestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire (Joffin et Joffin, 2010).

Toute TIAC doit faire l'objet d'une déclaration à la direction départementale des affaires sanitaires et sociales (DDASS) ou à la direction départementale des services vétérinaires (DDSV) (Jeantet, 2008).

Tableau n°02 : Facteurs ayant contribué à la survenue des TIAC en 2001

(Haeghebaert *et al*, 2002) (Jeantet *et al*, 2008).

Facteurs	%*
Matières premières contaminées	50
Contamination par l'environnement	55
-personnel	2
-équipement	59
Erreur dans le processus de préparation	46
Délai important entre préparation et consommation	35
Non-respect des températures réglementaires	49
-chaîne du chaud	19
-chaîne du froid	43

\*total &gt; 100%, plusieurs facteurs possibles pour une seule TIAC

### III.5. Les éléments du diagnostic d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC)

Le diagnostic d'une TIAC se réalise comme suit :

#### III.5.1. Déterminer l'origine alimentaire d'une pathologie

Devant un cas de gastro-entérite, il faudra donc mener une enquête dans l'entourage familial ou professionnel pour rechercher s'il existe des cas groupés pouvant être reliés à la prise d'un ou plusieurs repas en commun (Leyral et Vierling, 2001).

#### III.5.2. Apprécier la date du repas suspect

La durée d'incubation est fonction du mécanisme physiopathologique. Les incubations les plus courtes sont le fait d'intoxinations, la toxine ingérée agissant directement sur ses récepteurs.

Le délai d'apparition des troubles est plus long, il intègre le temps de fixation des bactéries sur la membrane des entérocytes et le temps de production de la toxine.

La durée d'incubation la plus longue est observée par les TIA dont le mécanisme est essentiellement invasif (**Leyral et Vierling, 2001**).

La prédominance des vomissements (*S. aureus*) et/ou l'absence de fièvre (*S. aureus*, *C. perfringens*) sont en faveur d'un processus toxique et donc orientent vers une incubation courte (2 à 12h). Inversement, l'absence de vomissements, la fièvre sont en faveur d'une incubation longue (24 à 48h) (**Leyral et Vierling, 2001**).

### **III.5.3. Identifier l'aliment responsable**

On recherche, le plus souvent, un aliment commun à tous les malades.

### **III.5.4. Orienter l'étiologie**

Connaissant l'aliment responsable, en intégrant les signes cliniques et la durée d'incubation, on peut faire un pronostic sur l'agent infectieux en cause (**Leyral et Vierling, 2001**).

### **III.5.5. Identifier l'agent pathogène par l'analyse microbiologique**

L'analyse microbiologique est effectuée sur l'aliment suspect et sur les selles des malades. Une bactérie peut être mise en cause dans une TIAC lorsqu'un agent infectieux présentant les mêmes caractères morphologiques, biochimiques, antigéniques ou lysotypiques est isolé à la fois dans l'aliment suspect et dans les selles des malades.

Illustrons dans le tableau 03 les différents aliments responsables des TIAC et les agents infectieux mis en cause :

**Tableau n°03 :** Agents les plus fréquemment mis en cause en fonction des signes cliniques et de type d'aliment responsable (Document du Ministère chargé de la famille et de la santé) (Leyral et Vierling, 2001).

Incubation courte	< 12heures		Incubation longue
	Absence de Fièvre		Fièvre
Aliments	Vomissements prédominants	Diarrhée Prédominante	Diarrhée
Laits et Dérivés	<i>Staphylococcus</i>	-	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> <sup>1</sup> , <i>Yersinia</i>
Viande, produits Carnés	<i>Staphylococcus</i>	<i>C. perfringens</i> <i>Bacillus cereux</i>	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> <sup>1</sup> , <i>Yersinia</i>
Fruits de mers, Poissons	-	(Dinoflagellés)	<i>V.parahaemolyticus</i> , <i>Salmonella</i>
Légumes	<i>Bacillus cereux</i> , <i>Staphylococcus</i>	-	<i>Yersinia</i> , <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <sup>1</sup> ,

(1) contamination possible par porteurs de germes

### III.6. Recherche des causes d'une intoxication alimentaire

Il s'agit d'une recherche spéciale réalisée par des services particuliers (Service de santé) .Elle n'intéresse pas à proprement parler les industriels mais nous donnons ici les principes généraux à titre documentaire.

Les aliments les plus fréquemment incriminés dans les intoxications alimentaires sont : les plats cuisinés, les produits carnés et les charcuteries, les coquillages et les pâtisseries. Les principaux germes incriminés sont :



\**Salmonella* (manifestation de l'intoxication 12 à 24 heures plus après l'ingestion : douleurs abdominales, diarrhée, vomissements fréquents, fièvre) ;

\**Staphylococcus* (manifestations de l'intoxication 2 à 4 heures après l'ingestion : nausées, crampes, vomissements, diarrhée, prostration, hypothermie, hypotension) ;

\**Clostridium perfringens* (manifestations de l'intoxication 10 à 12 heures après l'ingestion : douleurs abdominales, diarrhée) ;

\**Bacillus cereus* et autres bactéries « non spécifiques » (manifestations de l'intoxication 3 à 18 heures après l'ingestion : diarrhée, douleurs abdominales, vomissements).

Rappelons qu'en cas d'intoxication chimique, les troubles se manifestent très tôt (10 minutes à 2 heures). Les autres intoxications ou maladies sont plus rares (**Guiraud, 2012**).

### **III.7. Conduite pratique devant une TIAC**

Lorsqu'on suspecte une TIAC, il convient d'essayer de confirmer l'existence du foyer : survenue brutale de l'épisode, regroupement de cas dans le temps et dans l'espace, notion d'un repas commun entre les malades. L'interrogatoire et l'examen de quelques malades orientent vers l'agent responsable, qui sera confirmé par des prélèvements (selles, vomissements, aliments suspectés) (**Jacotot et al, 2003**).

Les TIAC font partie des maladies à déclaration obligatoire

L'investigation d'une TIAC comporte trois volets :

I. Une enquête épidémiologique qui permet :

\_ 1. De décrire le phénomène et de connaître les circonstances de l'incident (lieu, temps et personnes) : distribution dans le temps et dans l'espace de l'apparition des cas, caractéristiques des personnes atteintes.

\_ 2. De déterminer le/les aliments ayant la plus grande probabilité d'être à l'origine des troubles.

\_ 3. D'orienter ou de confirmer les analyses microbiologiques.

II. Des prélèvements en vue d'analyses microbiologiques chez les malades et dans les aliments.

III. Une enquête sanitaire comportant l'étude de la chaîne alimentaire afin de déterminer les facteurs favorisant le développement microbien ou la production de toxine, et la

mise en place de mesures préventives (**Collège des enseignants de nutrition, 2010-2011**).

**Remarque :** Selon **Jacotot et al (2003)** : une enquête épidémiologique et une enquête sanitaire, menées avec les services de la DDAS peuvent être nécessaires.

Une fois le diagnostic établi, la conduite à tenir devant une TIAC est résumée dans le tableau suivant :

**Tableau n°04 :** Conduite à tenir devant une toxi-infection alimentaire collective (**Delarue et al, 2011**).

1. Prévenir le médecin de l'établissement ou un médecin généraliste.
2. Identifier les malades ayant eu des signes cliniques.
3. Recueillir pour chaque malade : son nom, la nature des symptômes, leur date et heure d'apparition.
4. Conserver les restes des matières premières et des aliments servis à la collectivité au cours des 3 derniers jours (à conserver au réfrigérateur à 3°C ou congélateur à -18°C).
5. Préparer une liste des menus des repas des 3 derniers jours.
6. Ne pas présenter aux repas suivants les mêmes préparations que celles servies les 3 jours précédents, tant que l'aliment responsable n'a pas été identifié.
7. En cas de fourniture des repas par un prestataire, prendre contact avec le responsable du service prestataire.
8. Effectuer des prélèvements de selles et de vomissements chez les malades.
9. Détecter un éventuel dysfonctionnement au niveau de la chaîne alimentaire (température, personnel, matériel...)

### III.8. Prophylaxie

#### III.8.1. Règles d'hygiène

Elles comportent :

- Une hygiène correcte sur les lieux de traite (exploitations), de récolte, puis lors des transports.
- Le strict respect de l'hygiène des usines et des pratiques de la chaîne de fabrication alimentaire et de livraison.

### **III.8.2. Éducation, surveillance, contrôles**

L'éducation sanitaire du personnel de la chaîne de fabrication alimentaire doit porter sur :

- \_ La tenue,
- \_ L'hygiène corporelle,
- \_ L'hygiène générale.

### **III.8.3. Services concernés**

Directions de la santé et de la population :

- \_ Dans chaque Direction de Santé et de la Population (DSP), le médecin de la santé enregistre les déclarations de TIAC et contribue aux enquêtes et interventions nécessaires.
- \_ De même, les services d'hygiène du milieu contribuent aux actions de prévention dans le domaine de l'hygiène alimentaire.

Directions des services vétérinaires :

- \_ Les **D**irections des **S**ervices **V**étérinaires(DSV) ont la responsabilité de la surveillance des animaux producteurs.
- \_ Ils assurent le contrôle des établissements de restauration collective, en liaison avec les DSP.

Directions du centre Algérien du contrôle de la qualité et de l'emballage (CACQE):

- \_ Elles sont responsables de la surveillance des produits alimentaires.
- \_ Elles disposent également de laboratoires spécialisés.

### **III.9. Principes de prévention d'une toxi-infection alimentaire**

L'objectif général de la prévention est d'éviter la contamination et la prolifération bactérienne tout au long de la chaîne alimentaire. Les mesures préventives sont immédiates et à moyen ou long terme, et primaires (prévention de la survenue de TIAC) ou secondaires (prévention de la récurrence de TIAC) (**Delarue et al, 2011**).

**III.9.1. Prévention primaire**

Au niveau des laiteries, les principales mesures préventives sont le respect des règles d'hygiène du circuit alimentaire et du maintien des températures réglementaires : bonnes pratiques de transport, stockage et fabrication du lait et de ses dérivés, et respect strict des températures de traitement (pasteurisation) et des températures de conservation.

En milieu familial, il est recommandé de conserver ces produits sensibles (lait et dérivés) dans le réfrigérateur et de les y placer rapidement après achat.

De bien bouillir le lait destiné aux personnes vulnérables (enfants, personnes âgées, femmes enceintes).

La transmission interhumaine peut être réduite par les mesures d'hygiène simples (lavages soigneux des mains) et certaines bonnes pratiques au moment de la préparation des aliments (nettoyer soigneusement les plans de travail).

**III.9.2. Prévention secondaire**

Différentes mesures préventives peuvent découler de la mise en évidence d'un foyer de TIAC :

- Correction des défaillances identifiées sur la chaîne alimentaire, rappel des règles d'hygiène générale (locaux, personnels, exploitations...)
- Action d'éducation et de formation sanitaires des personnels des exploitations et des usines.

## *Deuxième Partie*

### *Étude expérimentale*

# *Chapitre I*

## *Matériel et Méthodes*

**I.1.L'objectif**

L'objectif de notre travail est l'évaluation de la qualité bactériologique du lait pasteurisé commercialisé dans la commune de Tiaret par conséquent sa répercussion sur l'état de santé du consommateur.

D'une manière spécifique, nous avons réalisé la recherche et le dénombrement des germes témoins du défaut d'hygiène:(flore mésophile aérobie totale, coliformes totaux, coliformes fécaux), ainsi que des germes pathogènes : (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus*) à partir de dix échantillons provenant d'un lait pasteurisé mis en vente sur le marché de la commune de Tiaret.

**I.2.Lieu et période de travail**

Notre étude expérimentale s'est déroulée sur une période s'étalant du 20 Mars au 10 Mai 2018 au niveau du laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaire de TIARET. Nous avons en parallèle tenté de réaliser une étude statistique sur les TIAC pour les années 2015, 2016,2017et le premier trimestre de l'année 2018 à partir des structures concernées : direction de la santé et de la population (DSP), direction du commerce de la wilaya de Tiaret (DCW) et du laboratoire du centre Algérien de contrôle de la qualité et de l'emballage(CACQE).

Le protocole expérimental est schématisé sur les figures ci-contre :

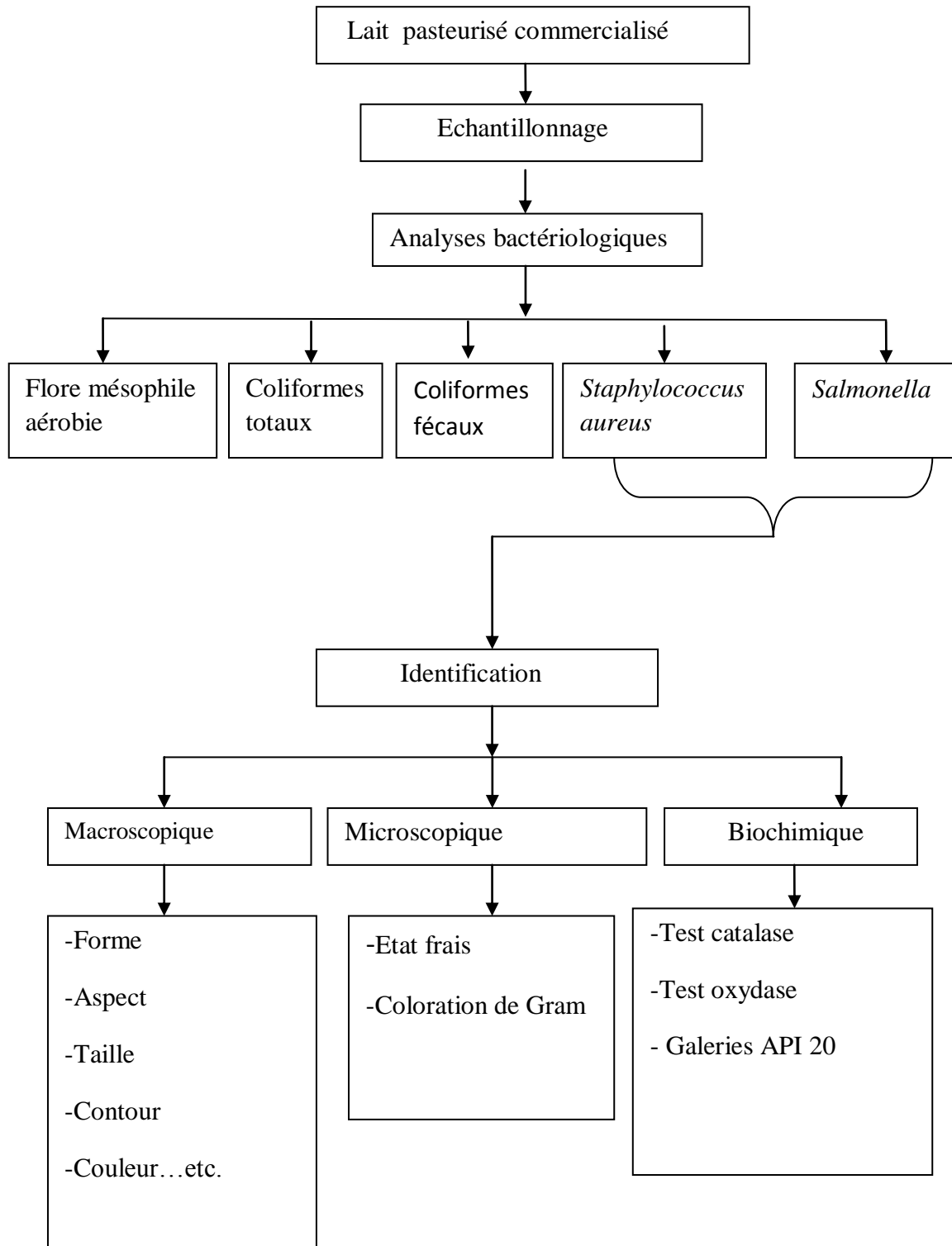
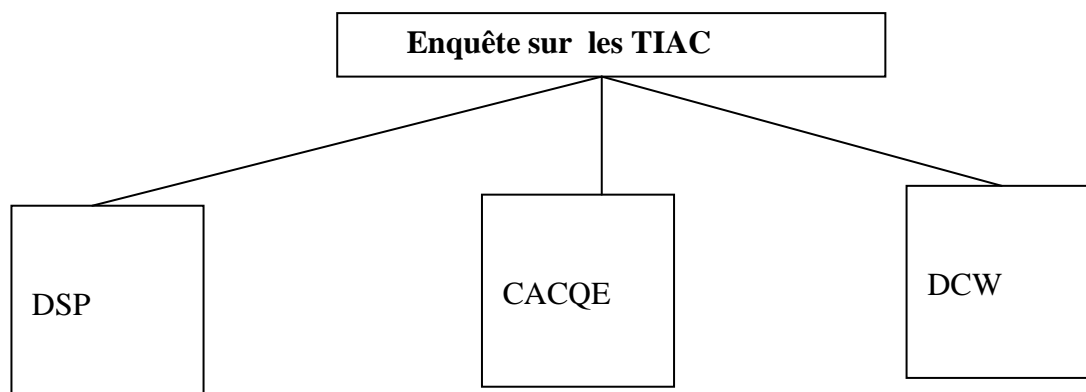


Figure n°04 : Protocole expérimental des analyses bactériologiques du lait pasteurisé.





**Figure n°05 :** Protocol expérimentale des enquêtes sur les toxi-infections alimentaires collectives

### I.3. Analyses bactériologiques

Le matériel et produits utilisés sont les suivant :

- a. Matières premières : lait pasteurisé conditionné commercialisé
- b. Matériels de laboratoire et milieux de culture utilisés

Appareillages et verreries	Milieux et produits utilisés
<p><b>Appareillages</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Microscope optique</li> <li><input type="checkbox"/> Les étuves : à 30°C, 37°C et 44°C</li> <li><input type="checkbox"/> Autoclave</li> <li><input type="checkbox"/> Réfrigérateur</li> <li><input type="checkbox"/> Four pasteur</li> <li><input type="checkbox"/> spectrophotomètre</li> <li><input type="checkbox"/> Agitateur à plaque chauffante</li> <li><input type="checkbox"/> Balance électrique</li> <li><input type="checkbox"/> vortex</li> <li><input type="checkbox"/> Glacière</li> <li><input type="checkbox"/> Bain marie</li> <li><input type="checkbox"/> Bec Bunsen</li> <li><input type="checkbox"/> Bac (cuve)</li> <li><input type="checkbox"/> Portoir</li> </ul>	<p><b>Réactifs et solutions</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Eau (distillée, oxygénée, physiologique)</li> <li><input type="checkbox"/> Alcool</li> <li><input type="checkbox"/> Tellurite de potassium</li> <li><input type="checkbox"/> violet de gentiane</li> <li><input type="checkbox"/> Lugol</li> <li><input type="checkbox"/> Fuschine</li> <li><input type="checkbox"/> Plasma du sang de lapin</li> <li><input type="checkbox"/> Huile d’immersion (l’huile de cèdre)</li> <li><input type="checkbox"/> Désinfectant (hypochlorite de sodium)</li> </ul> <p><b>Milieux de cultures</b></p>

<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Pince en bois</li><li><input type="checkbox"/> ciseaux</li><li><input type="checkbox"/> Une anse métallique</li></ul> <p>Seringues</p> <p><b>verreries</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Pipettes graduées de 1 et 10 ml</li><li><input type="checkbox"/> Pipettes pasteur</li><li><input type="checkbox"/> Micropipette</li><li><input type="checkbox"/> Boîtes de pétri stériles</li><li><input type="checkbox"/> tubes : des tubes à essai stériles</li></ul> <p>Des tubes E.D.T.A</p> <ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Eprouvettes</li><li><input type="checkbox"/> Lames et lamelles stériles</li><li><input type="checkbox"/> Bécher de 250, 500 et 1000ml</li> <li><input type="checkbox"/> Flacons en verre stériles</li></ul>	<p><b>a. Milieux liquides</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Eau peptonée tamponnée (EPT)</li><li><input type="checkbox"/> Tryptone Sel Eau (TSE) comme diluant</li> <li><input type="checkbox"/> Rappaport-vassiliadis avec peptone de soja (RSV)</li> <li><input type="checkbox"/> Emulsion de jaune d'œuf</li></ul> <p><b>b. Milieux solides</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Milieu Plate Count Agar (PCA)</li> <li><input type="checkbox"/> La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL)</li> <li><input type="checkbox"/> Milieu CHAPMAN</li> <li><input type="checkbox"/> Milieu Baird-Parker</li> <li><input type="checkbox"/> La gélose S-S</li></ul>
--	---

#### I.4. Protocole expérimental

Repose sur le principe du JORA de l'année 1998 et de l'année 2017 (annexe 02).

##### I.4.1. Prélèvement

Dix échantillons de lait pasteurisé conditionné en sachet achetés d'un point de vente sise près de l'Institut. La date de fabrication ; la date limite de consommation(DLC) ; l'état de propreté des sachets et les conditions de leur stockage sont vérifiés.

Les échantillons sont acheminés aux laboratoires sous froid, dans une glacière. Le choix des échantillons a été aléatoire selon leur disponibilité.

**Tableau n°05:** Caractéristiques du lait pasteurisé prélevé.

Sachets	Date de fabrication	Date de péremption	Date de prélèvement	Unité de la fabrication
Sachet 01	19/03/2018	25/03/2018	20 /03/2018	<b>Giplait sidi Khaled Tiaret</b>
Sachet 02	24/03/2018	30/03/2018	25/03/2018	
Sachet 03	26/03/2018	01/04/2018	27/03/2018	
Sachet 04	27/03/2018	02/04/2018	28/03/2018	
Sachet 05	07/04/2018	13/04/2018	08/04/2018	
Sachet 06	09/04/2018	15/04/2018	10/04/2018	
Sachet 07	21/04/2018	27/04/2018	22/04/2018	
Sachet 08	22/04/2018	28/04/2018	23/04/2018	
Sachet 09	05/05/2018	11/05/2018	07/05/2018	
Sachet 10	07/05/2018	13/05/2018	08/05/2018	

##### I .4.2. Traitement des échantillons

Dans une zone stérile, devant un bec Bunsen allumé 15 mn avant le travail et sur une paillasse préalablement désinfectée par une solution d'eau de javel, les sachets prélevés sont préparés pour l'analyse microbiologique. L'extrémité du sachet est essuyée avec un coton imbibé d'alcool.

### I.4.3. Préparation des dilutions décimales

Les dilutions décimales successives sont préparées à partir de la solution mère, dans des conditions aseptiques.

Avec des ciseaux flambés, les sachets sont ouverts, 1 ml de lait est prélevé (solution mère) avec une micropipette, versé dans un tube à essai stérile contenant 9 ml de diluant stérile (TSE) : première dilution décimale 1/10 ( $10^{-1}$ ) ; puis des dilutions décimales successives jusqu'à 1/10<sup>4</sup> ( $10^{-4}$ ).

La micropipette ne doit pas être au contact ni avec les parois des tubes, ni avec le liquide diluant utilisé et entre deux dilutions changer l'embout.

### I.4.4. Ensemencement et dénombrement des germes contaminants

Le but des techniques de dénombrement est de déterminer le nombre de microorganisme d'une catégorie donnée contenus dans un volume (ou une masse) donné, donc de mesurer leur concentration (ou la teneur).

La catégorie est définie par des critères spécifiques. Deux possibilités s'offrent au microbiologiste : le dénombrement en **milieu solide** et le dénombrement en **milieu liquide (Joffin et Joffin, 2010)**.

#### Dénombrement en milieu solide

L'ensemencement est effectué selon le microorganisme recherché

**Tableau n°06:** Conditions des cultures des groupes bactériens susceptibles de se développer dans le lait.

Microorganismes recherchés	Milieux de culture	Type d'ensemencement	Température et durée d'incubation
Flore mésophile aérobie totale	PCA	masse	à 30°C pendant 72h
Coliformes totaux	VRBL	Masse	à 37°C pendant 48h
Coliformes fécaux	VRBL	Masse	à 44°C pendant 48 h
<i>Staphylococcus aureus</i>	-CHAPMAN -Baird-Parker	Surface	à 38°C pendant 48 h
<i>Salmonella</i>	S-S	Surface	à 37°C pendant 24 h

#### I.4.4.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Transférer en double 1 ml des dilutions retenues dans des boîtes de Pétri stériles de 90 ou 100 mm de diamètre. Couler 12 à 15 ml de milieu, fondu au préalable et refroidi dans un bain d'eau à 45 ° +0,5 (le maintien dans le bain d'eau ne doit pas excéder trois heures).

Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu.

Laisser solidifier en posant les boîtes sur une surface fraîche et horizontale. Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 30°C +1 pendant 72h +2 h.

Le délai entre la préparation des dilutions et l'introduction de la gélose dans les boîtes ne doit pas excéder 15 minutes (**JORA n° 70 - 2004**).

#### Expression des résultats

Retenir pour comptage, les boîtes de Pétri contenant un nombre de colonies compris entre 10 et 300.

#### Mode de calcul

Calculer le nombre de micro-organismes par millilitre de lait à l'aide de la formule suivante :

Nombre/ml = Nombre total de colonies comptées/ Volumeensemencé de l'échantillon

$$N/ml = \frac{\Sigma c}{(n_1 + 0,1 n_2) d}$$

Où :

c : Somme totale des colonies comptées.

n<sub>1</sub> : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n<sub>2</sub> : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

d : Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus (**JORA n° 70 - 2004**).

#### I.4.4.2. Dénombrement des coliformes

-introduire au fond d'une boîte de pétri 1cm<sup>3</sup> de produit pur ou de chaque dilution.

-verser 12cm<sup>3</sup> environ de milieu en surfusion, mélanger et laisser prendre en masse.

-recouvrir de 4cm<sup>3</sup> de milieu (double couche).

**Coliformes à 37°C**

Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 37°C pendant 48 heures.

**Coliformes fécaux**

Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 44°C +1°C pendant 48 heures.

**Expression des résultats****Sélection des boîtes**

Retenir pour comptage, les boîtes de Pétri contenant moins de 150 colonies caractéristiques rouge foncé d'un diamètre d'au moins 0,5 mm.

**Mode de calcul**

Donner le résultat des coliformes par millilitre de lait après avoir effectué la moyenne arithmétique des colonies comptées sur boîtesensemencées par le même volume de l'échantillon (**JORA n° 70 - 2004**).

**I.4.4.3. Dénombrement de *Staphylococcus aureus***

Déposer un volume V(en général 0,1cm<sup>3</sup>) à la surface du milieu utilisé puis étaler à l'aide d'un étaleur stérile (**Joffin et Joffin, 2010**).

**Milieu de Chapman solide**

Ce milieu est très peu utilisé en microbiologie alimentaire.

Il contient des peptones, du mannitol, rouge de phénol et un inhibiteur, le Na Cl à haute concentration à 75g/L.

Les *staphylococcus aureus* donnent des colonies jaunes (mannitol +) (**Joffin et Joffin, 2010**).

**Milieu de Baird –Parker solide**

C'est le milieu de choix en microbiologie alimentaire.

Il est extrêmement riche (peptones, extraits de viande, peptone de levure, jaune d'œufs, glycolle, pyruvate) et contient :

-du chlorure de lithium (rôle inhibiteur probable) ;

-du tellurite possédant un effet inhibiteur important et qui peut être réduit en tellure noir (rôle d'indicateur). Tellurite et jaune d'œuf, thermosensibles, sont apportés au moment du coulage (1cm<sup>3</sup>).

Les *Staphylococcus aureus* donnent des colonies noires (réduction du tellurite en tellure), avec un halo clair dû à la protéolyse des protéines du jaune d'œuf, et, éventuellement, un liseré blanc opaque (précipitation des acides gras produits par la lécithinase qui hydrolyse la lécithine du jaune d'œuf).

Sur ce milieu, d'autres bactéries peuvent donner des aspects identiques : *Micrococcus*, *Bacillus*, ainsi que des champignons (levures). La lecture de *Proteus* est possible (**Joffin et Joffin, 2010**).

Les différentes boîtes numérotées sont incubées à l'étuve +37°C pendant 24 heures (**JORA n° 70 - 2004**).

#### **I.4.4.4. Recherche des *Salmonella***

##### **Principe**

Le nombre de *Salmonella* étant en général faible dans le produit, il est nécessaire de procéder à un pré-enrichissement et à un enrichissement dans un milieu sélectif. L'isolement des *Salmonella* est ensuite réalisé sur milieux sélectifs classiques et les colonies suspectes sont identifiées par les techniques classiques jusqu'à l'identification immunologique (sérotypage/sérogroupe) (**Joffin et Joffin, 2010**).

##### **Première étape : Pré-enrichissement non sélectif**

Prélever aseptiquement, 25 ml de lait et les rassembler dans un récipient stérile de 1,5 à 2 litres contenant 225ml de solution de l'eau peptonée tamponnée.

Mélanger soigneusement. Incuber à l'étuve à 37° pendant 18+2 heures.

##### **Deuxième étape : Enrichissement sélectif**

Introduire 1 ml de lait pré-enrichi dans 9 ml de bouillon Rappaport-vassiliadis avec peptone de soja (RSV), faire incuber à l'étuve à 37° pendant 24 heures.

##### **Troisième étape : Isolement**

Après l'incubation, pratiquer à partir du bouillon des isolements à la surface du milieu sélectif solide (S-S) coulé de préférence dans des boîtes de Pétri de 140 mm.

Retourner les boîtes à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Si le développement est insuffisant, poursuivre l'incubation.

### Quatrième étape : identification

Examiner les boîtes. Les colonies suspectes sont lactose négatif, H<sub>2</sub>S positif ou négatif.

Les résultats retrouvés pour (Staphylocoques et Salmonelles) nous ont incités à procéder à leur identification.

## I.5. Identification

### I.5.1) Examen macroscopique

Consiste à étudier la croissance, la forme, l'aspect, le contour et la couleur des colonies.

### I.5.2) Examen microscopique

Coloration de Gram (annexe 03).

Etat frais (annexe 03).

### I.5.3) Etude biochimique

#### a) Test catalase

#### Principe

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives.

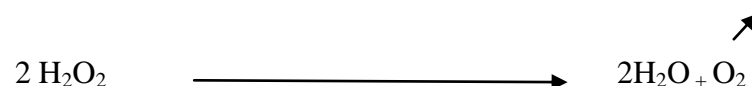
Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégrade.

#### Technique

Sur une lame porte objet propre, poser une goutte d'eau oxygénée et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose.

#### Résultat

Effectuer le test sur les souches à caractériser et observer le dégagement de bulles de gaz qui indique la présence de la catalase : test catalase (+) selon la réaction suivante :



Dans le cas négatif il n'y a pas formation de bulles de gaz.



**b) Test oxydase****Principe**

L'oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes.

**Technique**

- Déposer sur une lame porte-objet propre, un disque (**ox**) et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée stérile ou d'eau physiologique.
- Prélever une partie de la colonie étudiée à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée stérile et l'étaler sur le disque.

**Résultat**

Une coloration violet foncé apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes puis vire au noir : test oxydase(+). Dans le cas négatif la couleur ne vire pas (Delarras, 2007).

**c) Epreuve de la coagulase** (annexe 03).

**d) Galerie API** (annexe 03).

# *Chapitre II*

## *Résultats et Discussion*

### II.A. Analyses bactériologiques

Dans le but d'évaluer la qualité bactériologique du lait pasteurisé mis sur le marché de la commune de TIARET, nous nous sommes basées sur la recherche des principaux contaminants du lait.

Les germes rencontrés dans les dix échantillons de lait pasteurisé analysé révèlent selon l'aspect des colonies obtenues sur des milieux de cultures sélectifs, la présence de germes appartenant à la flore mésophile aérobie totale, des coliformes totaux, des coliformes fécaux, des staphylocoques et des salmonelles (tableau 07).

**Tableau n°07** : Aspect des colonies bactériennes obtenues.

Germes	Aspect des colonies
FMAT	Colonies de couleur blanche de différente taille.
Coliformes totaux et fécaux	Colonies caractéristiques rouge foncé d'un diamètre d'au moins 0,5 mm.
Staphylocoques	Sur milieu BP : Colonies noires, brillantes, convexes, entourées d'une zone transparente qui peut être translucide Sur milieu CHAPMAN : Colonies jaunes (mannitol +)
Salmonelles	Colonies incolores, transparentes, avec ou sans centre noir (production d'H <sub>2</sub> S).

Les résultats recueillis sont présentés dans le tableau 08:

Tableau n° 08: Résultats des principaux germes recherchés et retrouvés

Nombre des Echantillons	Germes recherchés				
	FMAT (ufc/ml)	Coliformes totaux (ufc/ml)	Coliformes fécaux (ufc/ml)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i>
Echantillon 1	$6.10^5$	2.10	Absence	Absence	Absence
Echantillon 2	$3,6.10^3$	Absence	Absence	Absence	Absence
Echantillon 3	$1.10^3$	$4.10^2$	$1.10^2$	Absence	Absence
Echantillon 4	$1,3.10^4$	Absence	Absence	Absence	Absence
Echantillon 5	$2,5.10^5$	$2.10^2$	Absence	Absence	Absence
Echantillon 6	$12.10^4$	Absence	Absence	Absence	Présence
Echantillon 7	$1,4.10^4$	$1.10^2$	$1.10^2$	Absence	Absence
Echantillon 8	$7.10^2$	2.10	Absence	Absence	Absence
Echantillon 9	$1,7. 10^4$	$2.10^3$	Absence	Absence	Absence
Echantillon 10	$1,1.10^5$	$10.10^3$	Absence	Absence	Absence
<b>Norme</b>	<b><math>3.10^4</math></b>	<b>1</b>	<b>Absence</b>	<b>1</b>	<b>Absence</b>

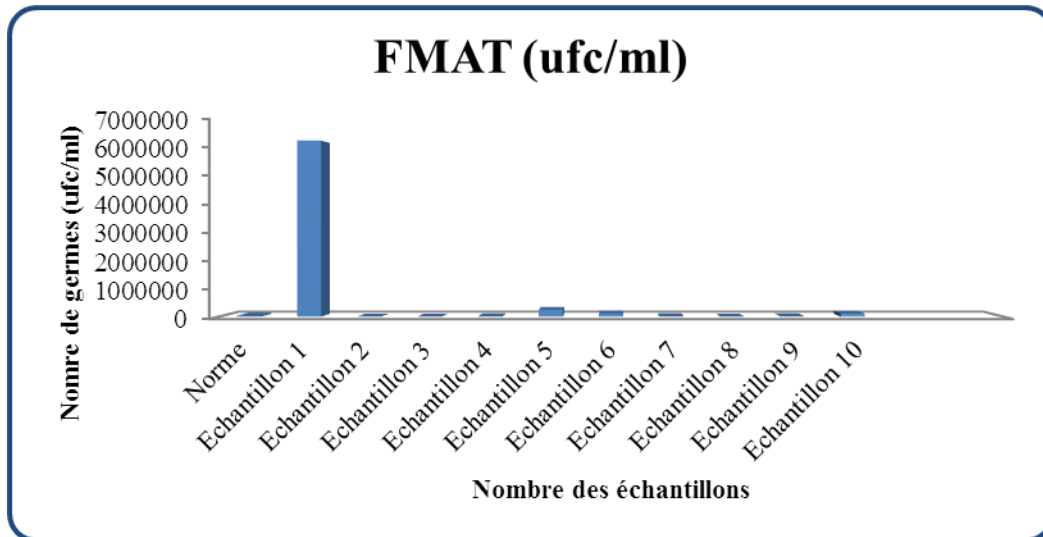
Les échantillons prélevés présentent une charge microbienne de la flore mésophile aérobie totale qui varie entre  $7.10^2$  et  $6,3.10^5$  ufc/ml, celle des coliformes totaux est de 17 ufc/ml à  $9,9.10^3$  ufc/ml, pour les coliformes fécaux elle est absente dans tous les échantillons exceptionnellement présente dans les échantillons n°03 et 07.

L'absence de *Staphylococcus aureus* est remarquée dans les dix échantillons analysés cependant signalons la présence de *Staphylococcus xylosum* dans huit échantillons.

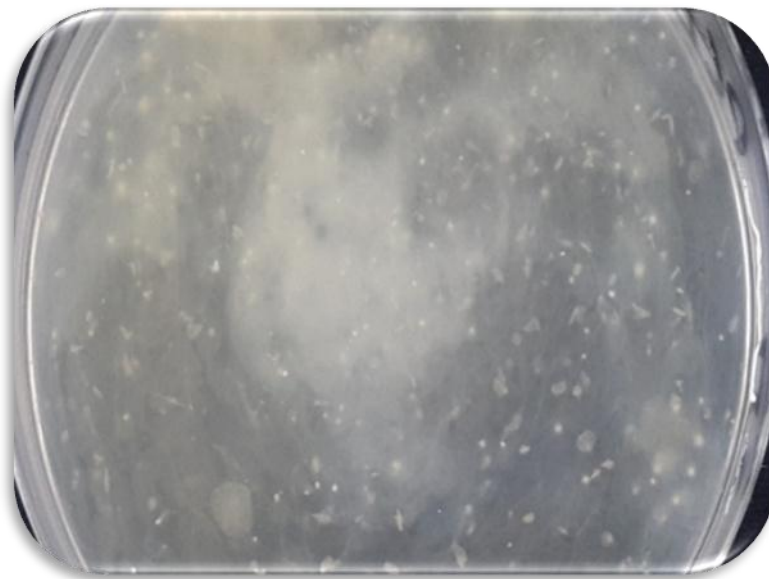
Pour *Salmonella* ; elle est présente dans l'échantillon 06.

Ces résultats sont illustrés par les histogrammes et les figures ci-dessous :

### II.A.1.Flore mésophile aérobie totale



**Figure n°06:** Représentation des résultats obtenus pour la FMAT en comparaison avec la norme.



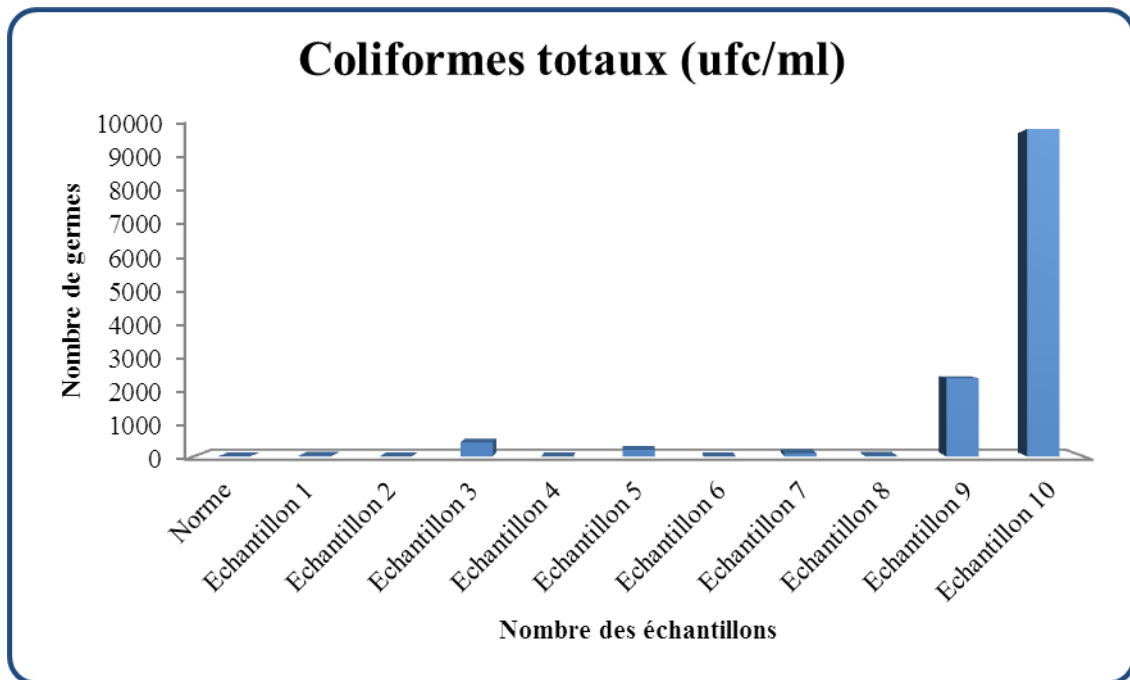
**Figure n°07:** Colonies bactériennes sur milieu PCA.

Les dix échantillons analysés de lait pasteurisé montrent qu'il contient une charge variable de la FMAT, située entre  $7.10^2$  et  $6,3. 10^5$ , dépassant alors la norme du JORA.

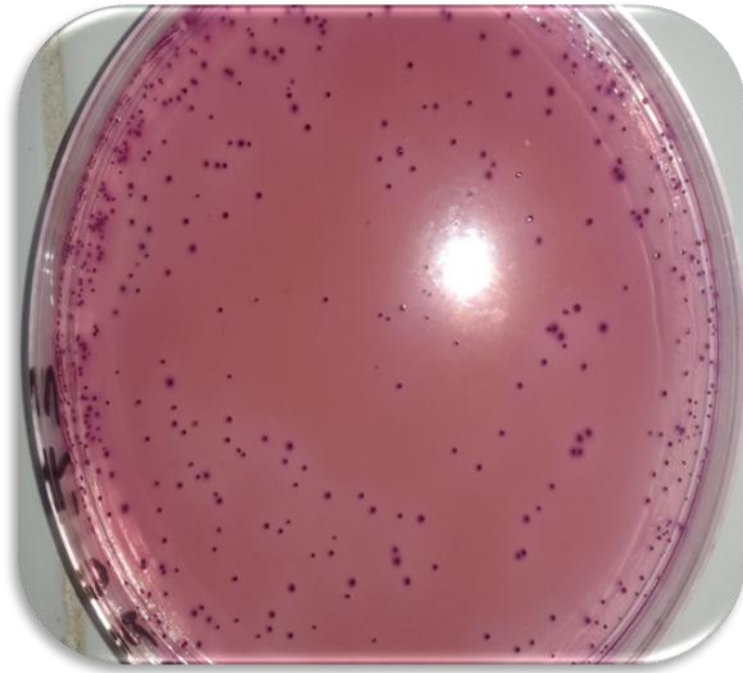
Selon **Guiraud (2012)**, leur numération est intéressante au niveau industriel comme test de qualité hygiénique globale. Le nombre des germes « totaux » pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de l'état de décomposition du produit.

Au cours des traitements technologiques, permettra de juger de l'incidence des diverses opérations.

### II.A.2.Coliformes totaux



**Figure n°08:** Représentation des résultats obtenus pour les coliformes totaux en comparaison avec la norme.



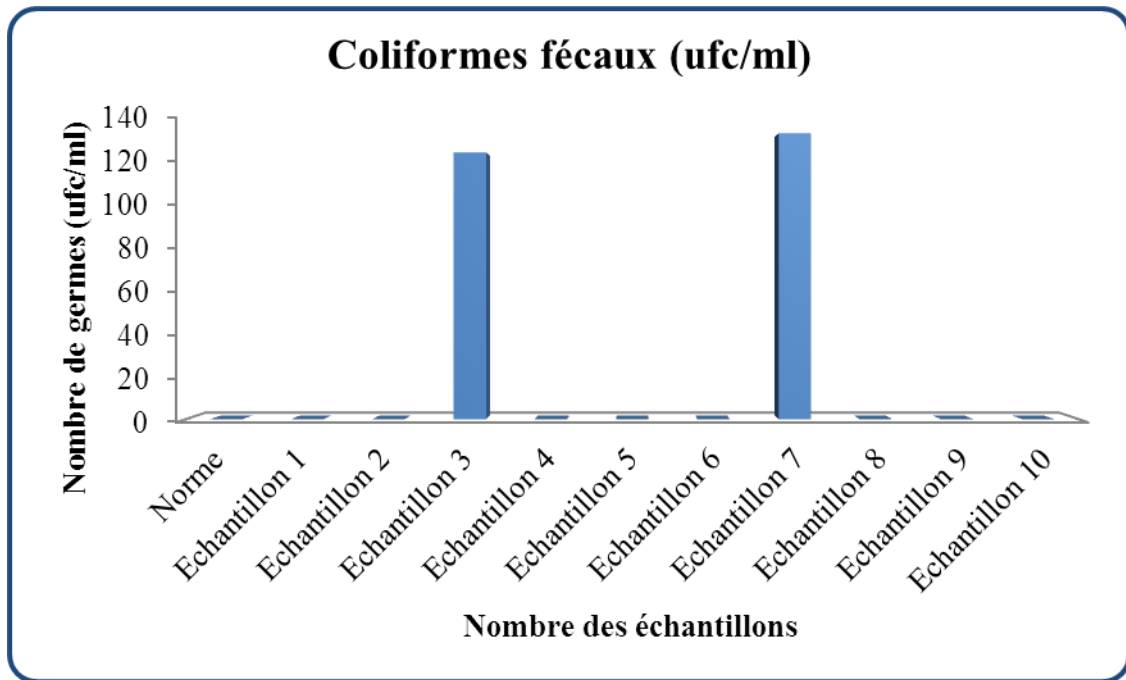
**Figure n° 09:** Colonies des coliformes totaux sur milieu VRBL.

Dans les échantillons 01, 03, 05, 07, 08, 09 et 10 le nombre des coliformes totaux est supérieur à la norme, cette augmentation permet de mettre en évidence un défaut de process ou de mauvaises conditions de fabrication (recontamination) (**Guiraud, 2012**). Pour les trois échantillons restants le nombre de germes décelé est inférieur à la norme.

Selon **Guiraud (2012)**, les coliformes ne sont généralement pas dangereux du point de vue sanitaire sauf en cas de prolifération extrêmement abondante ou de réceptivité particulière du consommateur. Comme les Entérobactéries totales, ils constituent un bon indicateur de qualité hygiénique pendant ou après la transformation.

Selon **Dromigny(2012)**, les coliformes (comme les Entérobactériaceae, dont ils sont proches) sont utilisés comme critères d'hygiène des procédés.

## II.A.3. Coliformes fécaux



**Figure n° 10:** Représentation des résultats obtenus pour les coliformes fécaux en comparaison avec la norme.



**Figure n° 11 :** Colonies des coliformes fécaux sur milieu VRBL.



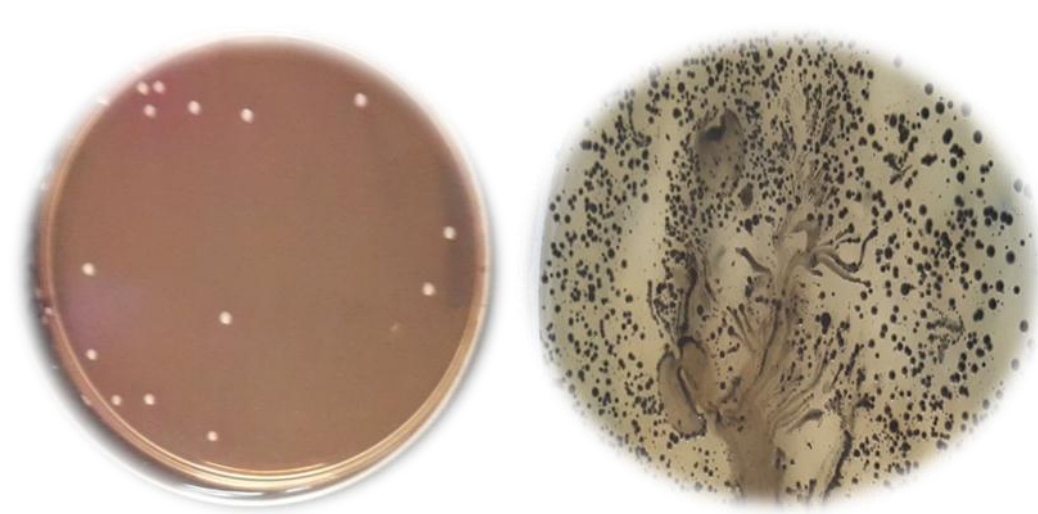
L'absence des coliformes fécaux dans les échantillons 01,02,04,05,06,08,09 et 10 indique leur conformité à la norme (JORA) seulement leur présence dans les échantillons 03 et 07 confirme leur non conformité.

Selon **Guiraud (2012)**, le dénombrement des coliformes thermotolérants (coliformes « fécaux ») est un bon indicateur sanitaire, et dans de nombreux cas un assez bon indice de contamination fécale à partir de l'homme et des animaux. Ces coliformes ne provoquent généralement pas de maladies chez l'homme adulte, sont souvent associés à des Entérobactéries pathogènes comme les *Salmonella*.

Mais leur présence dans un aliment signe une contamination fécale humaine ou animale, ou une contamination environnementale, non maîtrisées par les traitements (**Dromigny, 2012**).

#### II.A.4. *Staphylocoque aureus*

L'isolement de colonies bactériennes sur milieu Chapmanet sur milieu Baird-Parker pour la recherche de *Staphylococcus aureus* nous a permis d'obtenir une autre espèce dont les colonies non encore identifiées sont dans les boîtes de pétri ci-jointes.



**Figure n°12:** Colonies de Staphylocoques **Figure n°13 :** Colonies de Staphylocoques sur milieu CHAPMAN. sur milieu Baird-Parker.

*Staphylococcus aureus* responsables d'intoxications alimentaires et peuvent faire courir des risques au consommateur, ils sont en fait recherchés et dénombrés comme test d'hygiène des procédés pour savoir s'il y a eu ou non une contamination par le

personnel, étant soit hébergés dans le rhinopharynx de porteurs asymptomatiques, soit présents au niveau d'infections cutanées (Joffin et Joffin 2010).

*Staphylococcus aureus* n'a pas été isolé à partir des dix échantillons analysés cependant *Staphylococcus xylosus* est isolé des huit échantillons exceptionnellement l'échantillon 01 et 02.

#### II.A.4.1. Résultats d'identification des Staphylocoques retrouvés

**Tableau n°09** : Résultats des études microscopiques et biochimiques.

Test d'identification		Résultat
Examen microscopique	Coloration de Gram	Des coques Gram positif forment des grappes de cellules.
Identification biochimique	Test catalase	Positif
	Test oxydase	Négatif
	Epreuve de la coagulase	Négatif
	Galerie api STAPH	Les tests : GLU, TRU, MNE, MAL, LAC, TRE, MAN, NIT, PAL, XYL, SAC, MDG, NAG, ADH, sont positifs et les autres tests sont négatifs (figure n°20).

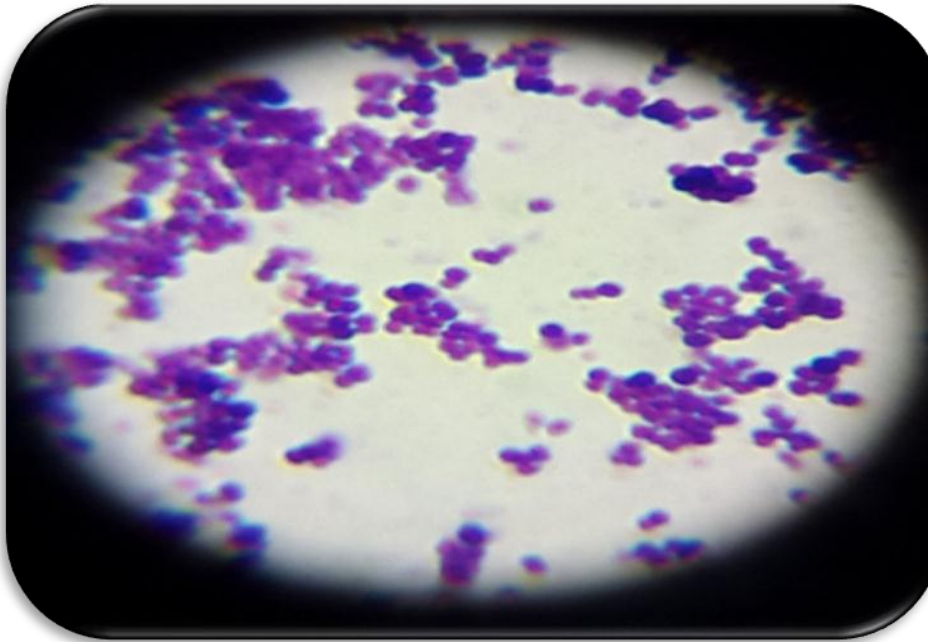


Figure n°14 : Aspect microscopique de *Staphylococcus xylosus* après coloration de Gram (Gr x100).



Figure n°15: Résultat d'identification biochimique sur galerie api Staph.

#### II.A.4.2. Lecture de la Galerie

L'identification obtenue à partir du profil numérique (6736471) et à l'aide du logiciel d'identification api web. La bactérie isolée est *Staphylococcus xylosus*, avec une probabilité de 96,8%.

La plupart des Staphylocoques à Coagulase Négative(SCN) ont été isolés de sources environnementales très variées : terre, sable, eau, aliments, surfaces de travail, ustensiles de cuisine, vêtements, air, poussière.

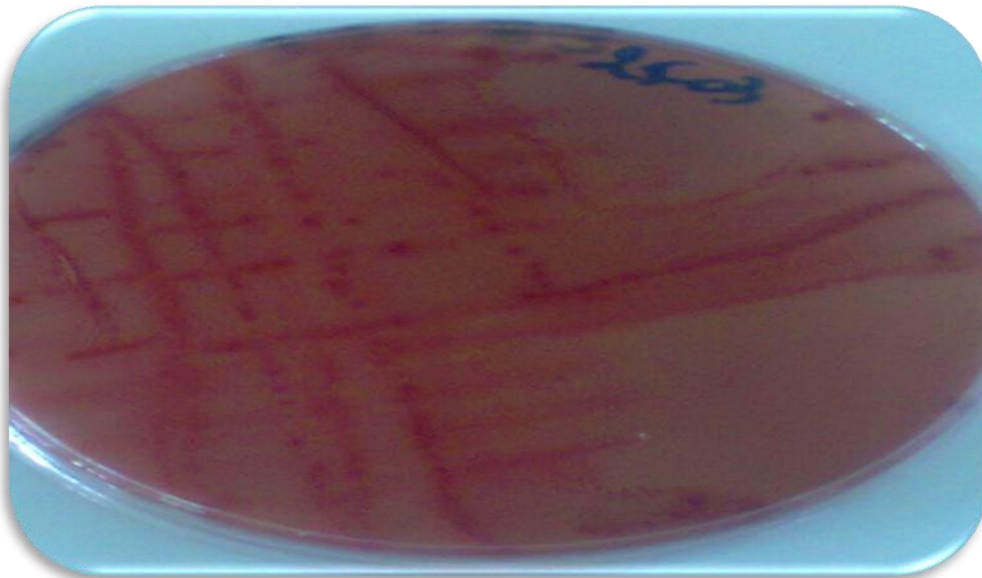
Ainsi, beaucoup de SCN se retrouvent dans les produits alimentaires, particulièrement ceux d'origine animale, comme les produits laitiers et carnés.

De même, dans le lait de vaches atteintes ou non de mammites, de nombreuses espèces ont été identifiées, comme *S. capitis*, *S. chromogenes*, *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lentus*, *S. saprophyticus*, *S. simulans*, *S. warneri* et *S. xylosum* (Ratheret al., 1986 ; Ben Hassenet al., 2003).

#### **II.A.5. *Salmonella***

Sur milieu S-S sont obtenues des colonies bactériennes (figure 16).

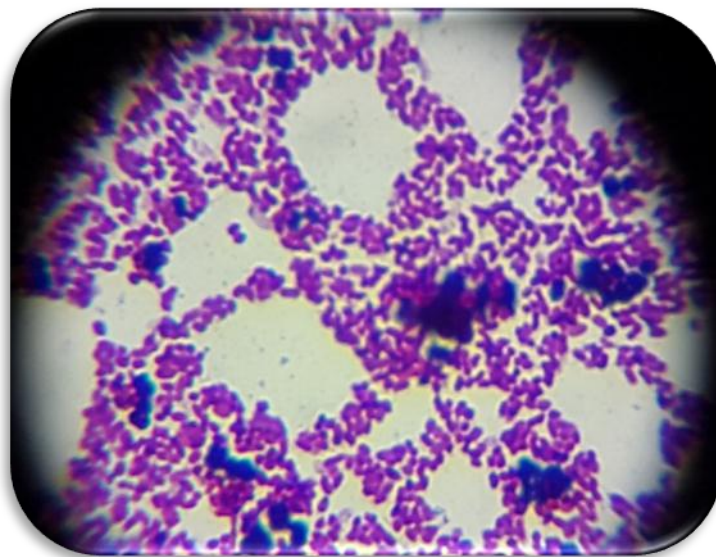
Sur les dix échantillons testés *Salmonella* est isolée à partir de l'échantillon n°6, soit 10% des échantillons.



**Figure n°16:** Colonies de *Salmonella* sur milieu S-S.

II.A.5.1.Résultat d'identification

Test d'identification		Résultat
Examen microscopique	Coloration de Gram	Bacille Gram négatif
	Etat frais	Mobile
Identification biochimique	Test catalase	Positif
	Test oxydase	Négatif
	Galerie api 20 E	<b>Les tests :</b> ONPG ADH LDC ODC CIT H <sub>2</sub> S IND GLU MAN SOR RHA SAC MEL AMY ARA sont positifs et les autres tests sont négatifs (figure 23).



**Figure n°17 :** Aspect microscopique des Salmonelles après coloration de Gram(Grx100).

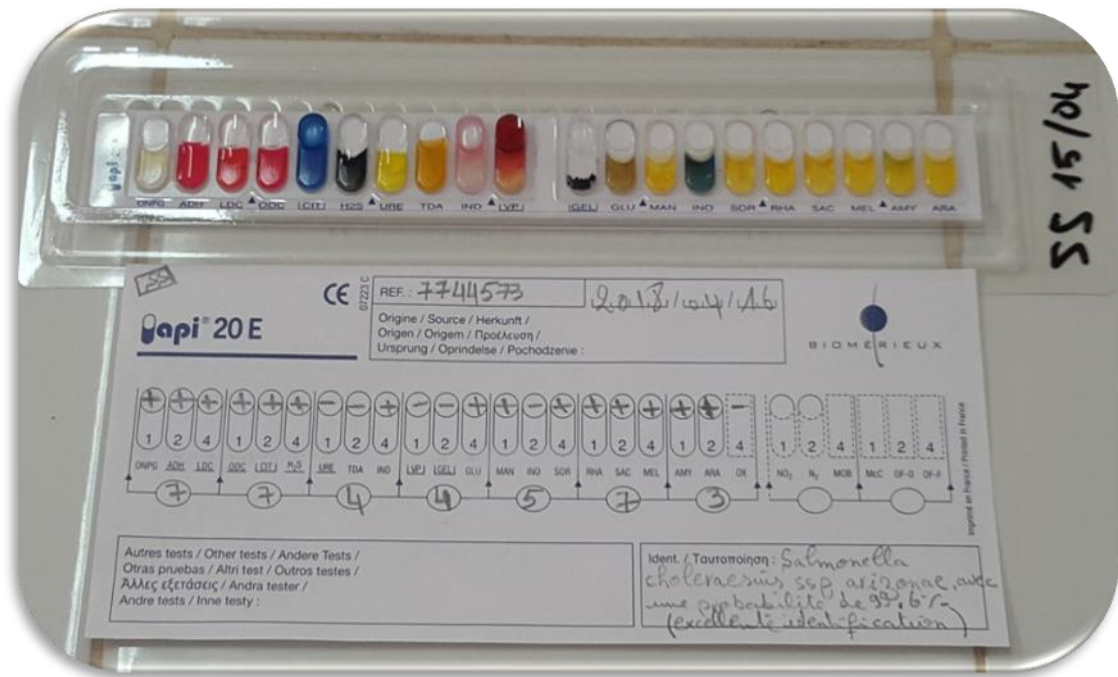


Figure n°18 : Résultat d'identification biochimique sur Galerie api 20E.

#### II.A.5.2. Lecture de la Galerie

L'identification obtenue à partir du profil numérique(7744573) et à l'aide du logiciel d'identification api web. La bactérie isolée est *Salmonella choleraesuis ssp arizonae*, avec une probabilité de 99,6% (excellente identification).

Selon **Joffin et Joffin (2010)**, les *Salmonella* sont des bactéries toujours pathogènes provoquant des gastro-entérites (avec éventuellement de graves complications) et très fréquentes. Leur recherche et leur identification permettent donc de montrer le danger possible d'un produit.

Le manque d'hygiène peut entraîner la présence sur la peau de bactéries intestinales (contamination fécale : *Salmonella*) (**Guiraud, 2012**).

Dans notre étude *Salmonella choleraesuis ssp arizonae* est retrouvée dans un échantillon sur les dix testés ; probablement c'est une contamination post pasteurisation qui peut être due à une pasteurisation mal menée comme le rapporte **Joffin et Joffin (2010)** : les laits ou produits laitiers les plus dangereux sont ceux qui sont traités (lait cru, fromage au lait cru). Les laits stérilisés ne présentent aucun danger tandis que les produits pasteurisés peuvent éventuellement être encore porteurs de germes si la pasteurisation n'a pas été bien conduite.

Il peut s'agir encore d'une recontamination ce qui se concorde avec (**Brisabois et al,n.d**) :le lait pasteurisé est habituellement exempt de toutes salmonelles car celles-ci sont éliminées lors de la pasteurisation. Des incidents peuvent survenir uniquement par recontamination après la pasteurisation.

### II.B. Enquête sur les TIAC (de l'an 2015 jusqu'au premier trimestre de l'an 2018) dans la willaya de Tiaret.

Les informations recueillies de la DSP du CACQE et de la DCW nous ont permises d'établir les figures ci-contre :

**Tableau n°10 : Répartition annuelle des TIAC dans la willaya de Tiaret (sources : DSP et DCW).**

Année	Nombre total de TIAC enregistré
2015	119
2016	184
2017	360
2018(1 <sup>er</sup> trimestre)	47

Le nombre total de TIAC relevé durant les années 2015 ; 2016 ; 2017 et le premier trimestre de l'an 2018 est respectivement de 119 ; 184 ; 360 et 47.

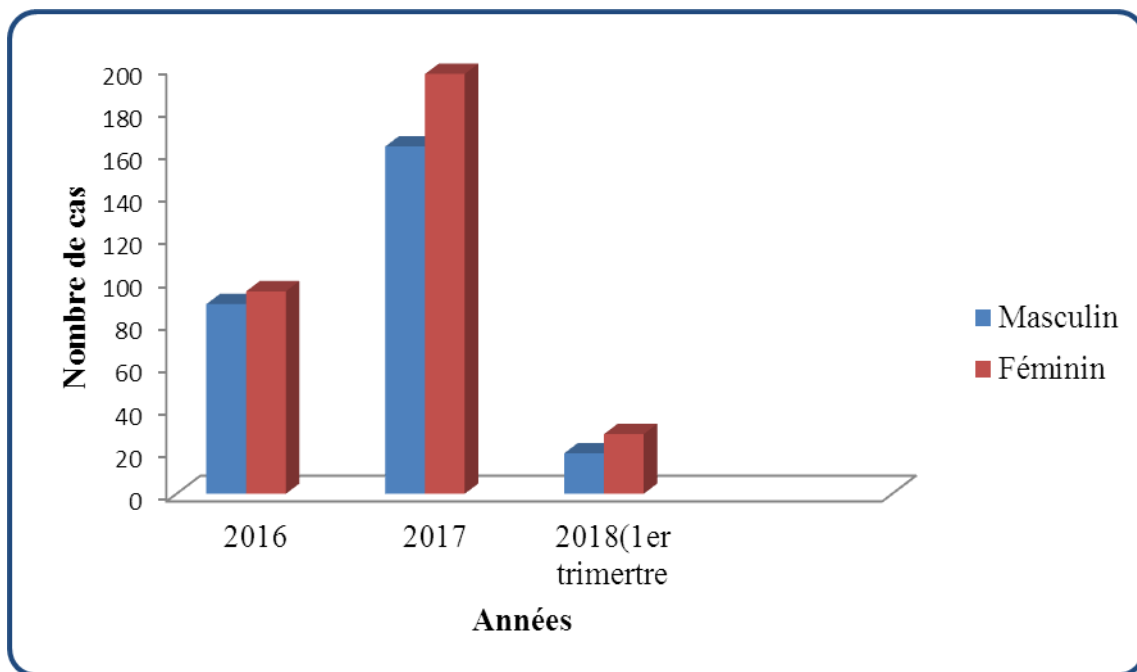
**Tableau n°11: Répartition annuelle des TIAC en fonction du sexe dans la willaya de Tiaret (2016-2017 et le premier trimestre de l'an 2018)(sources : DSP et DCW).**

Année	Féminin	Masculin
2016	95	89
2017	197	163
2018(1 <sup>er</sup> trimestre)	28	19

Le tableau 11 révèle l'atteinte des deux sexes féminin et masculin par les TIAC ; soit respectivement ; 95 et 89 en 2016, 197 et 163 en 2017 et 28 et 19 durant le premier trimestre de l'an 2018.

Ces résultats sont illustrés sur la figure 19.





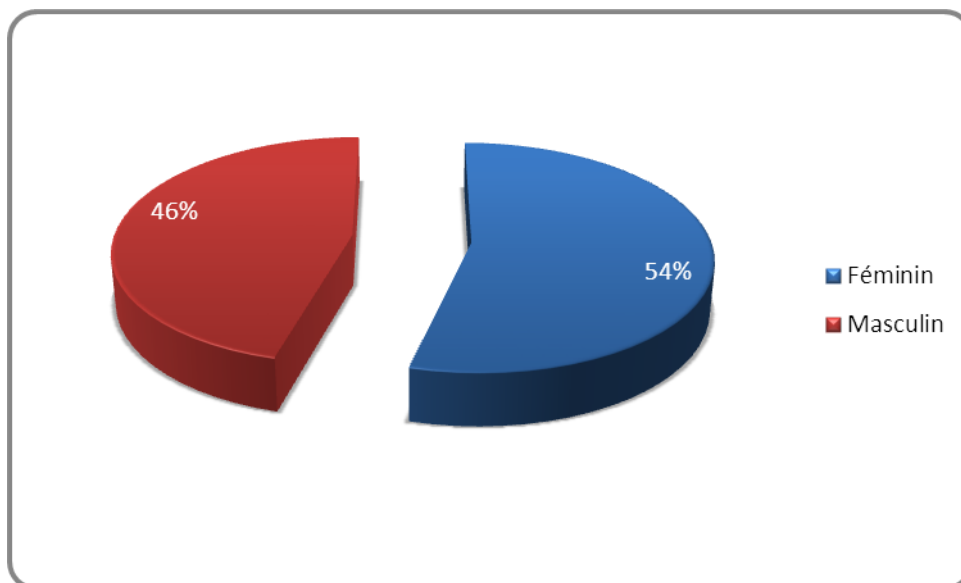
**Figure n°19** : Répartition annuelle des TIAC en fonction du sexe dans la willaya de Tiaret (2016-2017 et le premier trimestre de l’an 2018)(sources : DSP et DCW).

**Tableau n° 12**:Répartition moyenne des TIAC selon le sexe dans la willaya de Tiaret (2016-2017 et le premier trimestre de l’an 2018)(sources : DSP et DCW).

Année	Féminin		Masculin	
	Nombre	%	Nombre	%
2016 au 1 <sup>er</sup> trimestre de l’an 2018.	320	54%	271	46%

Le tableau ci-contre montre une atteinte moyenne de TIAC de 320 soit ; 54% pour le sexe féminin et est de 271 soit ; 46% pour le sexe masculin.

Ces résultats sont illustrés par le diagramme 18.

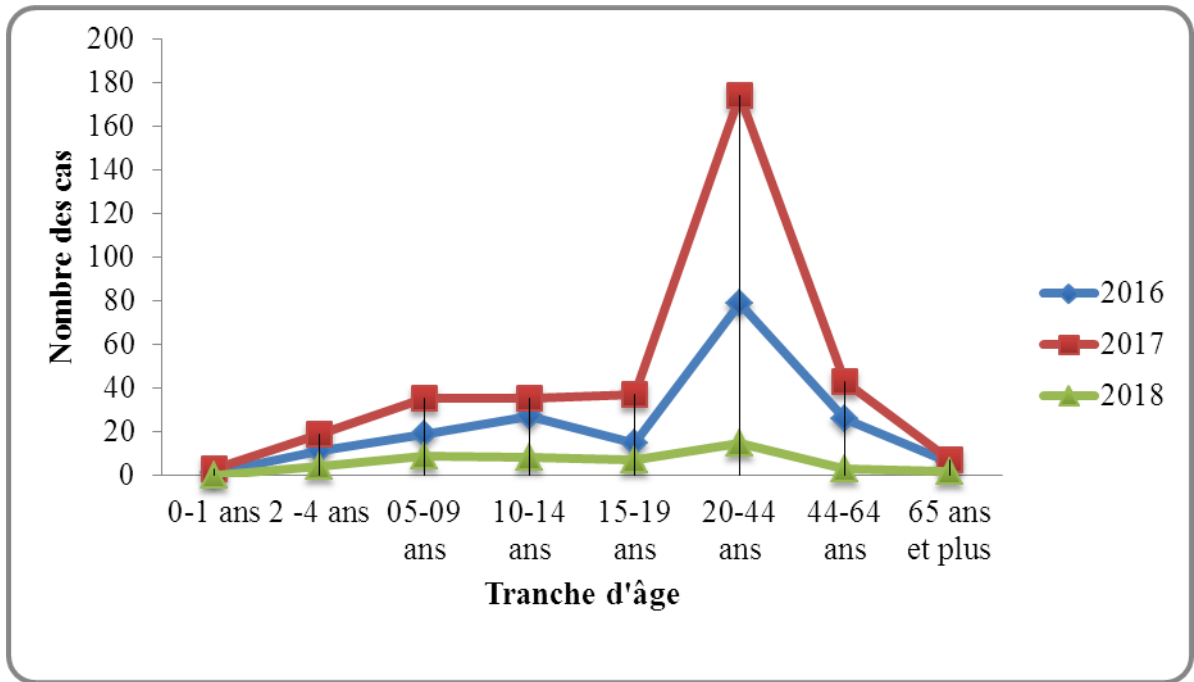


**Figure n°20** : Répartition moyenne des TIAC selon le sexe dans la willaya de Tiaret de l’an 2016 au 1<sup>er</sup> trimestre de l’an 2018 (sources : DSP et DCW).

**Tableaux n°13**: Répartition des foyers de TIAC dans la willaya de Tiaret de l’an 2016 au 1<sup>er</sup> trimestre de l’an 2018 en fonction des tranches d’âge (sources : DSP et DCW).

Année	Tranche d’âge							
	0-1	2-4	5-9	10-14	15-19	20-44	45-64	65 et plus
2016	1	11	19	27	15	79	26	6
2017	3	19	35	35	37	174	43	7
2018(1 <sup>er</sup> trimestre)	0	4	9	8	7	15	3	2

Le tableau 13 révèle que les tranches d’âge de (0-65 et plus) sont touchées par les TIAC la prédominance est remarquée pour la tranche d’âge de 20-44 durant l’année 2016 au premier trimestre de l’an 2018. Notamment le nombre est élevé est de 174 cas en 2017. Ces résultats sont illustrés sur la figure 19.



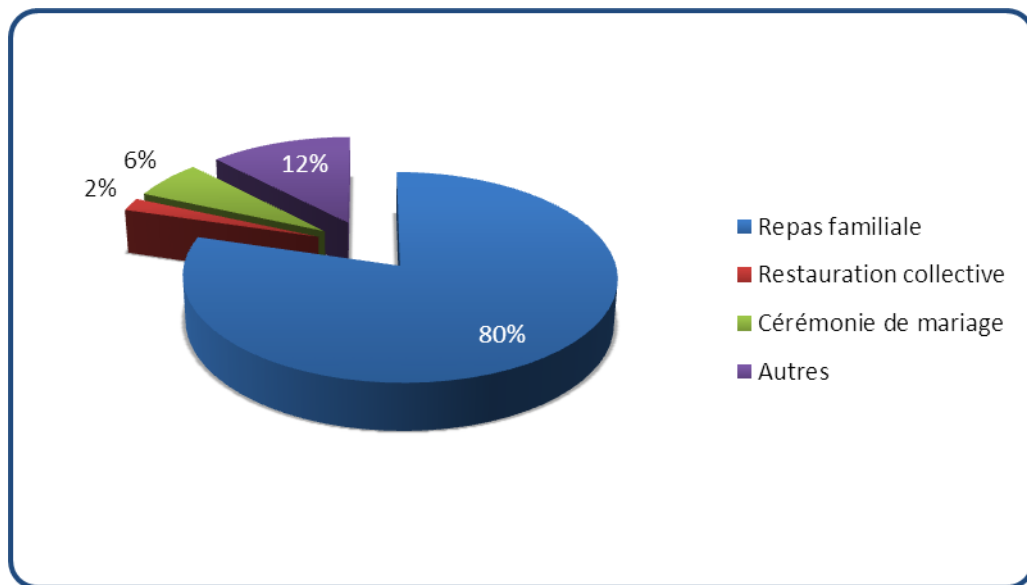
**Figure n°21** : Répartition annuelle des TIAC par tranche d'âge dans la willaya de Tiaret de l'an 2016 au 1<sup>er</sup> trimestre de l'an 2018(sources : DSP et DCW).

**Tableau n° 14**: Nombre de TIAC en fonction des circonstances d'apparition en 2017 et le premier trimestre de l'an 2018 dans la willaya de Tiaret (sources : DSP et DCW).

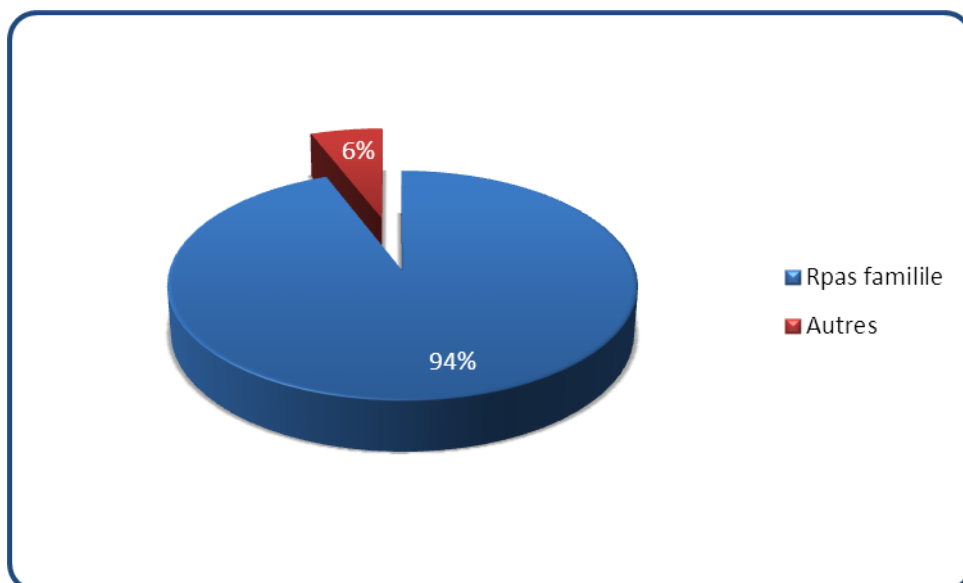
Année	Circonstance d'apparition de TIAC	Nombre
2017	Repas familiale	39
	Restauration collective	1
	Cérémonie de mariage	3
	Autres	6
2018 (1 <sup>er</sup> trimestre)	Repas familiale	16
	Repas familiale (cité universitaire)	1

Le tableau 13 révèle la présence des TIAC dans différentes circonstances pendant l'année 2017 et le premier trimestre de l'an 2018 aux nombres respectifs suivants soit ; 39, 16 et 1 cas (cité universitaire) due à un repas familiale. Les autres cas sont dus à une restauration collective ; une cérémonie de mariage et autres circonstances.

L'illustration de ces résultats est représentée par les diagrammes qui suivent :



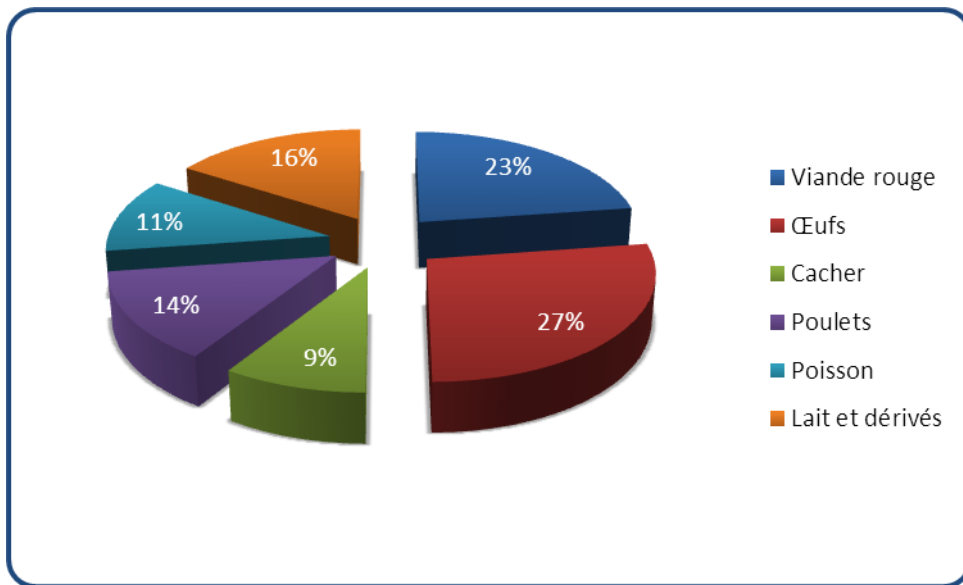
**Figure n° 22:** Répartition des TIAC en fonction des circonstances d'apparition dans la willaya de Tiaret en 2017 (sources : DSP et DCW).



**Figure n°23 :** Répartition des TIAC en fonction des circonstances d'apparition dans la willaya de Tiaret en 2018 (1<sup>er</sup> trimestre) (sources : DSP et DCW).

**Tableau n°15 :** Les aliments le plus incriminés dans les TIAC durant 2017 et le 1<sup>er</sup> trimestre de l'année 2018 dans la willaya de Tiaret (sources : DSP et DCW).

Année	Aliments incriminés	Taux
2017 et le 1 <sup>er</sup> trimestre de l'année 2018	Viande rouge	23%
	Œufs	27%
	Cacher	9%
	Poulets	14%
	Poisson	11%
	Lait et dérivés	16%



**Figure n° 24:** Répartition des aliments le plus incriminés dans les TIAC dans la willaya de Tiaret durant 2017 et le 1<sup>er</sup> trimestre de l'année 2018 (sources : DSP et DCW).

Les aliments le plus incriminé dans les TIAC sont les œufs avec un pourcentage de 27%, les viandes rouges, poulets, poisson et cacher avec des fréquences respectives de 23%, 14%, 11%, 9%, pour le lait et dérivés à une fréquence remarquable de 16%.

Le lait et les produits laitiers semblent occuper une part constante relativement faible en ce qui concerne les épisodes de TIAC (De Buyser et al, 2005). Ce qui se concorde avec notre étude statistique dans laquelle le pourcentage de TIAC retrouvé est de 16%.Egalement ; en France, le bilan des systèmes de surveillance des toxi-infections

d'origine Alimentaire (TIAC) montre que le lait et les produits laitiers sont à l'origine de seulement 5% de ces infections. Dans ce cas, l'agent le plus souvent impliqué dans les TIAC est *staphylococcus aureus*, suivi des Salmonelles.

Signalons que l'agent bactérien le plus fréquemment mis en cause dans les TIAC dues aux produits laitiers est *S. aureus*. Les aliments incriminés dans les TIAC à *Staphylococcus aureus* sont essentiellement des aliments manipulés par l'homme, produits à partir de lait cru (fromages à pâte molle principalement) ou parfois déshydratés (poudre de lait) (**Jeantet et al, 2008**).

Pour le lait pasteurisé que nous avons étudié *Staphylococcus aureus* n'a pas été isolé en revanche *Staphylococcus xylosus* a marqué une présence importante dans huit échantillons sur les dix testés. *Staphylococcus xylosus* été très occasionnellement identifié comme une cause d'infection humaine. Généralement ce sont des bactéries commensales de la peau des animaux et des humains. Elles peuvent causer des dermatites, des infections du tractus urinaire ainsi que des bactériémies. Quelques espèces peuvent former des biofilms (**ABIS Encyclopedia, n.d**).

La proportion de TIAC à salmonelles est toujours un peu plus élevée en milieu familial qu'en restauration collective (**Jeantet et al, 2008**).

La part des TIAC à salmonelles liées à des produits laitiers reste à peu près constante et relativement faible (**De Buyseret al, 2005**).

D'après notre étude l'espèce isolée dans le lait testé est *Salmonella choleraesuis ssp arizonae*.

Bien que les *Salmonella* soient la première cause de toxi-infection alimentaire en France, le lait et les produits laitiers sont rarement responsables de cas de salmonelloses (**Brisabois et al, n.d**).

En 1997 *Salmonella* reste la principale cause des TIAC déclarées en France .Le sérotype Enteritidis reste toujours prédominant, mais la progression du sérotype Typhimurium constatée, depuis 1996 au CNR, s'est accompagnée, en 1997, par une augmentation notable du nombre de foyers dus à ce sérotype. Cette augmentation est d'autant plus préoccupante qu'il existe une progression de l'antibio-résistance de ce sérotype (**Haeghebaert et al, 1998**).

En France, entre 2006 et 2008, les salmonelles représentaient la cause de presque la moitié (46,8 %) des foyers confirmés de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) notifiés dans le cadre de la déclaration obligatoire (DO) **(Delmas, 2010)**.

Cette bactérie semble peu pathogène pour l'homme et les animaux. Imputer à *Salmonella arizonae* des processus morbides est toujours difficile à démontrer, surtout lorsque plusieurs sortes de germes sont isolées. Cependant, cette bactérie semble être un agent causal d'avortement, de gastro-entérite et de rhinite lorsque l'animal est immunodéprimé ou stressé **(Labbe, 1994)**.

*Conclusion*

*Et Recommendations*



### *Conclusion*

Notre étude est basée sur la recherche des principaux contaminants bactériologiques du lait pasteurisé impliqué dans les TIAC et commercialisé dans la région de Tiaret.

A travers cette étude, nous avons évalués la contamination globale du lait pasteurisé étudié, par les différents germes dénombrés : la flore mésophile aérobie totale; les coliformes totaux, les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*.

Les résultats des analyses bactériologiques montrent que quelques échantillons de lait pasteurisé analysé reflètent une non-conformité aux spécifications réglementaires en vigueur.

En effet, la présence de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) dans 50% des échantillons, les coliformes totaux présentent un taux de contamination élevé de 70%, les coliformes fécaux sont de 20%, une présence considérable de bactéries pathogènes *Staphylococcus xylosum* de 80%, *Salmonella choleraesuis ssp arizonae* de 10%.

La présence de ces germes pathogènes dans le lait peut provoquer un danger pour le consommateur.

Dans le même ordre d'idées, la présence d'une microflore surtout pathogènes dans le lait pasteurisé commercialisé peut être incriminée dans des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). A l'aide des données recueillies à partir du secteur de santé le lait et ses dérivées sont incriminés dans 16% des TIAC déclarées à Tiaret ces dernières années.

Ceci explique que malgré le traitement thermique (la pasteurisation) appliqué au niveau de l'usine, la flore de contamination du lait existe.

En résumé, la qualité microbiologique et la durée de conservation du lait pasteurisé dépendent bien du respect de l'hygiène et de température de conservation au cours des opérations de fabrication, et de transport.

La désinfection rigoureuse des appareils et leur maintien ainsi que l'éducation du personnel sont également nécessaires pour l'obtention d'une denrée alimentaire salubre efficace pour le consommateur.

***Recommandations***

Pour obtenir une meilleure qualité hygiénique de lait et pour prévenir les toxi-infections alimentaires collectives il est impératif et conseillé de :

- Sélectionner des matières premières de la meilleure qualité possible.
- Porter la totalité du lait à la température convenable de pasteurisation.
- Eviter soigneusement toute contamination du produit au cours de son traitement jusqu'à son emballage hermétique.
- Il faut éviter de placer le lait au contact des surfaces métalliques car elles favorisent l'oxydation des vitamines, donc leur destruction ainsi que l'oxydation de la matière grasse.
- Placer rapidement après l'achat, le lait dans le réfrigérateur (+ 4 °C), où il sera conservé pendant une durée n'excédant pas 7 jours.
- La déclaration de TIAC doit être faite aux autorités sanitaires départementales le plus rapidement possible après la survenue des premiers cas, afin de faciliter et d'améliorer les enquêtes épidémiologique.
- une coordination d'ensemble, assurée par les services de la DSP, la DCW et le CACQE permettant d'éventuelles mesures générales prises par exemple pour interdire la consommation d'un produit sur une zone géographique importante. Cette coordination mettra en jeu les services vétérinaires. Les services des eaux ...
- Faire prendre en charge les personnes malades par un médecin.
- Signaler rapidement la suspicion de TIAC aux autorités sanitaires, l'efficacité de l'enquête administrative reposant sur un signalement rapide de toute TIAC, maladie à déclaration obligatoire.
- Conserver les restes de repas : matières premières, denrées restantes remises aux consommateurs, plats témoins en restauration collective doivent être conservés au froid (3°C) afin de permettre d'éventuels prélèvements et analyses.

Il est à noter que :

La contamination par les Staphylocoques d'origine animal peut être réduite par le contrôle des mammites bovines, et en évitant les contaminations croisées entre peau et carcasse à l'abattoir puis entre aliments crus et cuits à la cuisine.

En outre ; la lutte contre les Salmonella suppose la mise en œuvre de mesures complexes, contraignantes, depuis le stade de la production jusqu'à celui de la consommation.

*Références*

*Bibliographiques*

## Références Bibliographiques

- ❖ **ABIS Encyclopedia, nd.** *Staphylococcus xylosus* consultée le 15/05/2018 <http://www.tgw1916.net/Staphylococcus/xylosus.html>.
- ❖ **Aggad.H., mahouz. F., Ammar .V. A et Kihal M. (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien Revue Méd. Vét., 160, 12, 590-595.
- ❖ **Ait abdelouahab. N, 2008.** Microbiologie alimentaire, office des publications universitaires. Ben-Aknoun Alger. PP : 56, 98, 99.
- ❖ **Ben Hassen,S., Messadi, L. & Ben Hassen, A.(2003).** Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammites. Ann Med Vet. 147, 41-47.
- ❖ **Bourgeois C.M, Mescle. J.-F et J.Zucca\$, 1996.** MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE. Lavoisier TEC&TEC, Février 1996, France. PP : 4, 272, 273, 274, 286.
- ❖ **Brisabois . A, Lafarge. V, Brouillaud.A, Buysen. M. L, Collette. C, Garin-Bastuji .B & Thorel M.-F., n.d.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. Consulté le 09/05/218 <https://www.oie.int/doc/ged/D9153.PDF>.
- ❖ **Cayot. P et Lorient. D., 1998.** Structures et technofonctions des protéines du lait. Tec et Doc, Lavoisier. Londres, Paris, New York. PP : 01.
- ❖ Centre Algérien de Contrôle de Qualité et Emballage (CACQE).
- ❖ **Chillet .P., 2011.** Opérations unitaires en génie biologique .2. La pasteurisation. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine, 2011, France. PP : 10, 23.
- ❖ **Collège des Enseignants de Nutrition, Date de création du document 2010-2011** Les toxi-infections alimentaires collectives : aspects cliniques et Epidémiologiques.
- ❖ **CUQ. J.L. 2007.** Microbiologie alimentaire. Université Montpellier II sciences et techniques de Languedoc. PP : 16, 17.
- ❖ **Deinhofer.M. & Pernthaner. A., 1995).** *Staphylococcus* spp. as mastitis-related pathogens in goat milk. Vet Microbiol. 43, 161-166.

- ❖ **Delarras. C, 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec et Doc, Lavoisier.PP : 126-206.
- ❖ **Delarue .J, Bertin. É, Piquet.M. A,Schneider. S., 2011.** Nutrition. ELSEVIER MASSON, Novembre 2011 France. PP: 21,25, 26 ,27.
- ❖ **Delmas .G (g.delmas@invs.sante.fr)1, Nathalie Jourdan da Silva1, Nathalie Pihier2, François-Xavier Weill3, Véronique Vaillant1, Henriette de Valk1, 2010,** Les toxi-infections alimentaires collectives en France entre 2006 et 2008. Bulletin Épidémiologique hebdomadaire N° 31-32. PP : 20-24.
- ❖ **De Buyser1.M .L, Anne Brisabois1, Emmanuelle Espié2, Gilles Delmas2, Barbara Dufour3, 2005.** Implication du lait et des produits laitiers dans les maladies infectieuses d'origine alimentaire en France de 1988 À 2003. Bulletin Épidémiologique N°16.PP : 06.
- ❖ Direction de Commerce de la Wilaya (DCW).
- ❖ Direction de Sante et de la Population (DSP).
- ❖ **Dromigny. É, 2012.** Les critères microbiologiques des denrées alimentaires. Tec et Doc, Lavoisier, 2012, France. PP : 264.
- ❖ **Frank J.F et Hassan A.N. 2002.** Micro organisms associated with milk. In thèse:analyse du microbiote du lait par les méthodes moléculaires. Département des sciences des aliments et de nutrition faculté des sciences de l'agriculture et de la l'alimentation université lavai Que bec.
- ❖ **Guiraud .J-P, 2012.**Microbiologie alimentaire. Dunod, paris, 2012. PP: 93 136-137 - 138 -139, 152, 191- 192, 233, 353, 356- 357, 401- 402,515.
- ❖ **Haeghebaert .S., Le Querrec .F., Vaillant. V., Delarocque Astagneau. E., Bouvet. P., 1998,** les toxi-infections alimentaires collectives en france en 1997, Bulletin Épidémiologique hebdomadaire N°41.PP :10.
- ❖ **Jacotot .B,Campillo.B,J.-L ; brsson, Corcos.M ,Hankard.R,Jeammet.P, Peres. G, 2003.**Nutrition humaine connaissances et pratique. Masson. Paris, 2003.PP : 165.
- ❖ **Jeantet .R, Croguennec .T, Schuck .P, Brulé .G Coordonnateurs, 2008,** Science Des Aliments .Biochimie, Microbiologie, Procédés, Produits, TEC et DOC Lavoisier, 2008, Paris). PP : 81, 82, 85, 87.
- ❖ **Jeantet .R, Croguennec .T, Mahaut.M, Schuck .P, Brulé .G, 2008.**Les produits laitiers, TEC et DOC Lavoisier, 2008, Paris). PP : 1- 2, 10, P 13-14.

- ❖ **Joffin .C et Joffin.J., 2010.** Microbiologie alimentaire. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine, 2010, France pp : 44,109, 187, 231, 233, 247, 252, 253
- ❖ **Journal Officiel de la République algérienne N°35,** Aouel Safar 1419, 27 mai 1998.PP : 7.
- ❖ **Journal officiel de la république algérienne n° 70,** 24 Ramadhan 1425, 7 novembre 2004. PP : 122.
- ❖ **Journal officiel de la république algérienne n°39,** 08 chaoual 1938 2 juillet 2017.PP 03
- ❖ **Journaux officiels, 2004.**Fabrication de produits laitiers et fromages fermiers,les édition des Journaux officiels, paris, pp :102.
- ❖ **Labbe .J.F., 1994.** La salmonellose bovine dans les Côtes d'Armor. Résultats d'une enquête réalisée dans 250 élevages de janvier 1991 à septembre 1993. Th.: Med.vet. : Alfort: 1994; n° 75. P76.
- ❖ **Leyral .G., Vierling.E, 2001.** Microbiologie et toxicologie des aliments, DOIN éditeurs 3°édition août 2001, France. PP : 119.
- ❖ **Leseur.R, Melik.N, 1990.** Lait de consommation in 2. Les produits laitiers, **Luquet .F.M .** TECH et DOC –Lavoisier, paris. PP: 06.
- ❖ **Marguet. M., 2009.**Traite des vaches laitières .Matériel. Installation. Entretien, Editions France Agricole2009, France. PP : 37,409 -413.
- ❖ **Mohtadji-Lamballais. C., 1989.**Les aliments. Editions Maloine, Paris. PP : 19, 21, 22.
- ❖ **M'boya .J-C., Cécile B., Philippe D., 2001.** Le lait pasteurisé. **Agridoc ; GRET.** PP : 07.
- ❖ **Plusquellec. A., 1980.** Différents contrôles in techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires volume 3. Bourgeois.C.M.et Leveau.J.Y .Tec et Doc, Lavoisier .Paris. PP : 243, 244, 245.
- ❖ **Rather, P.N., Davis, A.P. & Wilkinson, B.J.(1986).** Slime production by bovine milk Staphylococcus aureusand identification of coagulase negative staphylococcal isolates. J Clin Microbiol . 23, 858-862.
- ❖ **Trémolières .J, Serville. Y, Jacquot. R, Dupin. H, 1980.** Manuel d'alimentation humaine, tome 1, les bases de l'alimentation, les éditions E S F. Paris. PP : 531, 533.

- ❖ **Trémolières .J, Serville .Y, Jacquot .R, Dupin .H, 1980** .Manuel d'alimentation humaine, tome 2, les Aliments, les éditions E S F. Paris. PP : 172, 174, 176, 177, 188.
- ❖ **Veisseyre .R, 1975**, Technologie Du Lait, Constitution, Récolte, Traitement Et Transformation du Lait. La Maison Rustique. PP : 54,55, 92-94.



# *Annexes*

## Annexes

### Annexe n°01 : Composition des milieux utilisés

❖ Diluant tryptone- sel- eau

		Tryptone-sel(TSE)
Molécules organiques azotées	Tryptone	1
Ions minéraux ajoutés	Na Cl	8,5
Eau	.....	Qsp1dm <sup>3</sup>

❖ Eau peptonée tamponnée

		Eau peptonée tamponnée(EPT)
Molécules organiques azotées	Tryptone .....	20g
Minéraux ajoutés	Na CL.....	5g
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	9g
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1g
Gélose(Agar)	.....	9g
Eau distillée	.....	Qsp1dm <sup>3</sup>

❖ Gélose pour dénombrement ou PCA (Plate Count Agar)

		Gélose pour dénombrement ou PCA (Plate Count Agar)
Molécules organiques azotées	Tryptone .....	5g
	Extrait de levures.....	2 ,5g
Glucides	Glucose.....	4g
Gélose(Agar)	.....	9g
Eau distillée	.....	1dm <sup>3</sup>

❖ Gélose pour dénombrement ou VRBL (La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre).

		Gélose VRBL
Molécules organiques azotées	Peptone	7g
	Extrait de viande	3g
Glucides	Lactose	10g
Inhibiteurs	Désoxycholate de sodium	1,5g
	Cristal violet	2mg
Indicateur de pH	Ph final	6,8
Ions minéraux ajoutés	Na Cl	5g
Agar	.....	9-18g
Eau	.....	Qsp1dm <sup>3</sup>

❖ Gélose pour dénombrement ou CHAPMAN et Baird-Parker

		Gélose de	Gélose de Baird-
--	--	-----------	------------------

		Chapman	Parker
Molécules organiques azotées	Peptone ou tryptone Extrait de viande Extrait de levure	10g 1g	10g 5g 1g
Glucides	Mannitol	10g	
Autres molécules carbonées	Pyruvate de sodium Glycocolle Émulsion de jaune d'œuf		10g 12g 50cm <sup>3</sup>
Inhibiteurs	Na Cl Tellurite de potassium	75g	0,1g
Indicateur de pH	pH final	6,8	7,2
Ions minéraux ajoutés	Na Cl Li Cl K <sub>2</sub> Te O <sub>3</sub>	75g	5g 0,1g
Agar	.....	9-18g	9-18g
Eau	.....	Qsp1dm <sup>3</sup>	Qsp1dm <sup>3</sup>

(Joffin , et Joffin ,2010)

❖ Milieu d'isolement SS (*Salmonella-Shigella*)

		Gélose SS	Bouillon Rappaport-Vassiliadis avec soja(RSV)
Molécules organiques azotées	Peptone Extrait de viande Peptone de soja	5g 5g	4,5g
Glucides	Lactose	10g	
Autres molécules carbonées	Citrate de sodium Citrate de fer III	10g 1g	
Indicateur de sulfures	Fer III	Présence	
Inhibiteurs	Désoxycholate Vert brillant Vert malachite (oxalate)	8,5g 0,3mg	36g
Ions minéraux ajoutés	Na Cl K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgCl <sub>2</sub> ,6H <sub>2</sub> O		7,2g 0,18g 1,3g 26,6g
Indicateur de pH	Ph final	7,3	
Ions minéraux ajoutés	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	8,5g	
Agar	.....	15g	
Eau	.....	1dm <sup>3</sup>	Qsp1dm <sup>3</sup>

(Joffin et Joffin ,2010, Joffin et Joffin 2000)

## Annexe n°02

Critères microbiologiques des Laits et des produits laitiers (**JORA n°35, 1998**) et (**8 Chaoual 1438 2 juillet 2017N° 39**).

**Tableau n°01 : Critères microbiologiques des Laits et des produits laitiers (JORA n°35, 1998).**

Produits	N	c	M
2. Lait pasteurisé conditionné:	1	-	$3 \cdot 10^{-4}$
Germes aérobies à 30°C	1	-	1
Coliformes	1	-	absence
Coliformes fécaux	1	-	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	-	négative
Phosphatase			

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 d'échantillon;

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

**Tableau n°02 : Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (Laits et produits laitiers) (8 Chaoual 1438 2 juillet 2017N° 39)**

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	$10^4$	$10^5$
	Enterobacteriaceae	5	0	10	
	Salmonella	5	0	Absence dans 25ml	

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

Le résultat du critère microbiologique est satisfaisant lorsque les exigences suivantes sont remplies :

1. la valeur moyenne observée est inférieure ou égale à « m » ;
2. un maximum de  $c/n$  valeurs observées se situent entre « m » et « M » ;
3. aucune valeur observée ne dépasse la limite « M ».

Le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant lorsque la valeur moyenne observée dépasse « m », lorsque plus de  $c/n$  valeurs se situent entre « m » et « M » ou lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont supérieures à « M ».

## **Annexe n°03 : Identifications**

### **État frais**

Cette préparation consiste à examiner le micro-organisme vivant en milieu liquide entre lame et lamelle. Une goutte de suspension microbienne est déposée au centre de la lame. Cette goutte doit être de petite taille pour éviter les débordements.

La manipulation est effectuée de manière aseptique, la lame étant placée près du bec Bunsen.

Dans le cas d'une culture sur milieu solide ou d'un produit semi-solide, une goutte d'eau est déposée sur la lame et une très faible quantité de produit est prélevée à l'ose et dissociée dans la goutte. Une lamelle est ensuite appliquée sur la goutte en évitant de créer des bulles d'air et des débordements à la limite entre lame et lamelle et toujours dans des conditions aseptiques. Les grossissements utilisés sont X10 et X40. L'examen microscopique de bactéries à l'état frais peut être délicat : la mise au point est difficile et peut être obtenue facilement sur une petite bulle d'air ou une impureté. Cet examen permet d'apprécier la forme et parfois la mobilité des germes étudiés. Il faut éviter de confondre la mobilité d'une bactérie avec les mouvements de convection susceptibles de l'entraîner (**Guiraud, 2012**).

### **Coloration des frottis**

La coloration des frottis peut être simple ou différentielle.

Les colorations simples s'effectuent en recouvrant le frottis fixé par quelques gouttes de colorant que l'on laisse agir 30 secondes à 2 minutes, puis que l'on rince à l'eau.

L'examen s'effectue, généralement à l'immersion, après séchage à la flamme du bec.

Les colorants utilisés les plus couramment sont le bleu de méthylène phéniqué et la fuschine de Ziehl.

La coloration différentielle la plus connue est celle de Gram, qui permet de diviser les bactéries en deux grands groupes : Gram + et Gram -. Celles qui retiennent le violet de gentiane après lavage à l'alcool sont Gram+ : celles qui sont décolorées et prennent ensuite la couleur d'un second colorant sont dites Gram-. Il est important d'utiliser des cultures jeunes, certains Gram+ ayant tendance à devenir Gram- avec l'âge (Bacillaceae) (**Guiraud, 2012**).

### **Système API(Mérieux)**

Il s'agit de galeries biochimiques miniaturisées comportant des cupules en nombre variable.

L'incubation est réalisée à partir d'une suspension sur milieu spécifique. Selon le cas, la lecture se fait après un délai de 4 à 48 heures d'incubation. Les profils biochimiques ou numériques sont interprétés à l'aide de tableaux, de catalogues analytiques ou de logiciels.

Il existe des galeries API pour l'étude du métabolisme des sucres (50CH) ou plus spécifiquement pour celle de nombreux groupes ou familles : bacilles Gram-, Entérobactéries (20<sup>E</sup>, rapiD 20<sup>E</sup>), bacilles Gram- non Entérobactéries (20NE), *Campylobacter* (Campy), staphylocoques et microcoques (Staph), streptocoques et espèces voisines (Strep), *Listeria*, bactéries corynéformes (Coryne), bactéries anaérobies strictes (20A), levures (20C AUX), etc. ( **Guiraud,2012**).

### **Epreuve de la coagulase (JO n° 70 - 2004).**

Utiliser un plasma de lapin contenant de l'E.D.T.A. (acide éthylène diamine tétra-acétique), à défaut ajouter une solution d'E.D.T.A. de sorte que la concentration finale dans le plasma réhydraté soit de 0,1 %.

L'épreuve est reconnue positive lorsque le coagulum occupe plus des trois quarts du volume initial.

### **Expression des résultats**

Si au moins 80 % des colonies examinées sont coagulase positive, considérer que la totalité des colonies dénombrées correspond à *Staphylococcus aureus*.

#### **Annexe n°04 : Émulsion de jaune d'œuf**

Le jaune d'œuf peut être acheté tout prêt ou préparé selon la norme, de la façon suivante :

- Utiliser des œufs frais de poule dont la coquille est intacte. (Pas d'œufs fêlés chez le microbiologiste !)
- Nettoyer les œufs avec une brosse et un détergent liquide.
- Les rincer à l'eau courante.
- Désinfecter l'œuf en plongeant dans une solution d'éthanol à 70% pendant 30s puis en les laissant sécher à l'air ou pulvériser de l'éthanol et réaliser un flambage.
- Aseptiquement, casser chaque œuf et séparer le blanc du jaune par transferts répétés de demi-coquille en demi-coquille.
- Recueillir les jaunes dans un récipient stérile contenant quatre fois leur volume d'eau stérile.
- Homogénéiser vigoureusement.
- Chauffer le mélange à 47°C pendant 2 h.
- Entreposer a + 3°C±2°C pendant 18-24 h pour laisser le temps de formation d'un précipité.
- Recueillir stérilement le surnageant constituant l'émulsion (durée de conservation : 72 h maximum, a+3°C±2°C).

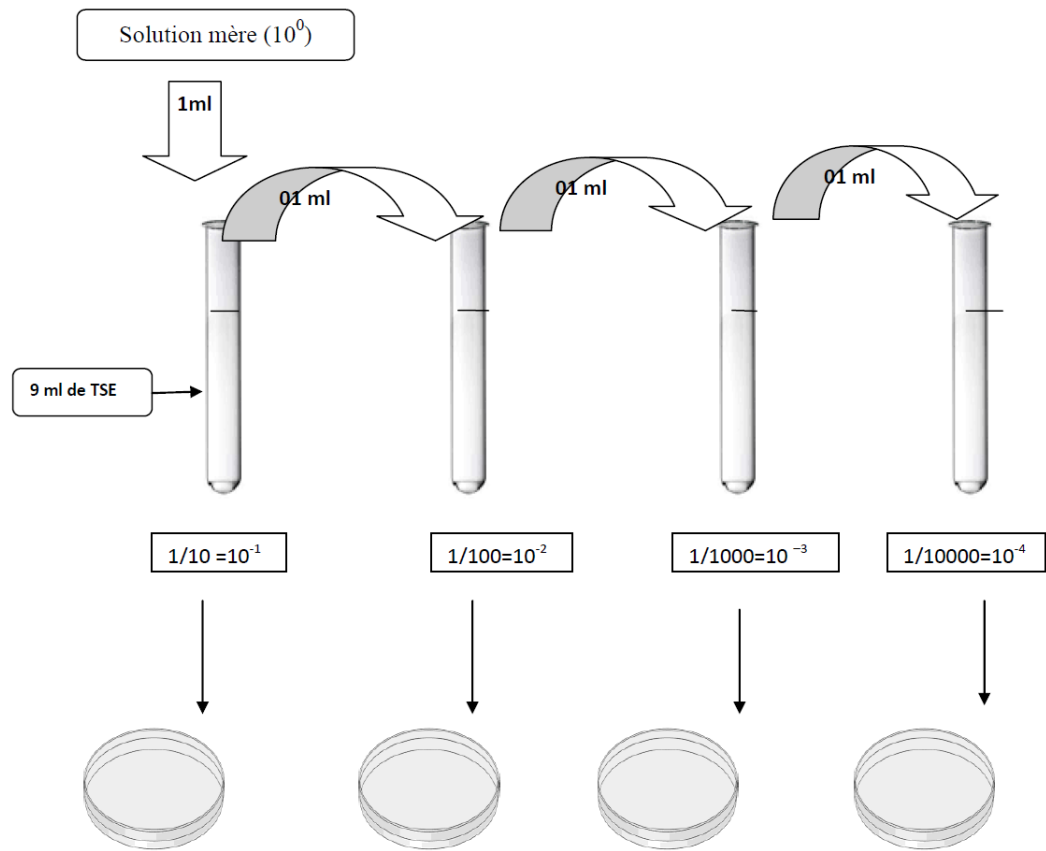


**Annexe n°05** : Nombre de cas de TIAC enregistrés par la DCW du 01/02/2017 au 26/04/2018.

Date	Cas	Aliments	bactéries	Types de TIAC	Types d'incubation	Symptômes digestifs	Autres Symptômes	Gravité
01.02.2017	13	Boulettes de viande hachée bovine surgelé+ yaourt+ salade	ND			Nausées /vomissement		
03.04.2017	13	Poulet /pois avec viandes hachées congelées	ND					
06.04.2017	7	Lamouna	ND					
14.05.2017	5		ND					
16.05.2017	2	Frite omlette /mayonnaise	ND					
08.07.2017	19	<b>Tarte</b> +poulet routi+olive vert avec viande	ND					
25.07.2017	03	Sandwich	ND			Douleurs abdominales/maux de tête		
25.07.2017	06	Œufs	ND					
03.08.2017	5	Poissons	ND			Nausées /vomissement		
15.08.2017	2	Milles feuilles	ND					
18.08.2017	10	Poulet routi mal conservé	ND					
23.08.2017	3		ND					
24.08.2017	1		ND					
24.08.2017	3	Pizza (ton/fromage)	ND					
24.08.2017	5		ND					4 HOSP
24.08.2017	5	Viande blanche dinde	ND					
24.08.2017	7	Gateau(lamouna)	ND					7 HOSP
27.08.2017	6	Lben	ND					
31.08.2017	4	Poissons	ND					
06.09.2018	6	Viande rouge non-respect de la chaine de refroidissement	ND			Fièvre/douleurs abdominales		

05.10.2017	4		ND					
05.10.2017	4	Douara	ND					
29.10.2017	2	Mhajeb farci à la viande hachée	ND					
29.10.2017	2		ND			Fièvre /vomissement		
29.10.2017	5	Kacher /ton	ND					
31.10.2017	5		ND					
31.10.2017	5	Mayonnaise mal consevée	ND					
08.11.2017	22	Tarte+ poulet routi	ND					
09.11.2017	2		ND					
12.11.2017	3		ND					
12.11.2017	3	Œufs	ND					
11.12.2017	3	Poulet/puré	ND					
11.12.2017	4	puré/Poulet	ND					
11.12.2017	5	Viande rouge	ND					
01.03.2018	4	Poulet routi	ND					
05.03.2018	4	Poulet routi	ND					
11.03.2018	3	Poissons	ND					
12.03.2018	3	Gratin/pome/y aourt/chourba	ND			Diarrhée/d-abdominales /nausées vomissement		
19.03.2018	5	Poissons	ND					
26.03.2018	2		ND					
05.04.2018	2		ND					
08.04.2018	5	Viande hachée/kacher(pizza)	ND					
19.04.2018	2		ND					
26.04.2018	4		ND					

## Annexes n°06 : Dilutions



**Figure:** Technique de préparation des dilutions successives et d'ensemencement

## Résumé

Dix échantillons de lait pasteurisé ont été analysés en vue d'évaluer leur qualité hygiénique et de rechercher les principaux contaminants bactériologiques incriminés dans les TIAC.

Ce travail, nous a permis d'évaluer la qualité de lait pasteurisé mis sur le marché de la région de Tiaret en dénombrant cinq groupes de germes.

D'après les résultats des analyses bactériologiques, la FMAT et les coliformes totaux présentent une charge microbienne élevée. Suivi respectivement par les coliformes fécaux, avec une présence des salmonelles. Tous les échantillons analysés sont exempts de *Staphylococcus aureus*. Cependant, *Staphylococcus xylosus* est isolé de huit échantillons.

Les résultats ont montré que quelques échantillons de lait pasteurisé étaient non satisfaisants indiquant une qualité irrégulière de ce produit.

Dans la willaya de Tiaret, le bilan des systèmes de surveillance des toxi-infections d'origine alimentaire (TIAC), montre que le lait et les produits laitiers sont à l'origine de seulement 16% de ces infections.

La maîtrise des bactéries pathogènes dans le lait nécessite la mise en place de systèmes de contrôle et de surveillance.

**Mots clés :** Lait pasteurisé, Contamination, Bactéries, TIAC, Région de Tiaret.

## ملخص:

تم تحليل عشر عينات من الحليب المبستر لتقييم صفتهم الصحية والتعرف على الملوثات البكتيرية الرئيسية التي تم احصائها في التسممات الغذائية الجماعية (TIAC).

مكننا هذا العمل من تقييم جودة الحليب المبستر المطروح في سوق منطقة تيارت من خلال عد خمسة مجموعات من الجراثيم.

وفقا لنتائج التحاليل البكتريولوجية, فان البكتيريا الهوائية (FMAT) و مجموع القولونيات (Coliformes) متواجدة بنسبة عالية. يلهمها على التوالي بكتيريا القولون البرازية, مع وجود السالمونيلا (*Salmonella*).

يتم إعفاء جميع العينات التي تم تحليلها من المكورات العنقودية الذهبية ومع ذلك يتم عزل *Staphylococcus xylosus* من ثمانية عينات.

أظهرت نتائج التحاليل البيولوجية أن بعض العينات من الحليب المبستر غير مطابقة للمعايير المعمول بها و بالتالي جودة الحليب غير مرضية. في ولاية تيارت, تظهر نتائج أنظمة مراقبة الأمراض المنقولة بالغذاء أن الحليب و مشتقات الألبان تمثل 16% فقط من هذه العدوى.

السيطرة على نسبة البكتيريا المسببة للأمراض في الحليب المبستر يتطلب إنشاء أنظمة تحكم ومراقبة.

**الكلمات المفتاحية:** الحليب المبستر, التلوث, البكتيريا, التسممات الغذائية الجماعية, منطقة تيارت.