

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

THÈME:

**Contribution à la recherche d'*Escherichia coli* dans le lait cru de
collecte dans la Wilaya de Tizi-Ouzou.**

Présenté par : AMEUR Hanane

AIT SAOUI Yazid

TIGUERCHA Massinissa

Soutenu le : 22/06/2017.

Devant le jury composé de:

- Président : Mr GOUCEM R.
- Promoteur : Mlle BOUAYAD L.
- Examineur 1: BOUHAMMED R.
- Examineur 2 : MATALLAH A.M.

- Maitre Assistant Classe A.
- Maitre de Conférences Classe A.
- Maitre Assistante Classe A.
- Maitre Assistante Classe A.

Année universitaire : 2016-2017

Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier Dieu, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, nous remercions Melle BOUAYAD LEILA, Maitre de Conférence Classe A, qui a eu la bienveillance d'accepter notre sujet de mémoire, pour son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.

Nous adressons également, nos sincères remerciements à Dr **GOUSSEM R** pour nous avoir honorés en présidant le jury de notre soutenance, Mesdames **BOUHAMED R** et **MATALLAH A.M.**, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nos remerciements vont également à messieurs **SEHAIM Yacine** et **DIRAMI Hamid**, pour leur aide précieuse, leur disponibilité et leur orientation et à **Louisa** notre Louis d'or du laboratoire d'HIDA OA

Toute notre sincère reconnaissance à tout le personnel des centres de collecte de Fréha, Imaloussen et Tala et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

A ma Mère,

Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée. Que dieu te protège et te garde pour nous.

A mon Père,

L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie.

A ma sœur Dalila, les mots ne peuvent résumer ma reconnaissance et mon amour à ton égard.

A mes deux chers frères, Abdelhak et Youcef que j'aime tant.

A toute personne de ma famille.

A Alilou.

A mes adorables amies: Ferroudja, Ryma B., Amina, Ibtissem, Hayet, Nawel, cylvia, Nassira, Rosa, Ryma M.

Et à tous mes amis.

A mes deux Binômes : Massi et Yazid.

Pour toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

Hanane

Dédicace

Je dédie ce modeste travail de fin d'études à ceux qui sont chers à mon cœur notamment mes amis Massi et Hanane, à ma chère promotrice mademoiselle Bouayad et à tous mes camarades, amis, famille et toute personne qui nous a éclairés dans ce travail.

À ma mère,

Sans ton amour, tes prières ton affection je ne serai pas l'homme que je suis aujourd'hui, tu es tout pour moi, je sais bien que ce modeste travail ne rendra pas tout le bien que tu m'as fait mais sache que c'est la première pierre d'un grand château que je bâtirai pour toi, que dieu te donne longue vie à mes côtés je t'aime yemma.

À mon père,

Tu as toujours été présent pour nous et cela malgré toutes les difficultés de la vie tu es mon super héros je suis fière de toi papa, je t'aime vava.

A mes frères,

Malgré tout je serai toujours présent pour vous comme vous l'avaient fait pour moi je vous aime les gars ;)

À toi mademoiselle,

Même si tu ne viendras pas à ma soutenance, tu y seras présente dans mon cœur.

Ait saoui Yazid.

Dédicaces

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie mon travail à mes très chers, respectueux et magnifiques parents qui m'ont soutenus tout au long de ma vie ainsi à mes frères, et en particulier à mes binômes Yazid et Hanane et surtout à ma chère promotrice mademoiselle Bouayad ainsi que tous mes amies.

A toute personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes étude.

Tiguercha Massinissa

Liste des abréviations :

%: Pourcentage.

API: Analytic Prophylactic Index.

Aw : activité de l'eau.

CDC: Centre of Disease Control.

E. coli : *Escherichia coli*.

EHEC: Enterohemorrhagic *Escherichia coli*.

EIEC: Enteroinvasive *Escherichia coli*.

ETEC: Enterotoxigenic *Escherichia coli*.

FAO: Food and Agriculture Organisation.

JO: Journal Officiel.

HACCP: Hazard Analysis critical control point.

HIDAOA : Hygiène et Industries des denrées alimentaires d'origine animale.

IPA : Institut pasteur Algérie.

ISO : International Standardisation for Normalisation.

NF : Norme française.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PCR: Polymerase Chain Reaction.

pH : potentiel d'Hydrogène.

SHU: Syndrome hémolytique et urémique.

Spp : Species plural.

TDA : Tryptophane Désaminase.

TIAC : Toxi infection alimentaire collective

VP : Voges Proskauer.

Liste des tableaux :

Tableau N°01 : Caractéristiques biochimiques d' <i>E-coli</i> .	8
Tableau N°02 : Les épidémies et cas groupés d'infections dues aux EHEC recensés en France depuis 2002.	13
Tableau N°03 : Répartition des prélèvements par centre de collecte.	15
Tableau N°04 : Résultats du dénombrement par échantillon et par centre de collecte.	20
Tableau N°05 : Prévalence d' <i>E-coli</i> dans les centres de collecte.	22

Liste des figures :

Figure N°01 : Technique de prise de pH par un pH-mètre électronique. (Photo personnelle).	17
Figure N°02 : Logigramme du protocole du dénombrement des coliformes thermotolérants (schéma personnelle).	17
Figure N°03 : Variation des valeurs de pH dans le lait cru des trois centres.	19
Figure N°04 : Répartition des % des dénombrements par centre de collecte.	21
Figure N°05 : Prévalences d' <i>E-coli</i> dans le lait cru dans les centres de collecte.	22
Figure N°06 : Prévalence des salmonelles dans le lait cru.	23

Glossaire :

- ✚ **Bonne pratique d'hygiène :** programmes prérequis mis en place dans l'établissement visant spécifiquement l'hygiène des aliments.
- ✚ **Contamination :** introduction ou présence d'un contaminant dans un aliment ou dans un environnement alimentaire.
- ✚ **Danger :** agent biologique, chimique ou physique dans l'aliment ayant potentiellement un effet nocif sur la santé.
- ✚ **Désinfection :** réduction, au moyen d'agents chimiques ou de méthodes physiques du nombre de micro-organismes présents dans l'environnement, jusqu'à l'obtention d'un niveau ne risquant pas de compromettre la sécurité sanitaire ou la salubrité des aliments.
- ✚ **Salubrité des aliments :** assurance que les aliments sont acceptables pour la consommation humaine conformément à l'usage auquel ils sont destinés.
- ✚ **Sécurité des aliments :** assurance que les aliments sont sans danger pour le consommateur quand ils sont préparés et/ou consommés conformément à l'usage auquel ils sont destinés.
- ✚ **Qualité :** aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences
- ✚ **Bonnes pratiques de fabrication (BPF) :** désignent les conditions fondamentales de fonctionnement et d'environnement nécessaires pour produire des aliments sains. Elles permettent de garantir que les ingrédients, les produits et les emballages sont manipulés en toute sécurité et que la transformation des aliments est effectuée dans un milieu convenable.

Sommaire :

Introduction générale	1
Partie 1: partie bibliographique.	
Chapitre I : Généralité sur le lait cru	3
I.1.Définition.....	3
I.1.1.définition générale.....	3
I.1.2. définition légale.....	3
I.2.Les composants du lait	3
I.3.Les sources de contamination du lait cru	4
I.3.1.Contamination physique.....	4
I.3.2.Contamination chimique.....	4
I.3.3.Contamination microbienne.....	4
1.3.3.1. La flore originelle.....	4
1.3.3.2. Flore de contamination exogène.....	5
1.3.3.2.1. virus	5
1.3.3.2.2. Levures et moisissures.....	5
1.3.3.2.3. Bactéries.....	5
I.4.Les règles requises pour traire un lait de qualité.....	5
I.4.1. Hygiène de la traite.....	5
I.4.2.Hygiène de l'environnement	6
Chapitre II : Les coliformes thermotolérants dont <i>E. Coli</i>	7
II.1.Généralités sur les coliformes thermotolérants.....	7
II.2.E.coli.....	7
II.2.1.Taxonomie	8
II.2.2.Caractères morphologique.....	8
II.2.3.Caractères biochimique.....	8
II.2.4.Caractères cultureux	9
II.2.5.Méthode d'isolement et d'identification	9
II.2.6.Les organismes indicateurs d'hygiène des procédés.....	10

Chapitre III : *E. coli* dans le lait.....12

III.1.Source de contamination.....	12
III.2.Présence d' <i>E.coli</i> dans différentes denrées alimentaires.....	12
III.3.Impact de la contamination du lait par e.coli sur la santé humaine.....	13

Partie 2 : Partie expérimentale.

I.Objectifs.....	15
II.Matériels et méthodes.....	15
II.1. Matériels.....	15
II.1.1. Echantillonnage	15
II.1.1.1. Période de l'étude.....	15
II.1.1.2. Lieu de prélèvement.....	15
II.1.1.3. Technique de prélèvement.....	15
II.1.2. Matériels de prélèvement et de laboratoire.....	16
II.1.2.1. Prélèvement.....	16
II.1.2.2. Matériels de laboratoire.....	16
II.1.2.3. Les milieux et les réactifs.....	16
II.2. Méthodes.....	17
II.1.1.Prise du pH.	17
II.1.2.Dénombrement des coliformes thermotolérants.....	17
II.1.3.Identification d' <i>E-coli</i> et de <i>Salmonella</i> spp.....	18
III.Résultats et discussion.....	20
III.1.Résultats de prises des pH.....	20
III.2.Résultats du dénombrement des coliformes thermotolérants.....	20
III.3.Résultats de la recherche d' <i>E-coli</i> par identification biochimique.....	21
III.4.Prévalence de salmonelle dans les échantillons de lait.....	23
III.5.Comparaison des contaminations du lait cru dans les trois centres de collecte.....	24
Conclusion.....	25
Recommandations.....	26
Références	

Introduction :

Le lait est un aliment biologique, dont les qualités nutritionnelles en font un aliment presque complet. Une des sources principales en protéines animales pour l'homme, il est surtout un élément important dans l'apport en acides aminés essentiels. Sa richesse aussi en lipides, glucides, en oligo-éléments et le calcium lui confèrent une place importante dans l'alimentation humaine et animale (Hamiroune, 2009).

Bien qu'il occupe une place privilégiée dans l'alimentation humaine et bien qu'il soit au cœur d'une industrie puissante « l'industrie laitière », le lait peut être aussi une source majeure des différentes pathologies pouvant porter préjudice à la santé du consommateur (Hamiroune, 2009).

Cette denrée alimentaire, au vu de sa richesse en nutriments et en eau, constitue un excellent milieu pour le développement des bactéries provenant de nombreuses sources de contaminations d'un bout à l'autre de la chaîne alimentaire. Le lait à sa sortie de la mamelle est quasi stérile, mais il devient rapidement contaminé soit par voie endogène (mammites) ou exogènes via l'environnement (terre, paille, fèces, machines à traire ...etc). Les germes les plus rencontrés après contamination endogènes sont les staphylocoques, streptocoques ou *Escherichia coli*, alors que ceux qui proviennent par voie exogènes sont *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Salmonella* et *Listeria* (Boukhalfa, 2010).

Les critères microbiologiques du lait sont bien définis par la réglementation. Les germes à rechercher dans le lait dans le but de déterminer sa qualité, sont nombreux, parmi eux nous retrouvons les coliformes thermotolérants dont la bactérie phare est *Escherichia coli* (*E.coli*). Certains sérotypes de cette dernière ont été directement liés à l'apparition des Toxi-Infections Alimentaires graves.

La présence d'*E.coli*, dans un aliment indique une contamination d'origine fécale (Jay et al., 2005). Elle indique donc, des conditions de fabrication des denrées alimentaires pas aux normes, elle nous permet d'évaluer le processus de fabrication et ainsi la salubrité des aliments (Jay et al., 2005).

E.coli est une entérobactérie, son habitat naturel reste l'intestin des animaux, en outre le danger qu'elle peut engendrer et le préjudice qu'elle peut apporter à la santé du consommateur ; si les sérotypes isolés sont toxigènes –pathogènes , elle nous indique la présence probable d'une autre entérobactérie pathogène , qui est *Salmonella* , là , *E.coli* devient un indicateur de sécurité des aliments (Jay et al.,2005).

Les objectifs de notre étude sont :

- Evaluer la contamination du lait cru par les Coliformes thermotolérants et de comparer ce critère microbiologique avec les exigences de la réglementation sanitaire algérienne.
- Rechercher *E-coli* pour l'utiliser comme indicateur d'hygiène et de salubrité du lait cru collecter.

Partie 1 :

Partie bibliographique

Chapitre I : GENERALITE SUR LE LAIT

I.1. Définition :

I.1.1. Générale :

Le **lait** est la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (Codex STAN 206-1999).

I.1.2. Légale :

Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance, correspond au lait de vache. Tel définit par le premier congrès International de Répression des fraudes tenu à GENEVE EN 1909, le lait se définit comme « 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 ».

Le lait cru : aux termes du Règlement (CE) n°853/2004 du parlement Européen et du conseil de 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'hygiène applicable aux denrées alimentaires d'origine animale, le lait cru est le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'animaux d'élevage non chauffé à plus de 40°C, ni soumis à un traitement avec un effet équivalent .

Le lait cru (« lait » tel que défini dans codex Stan 206-1999) ne contiendra aucun additif alimentaire.

I.2. Composants du lait de vache :

Le lait de vache est composé d'environ 90% d'eau, les 10% restants sont représentés par la matière sèche constituée de plusieurs éléments, dont :

✓ Glucides :

Le lait ne contient qu'un seul type de glucide, le lactose, susceptible de se dégrader en acide lactique. Le lactose est entièrement dissous dans le lait.

✓ Matières grasses :

Composées à 98% de triglycérides. Les acides gras peuvent être de nature saturés, mono insaturés ou polyinsaturés.

✓ Protéines :

Les protéines du lait de vache sont composées à 80% de caséine, susceptible de coaguler en milieu acide ou sous action de la présure (intérêt dans la fabrication des fromages).

✓ Minéraux :

Le lait de vache est riche en calcium et en phosphore avec des taux respectifs de 1130 mg/l et de 840mg/l. On y trouve également du Magnésium, Potassium, Fer et différents oligo-éléments à des teneurs très variables.

✓ Vitamines :

Le lait de vache contient les vitamines A, D, E, K, B2, B3, B12 (Codex alimentareus, 1999).

I.3. Sources de contamination du lait cru :

I.3.1. Contamination physique :

La contamination du lait cru peut faire suite à une absence de pratique adéquate en matière d'assainissement et hygiène du personnel (CAC/RCP57-2004).

De nombreuses contaminations proviennent des chutes de poils des bêtes ainsi que la présence d'autre particule étrangère telle que le verre, plastique...etc (Hamzaoui et Kenane, 2005).

I.3.2. Contamination chimique :

Se focalise essentiellement dans l'usage de médicaments vétérinaires pouvant être transmis au lait, sans que le délai de retrait spécifié pour le médicament n'ait été respecté, Ainsi que les résidus de pesticides utilisés pour la lutte contre les nuisibles.

Les résidus chimiques peuvent provenir des opérations de nettoyage et désinfection (CAC/RCP 57-2004).

I.3.3. Contamination microbienne :

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. Le lait comporte une flore originelle et une flore de contamination (Bordjah, 2011).

I.3.3.1. Flore originelle :

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes /ml). Il s'agit essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles (Bordjah, 2011).

I.3.3.2. Flore de contamination exogène :

I.3.3.2.1. Virus :

Les principaux virus rencontrés dans le secteur laitier sont ceux de l'hépatite A et les bactériophages qui sont spécifiques des bactéries et ne représentent aucun danger pour la santé humaine (FAO, 1995).

I.3.3.2.2. Levures et moisissures :

Les levures et les moisissures participent à l'affinage de certains fromages et à la fabrication des produits laitiers fermentés, on n'a pas identifié des levures pathogènes dans le lait cru par contre il existe des moisissures utiles et d'autres toxiques (CELC, 1998).

I.3.3.2.3. Bactéries :

Une flore contaminante présente l'ensemble de micro-organismes ajoutés au lait extrait du pis de la vache, de la récolte jusqu'à la consommation :

- Une flore d'altération : causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture ou réduira la durée de conservation des produits.

Ex: *Pseudomonas sp* , *Proteus sp*, *Escherichia*, *Bacillus sp*, *Clostridium sp*.

- Une flore pathogène : capable de provoquer des malaises et des dangers chez les personnes qui consomment ces produits laitiers.

Ex: *Salmonella sp*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* (Anonyme1, 2003).

I.4. Règles requises pour traire un lait de qualité :

En général, on définit la qualité d'un produit comme étant l'ensemble des caractéristiques lui permettant de satisfaire les besoins exprimés par le consommateur (Fournier et Goulet, 2004).

I.4.1. Hygiène de la traite (CAC/RCF 57-2004) :

Des mesures hygiéniques sont applicables lors d'une traite de qualité :

- L'eau utilisée pour nettoyer le pis ainsi que l'équipement de traite et de stockage du lait devrait être de qualité suffisante pour ne pas porter atteinte à la sécurité sanitaire et à la salubrité du lait.
- Pratique de nettoyage et de rinçage du pis, matériel ainsi que le locale de la traite.
- L'équipement de traite, les ustensiles et les citernes de stockage devraient être conçus, construits et entretenus de manière à permettre un nettoyage adéquat ainsi d'éviter toute blessure au niveau des mamelles et du pis.

I.4.2. Hygiène de l'environnement (CAC/RCF 57-2004) :

Comme l'environnement peut causer des dommages à la qualité du lait, il faut que :

- Les locaux de la traite devraient être exempts de tout animal indésirable, tels que la volaille et autres animaux dont la présence pourrait entraîner la contamination du lait.
- Les lieux de la traite devraient pouvoir être nettoyés facilement.
- La litière doit être propre pour éviter la contamination de la mamelle.

Chapitre II : Coliformes thermotolérants et *E. coli*.

II.1.Généralités sur les coliformes thermotolérants :

Les coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Edberg *et al.*, 2000).

La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés (Edberg *et al.*, 2000). Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt de l'environnement ou de des eaux enrichies en matière organique, provenant du secteur de la transformation alimentaire (OMS, 2000). C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « coliformes thermotolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (OMS, 1994).

L'intérêt de la détection de ces coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales (CEAEQ, 2000).

La présence d'*Escherichia coli* est souvent associée à celles des entérobactéries pathogènes comme les salmonelles et les *Shigella*.

II.2.*Escherichia coli* :

Germe commensal du tractus gastro-intestinal de l'homme et des animaux, il représente 80% de la flore intestinale aérobie. La plupart des souches sont inoffensives. Certaines en revanche peuvent provoquer une intoxication alimentaire grave.

Les souches d'*E.Coli* qui sont pathogènes sont celle qui appartiennent au groupe des producteurs de shigatoxines elles peuvent provoquer une maladie grave d'origine alimentaire.

À l'origine des flambées épidémiques d'*E.coli* producteur de shigatoxines, on trouve principalement la viande hachée crue ou mal cuite, le lait cru et la contamination fécale de légumes. Dans la plupart des cas, la maladie guérit spontanément, mais elle peut évoluer vers une forme potentiellement mortelle comme le syndrome hémolytique et urémique (SHU), notamment chez les jeunes enfants et les personnes âgées (OMS, 2016).

II.2.1.Taxonomie : *E-coli* appartient à

- Ordre : *Enterobacteriale*
- Famille : *Enterobacteriaceae*
- Genre : *Escherichia*
- Espèce : *Escherichia coli* (Perrin, 2004).

II.2.2. Caractères morphologiques :

Les *Escherichia coli* forment un groupe de bacilles mobiles par des ciliatures péritriches très réduites voire immobile, Gram négatif, non sporulés de la famille des *Enterobacteriaceae*.

La taille varie de 1 à 3 µm de longueur sur 0,7 µm de diamètre environ, extrémités arrondies, se présentent généralement isolés rarement en amas. Peuvent cultiver facilement en milieu aérobie ou anaérobie.

Les colonies caractéristiques se développent dans les 24heurs à 37°C sur milieu gélosé MacConkey, elles forment des colonies de 1,5 à 3 mm de diamètre, arrondies, lisses (forme de S) légèrement opaques (Fauchere et Avril , 2002).

II.2.3.Caractères biochimiques : Se résumant dans le tableau N°1.

Tableau N°01 : caractéristiques biochimiques d'*E-coli* (Hart et Shears, 2006).

<i>Caractéristiques</i>	<i>Resultats</i>
Lactose	+
Mannose	+
Glucose	+
ONPG	+
NO ₃	+
Mannitol	+
Indole	+
Uréase	-
VP	-
Citrate	-
H ₂ S	-
Gaz	+
Réduit les nitrates en nitrites	+
Saccharose	+
Mobilité	+

II.2.4. Caractères culturels : (Anonyme 02, 2012).

- ✚ Oxygène : Aéro anaérobie facultatif
- ✚ pH : optimum 7,5 (entre 4,6 et 9,5)
(L'acidification entraîne une inhibition de leur croissance.)
- ✚ Température : 37°C (pousse entre 18° et 44°C)
4°C survit et persiste pendant plusieurs semaines
- ✚ AW : croissance inhibée pour $aw < 0,935$
- ✚ Pasteurisation tue les *E. coli* à 72°C pendant 15 secondes.

II.2.5. Méthode d'isolement et d'identification:

II.2.5.1. Méthodes d'isolement :

Méthodes microbiologiques classiques avec utilisation de géloses sélectives telles que :

- ✚ Milieu EMB : Milieu Eosine Bleu de Méthylène : Milieu d'isolement des bacilles Gram⁻. Il est très utilisé pour l'isolement des coliformes. *E. coli* apparaissent en colonies violettes, semi-bombées de 2 à 3mm de diamètre avec éclat métallique, centre sombre.
- ✚ Milieu Mac Conkey : Milieu sélectif pour l'isolement des bacilles Gram⁻ ; coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques. Les colonies sont rouges entourées d'un halo opaque de la même couleur du à la précipitation des sels biliaires: lactose⁺, Colonies jaunes ou incolores : lactose⁻.
- ✚ Milieu VRBL : La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est un milieu sélectif utilisé pour la recherche et dénombrement des coliformes dans l'eau, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires. Les coliformes présentent des colonies violacées de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm après 24 heures d'incubation. Les entérobactéries lactose-négatives sont incolores (*Guillaume, 2004*).

II.5.2. Méthodes d'identification :

- ✚ Le mécanisme enzymatique pour le clivage endonucléolytique de l'ADN (*George et al., 1981*).
- ✚ Purification et identification de formyl-méthionyl-leucyl-phénylalanine en tant que principal facteur chimiotactique neutrophile peptidique produit par *Escherichia coli* (*Marasco et al., 1984*).
- ✚ Réaction en chaîne par polymérase PCR (*Millet et al., 1974*).
- ✚ Galerie Api (*Anonyme 03, 2014*).

II.2.6. Les organismes indicateurs d'hygiène des procédés :

Pour refléter (indiquer) la qualité microbiologique d'un aliment, que ce soit celle relative à sa durée de vie (qualité marchande du produit) ou celle à son innocuité en agents pathogènes pour l'homme, la présence de certains microorganismes ou de leurs produits est recherchée. Ce sont les organismes indicateurs de salubrité et de sécurité.

Certains de ces organismes sont indicateurs de salubrité, ils déterminent les durées de vies des produits et de ce fait sa durée de conservation avant que les germes qui y sont présents ne croissent en nombre important et altèrent ainsi les valeurs organoleptiques. D'autres microorganismes sont utilisés pour indiquer la présence d'agents pathogènes susceptibles d'engendrer un danger préjudiciable à la santé du consommateur (Jay et al., 2005).

Ces critères s'appliquent à la plupart des aliments qui peuvent être des véhicules d'agents pathogènes d'origine alimentaire. Les agents pathogènes les plus importants ont une origine intestinale, et leur présence dans un aliment résulte soit d'une contamination fécale directe ou indirecte.

Ainsi, de tels indicateurs sanitaires ont été utilisés historiquement pour détecter la contamination fécale des eaux et donc la présence éventuelle de pathogènes intestinaux. Le premier indicateur fécal utilisé était *Escherichia coli* (Jay et al., 2005).

Schardinger (1892) fut le premier à suggérer l'utilisation des coliformes et en particulier *E-coli* comme indicateur de contamination fécale de l'eau, Étant donné que *E. coli* est plus indicatif de la pollution fécale que les autres genres et espèces des coliformes.

La recherche de cet organisme, comme mesure de la potabilité de l'eau a été suggéré en 1895 par T. Smith, Cela a marqué le début de l'utilisation de coliformes comme indicateurs d'agents pathogènes dans l'eau. Cette pratique a été étendue aux aliments.

Bien que l'indice de coliformes ait été appliqué aux aliments pendant de nombreuses années, il existe des limites à l'utilisation de ces indicateurs pour certains aliments, les tests coliformes pour les produits laitiers ne sont pas destinés à indiquer la contamination fécale, mais reflètent l'état hygiénique de la ferme laitière et surtout les opérations de nettoyage-désinfection des unités de fabrication de produits alimentaires (McCrary et al., 1932 ; Jay et al., 2005).

Malgré les limites observées, les coliformes ont une valeur prouvée comme indicateurs de sécurité dans au moins certains aliments. Ils sont mieux utilisés comme composant d'un programme de sécurité tel que le système HACCP.

L'utilisation réussie de l'indice coliforme/coliforme fécal pour évaluer la potabilité de l'eau potable a conduit à son utilisation généralisée pour la sécurité microbienne des aliments, et pas seulement. Cette utilisation a été étendue à une grande variété de produits alimentaires, mais aussi aux surfaces de manipulation des aliments et les ustensiles (Jay et *al.*, 2005).

Chapitre III : *E. coli* dans le lait.

III.1. Sources de contamination par *E. coli* (Anonyme04, 2012).

Les coliformes d'origine fécale sont absents dans les laits pasteurisés, ils sont cependant plus nombreux dans les laits de mélange, leurs abondance dans les laits crus résulte de :

- Non observation des dispositions sanitaires requises pendant la traite et la récolte du lait.
- La peau des trayons souillée par les fèces, c'est le principal vecteur.
- Une contamination lors du transport ou d'un stockage défectueux.
- Un matériel de traite mal conçu, difficile à nettoyer.
- Lors des excréctions mammaires lors d'infection par *E. coli*.
- Une contamination par l'eau utilisée pour les différents nettoyages.

III.2. Présence d'*E. coli* dans différentes denrées alimentaires :

Des études précédentes ont rapporté des cas d'infection sporadique et collective à *E. Coli* où plusieurs aliments ont été incriminés. En France des rapports d'enquête sur des épidémies ont rapporté une variété d'aliments directement liés à des cas d'infections à différents sérotypes d'*E. coli* (tableau N°02) (Estelle, 2011).

Les produits les plus souvent incriminés sont :

- Les viandes d'origine bovine crues ou mal cuites, en particulier le bœuf haché mal cuit.
- Le lait non pasteurisé.
- Fruits et légumes crus ou très peu traités en particulier les légumes verts à feuille.
- Les produits à base de lait cru.
- Le cidre non pasteurisé.
- Les fruits fraîchement coupés et les graines germées.

Tableau N°02 : Les épidémies et cas groupés d'infections dues aux EHEC recensés en France depuis 2002 (Estelle, 2011).

Année	Sérogroupe/types des souches EHEC impliquées	Nombre total de malades	Mode de transmission (aliments incriminés)	Référence
2002	O148 :H8	11(2)	Alimentaire (viande de mouton)	(Espié et <i>al.</i> , 2006a)
2004	O157 :H7	3(2)	Alimentaire (fromage au lait cru de chèvre)	(Espié et <i>al.</i> , 2006b)
2005	O157 :H7	69(17)	Alimentaire (viande hachée de bœuf congelée)	(King et <i>al.</i> , 2009)
2005	O26 :H11/O80 :H2	16(16)	Alimentaire (camembert)	(Espié et <i>al.</i> , 2005)
2009	O123 : H-	2(1)	Alimentaire (hamburger)	(king et <i>al.</i> , 2010)
2011	O104 :H4	15(9)	Alimentaire (germes de fenugrec)	(King et <i>al.</i> , 2012)
2011	O157 : H- /O177 :H25	18(18)	Alimentaire (viande hachée de bœuf congelée)	(King et <i>al.</i> , 2012c)
2012	O57 :H7	6(4)	Alimentaire (viande hachée de bœuf fraîche)	(Barre et <i>al.</i> , 2012)

III.3. Impact de la contamination des aliments par *E. Coli* sur la santé humaine :

Les *E. coli* qui provoquent la diarrhée, la gastrite aigue ou la colite de l'homme sont désignés sous le nom *E.coli* pathogènes, on classe certains souches pathogènes :

➤ *E.coli* enteropathogène (EPEC) :

- Associés aux épidémies de diarrhée infantile.
- Fièvre
- Vomissements
- Des douleurs abdominales
- Diarrhée accompagnée de grande quantité de mucus et un peu de sang.

➤ *E.coli* enterotoxinogène (ETEC) :

- Diarrhée aqueuse accompagnée de douleur abdominale
- Malaise et nausées
- Agents reconnus de diarrhée du voyageur.

➤ *E.coli* enterohémorragique (EHEC) :

- Colite hémorragique
- Les diarrhées infectieuses se présentent sous forme de cas sporadique ou d'épisode endémique (TIAC) voir épidémique, des spécificités existent d'une part selon les régions et selon les saisons, mais aussi selon l'âge et niveau socio-économique des populations concernées ainsi selon le mode de vie (régimes alimentaires, consommation d'aliments emportés, restauration rapide et collectives, voyages) (Brisabois et *al.*, 1997).

➤ *E.coli* entéroinvasifs (EIEC) :

- Signes de toxémie avec malaise et fièvre.
- Nécrose dans les intestins.

Partie 2 :

Partie expérimentale

I. OBJECTIFS :

Le premier objectif de notre étude est de contribuer à évaluer la contamination par les Coliformes thermotolérants du lait cru, dans quelques centres de collecte de la wilaya de Tizi-Ouzou par une méthode d'analyse quantitative et d'évaluer l'effet du pH sur cette contamination.

Le second objectif est de rechercher la présence d'*E.coli* dans le lait cru de collecte et de l'utiliser comme indicateur de la présence possible de Salmonelles. La présence d'*E.coli*, est connue pour être un organisme indicateur de la qualité microbiologique du produit et aussi comme indicateur de présence probable de germes pathogènes, en particulier *Salmonella* spp. Dans ce cas, *E.coli* indique la sécurité du produit.

II. Matériels et méthodes :

1. Matériels :

1.1.Echantillonnage :

1.1.1. Période de l'étude :

Le présent travail a été réalisé durant la période allant du 16 au 29 du mois de Janvier 2017.

1.1.2. Lieu de prélèvement :

Nous avons effectué 28 prélèvements de lait cru dans 3 centres de collecte de la wilaya de Tizi-Ouzou. (Tableau N° 03)

- ✚ Centre Imaloussen de la commune de Timizart
- ✚ Centre Freha
- ✚ Centre Tala de la commune d'Aghribs.

Tableau N°03 : Répartition des prélèvements par centre de collecte.

Date de prélèvement	Centre	Nombre d'échantillons
16/01/2017	Imaloussen-Timizart	03
	Tala-Aghribs	03
22/01/2017	Freha	04
	Tala-Aghribs	04
	Imaloussen-Timizart	04
29/01/2017	Freha	02
	Tala-Aghribs	04
	Imaloussen-Timizart	04

1.1.3. Technique de prélèvement :

Pour prélever nos échantillons, nous avons ciblé les citernes de collecte de chaque centre. Dans ces citernes, est mélangé et homogénéisé le lait cru ramener par les différents collecteurs qui fournissent ces centres.

Nous rappelons que chaque centre de collecte possède ses propres collecteurs, ces derniers collectent chacun dans des fermes d'élevage particulières à eux.

Avant de prélever les échantillons, nous avons procédé à désinfecter les robinets des citernes par flambage, à éliminer les premiers jets du lait et ensuite à remplir les flacons stériles de 250 ml, après les avoir identifiés.

Les échantillons ont été acheminés vers le laboratoire d'HIDAOA de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, dans une glacière isotherme, le jour même du prélèvement pour y être traités.

1.2. Matériels de prélèvement et de laboratoire :

1.2.1. Prélèvement :

- Flacon stérile de 250ml
- Glacière
- Un petit chalumeau

1.2.2. Matériels de laboratoire :

- ❖ Flacons, tubes à essai, pipettes pasteurs, micropipettes, boîtes de pétri, anse de platine.
- ❖ pH mètre (HANNA Instruments)
- ❖ Compteurs de colonie (FUNKE GERBER)
- ❖ Vortex (SCIOLOGEX)
- ❖ Etuve réglé à 44°C et 37°C (Mettler)
- ❖ Autoclave (PbInternational)

1.2.3. Les milieux et les réactifs :

- ❖ Eau peptonée (IPA)
- ❖ Gélose lactosée bilée au cristal violet et au rouge neutre VRBL (IPA)
- ❖ Eau distillé
- ❖ Galerie API 20E (Biomérieux)
- ❖ Kovacs (IPA)
- ❖ Réactif Tryptophane Désaminase (TDA) (IPA)
- ❖ Réactifs Voges-Proskauer (VP1, VP2) (IPA)
- ❖ Vaseline.

2. Méthodes :

2.1.Prise du pH :

Réalisée par un pH-mètre, selon les recommandations du fabricant. La sonde du pH-mètre est plongée dans un bécher contenant le lait. La valeur du pH est affichée sur l'écran, comme la montre la Figure N°01.



Figure N°01 : Technique de prise de pH par un pH-mètre électronique. (Photo personnelle).

2.2.Dénombrement des coliformes thermotolérants :

Réalisé selon les recommandations de la norme NF08-060 (2009). C'est une méthode quantitative, de routine, qui permet un dénombrement par comptage des colonies sur milieu solide à 44°C.

Le mode opératoire est résumé par le logigramme suivant (Figure N°02).

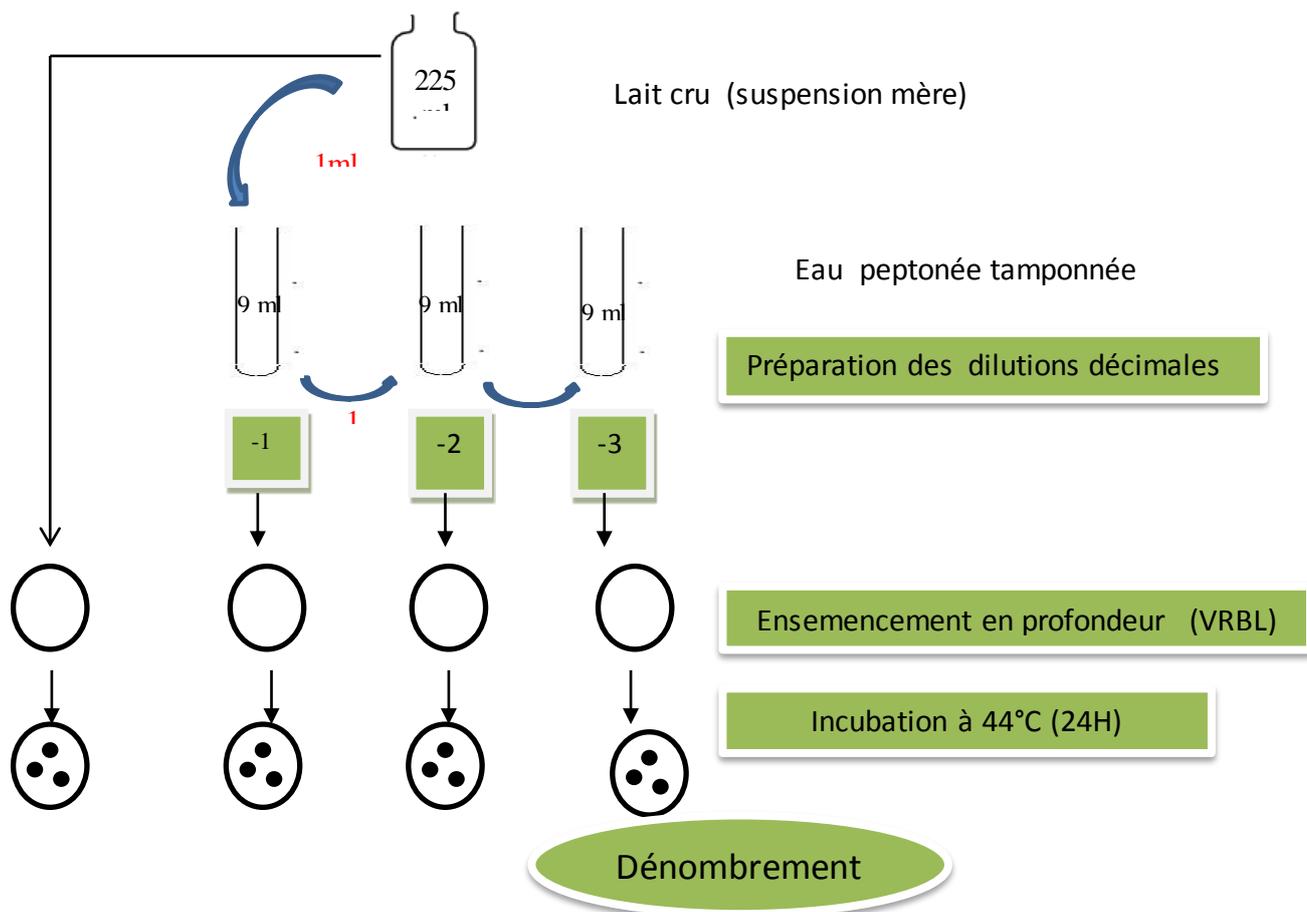


Figure N°02 : Logigramme du protocole du dénombrement des coliformes thermotolérants (schéma personnelle)

Le dénombrement a été réalisé par l'utilisation de la formule :

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

En prenant en considération de retenir deux boîtes de dilutions successives avec un nombre de colonies « c » où $15 \leq c \leq 150$.

$\sum c$: $c_1 + c_2$ (c_1 = nombre de colonies de la première boîte retenue, c_2 = nombre de colonies de la deuxième boîte).

d : le taux de dilutions de la 1^{ère} boîte retenue.

N : le nombre de Coliformes /gr ou ml.

Pour les boîtes où le nombre de colonies est inférieur à 15, la moyenne arithmétique des deux boîtes de la plus petite dilution :

$(C_1 + C_2) / 2$ = nombre estimé de micro-organismes par millilitre (**Norme ISO7218 :1996(F)**).

2.3. Identification d'*E.coli* et de *Salmonella* spp. :

Pour chaque échantillon, nous avons ré-isolé deux (02) colonies présomptives des boîtes positives (colonie lentiforme et rosâtre sur VRBL). L'ensemencement a été réalisé sur des tubes contenant de l'eau peptonée tamponnée exempte d'indole, afin de réaliser un enrichissement.

De ces enrichissements, nous avons réalisé des tests biochimiques de mise en évidence des tryptophanase qui nous sert d'identifier *E.coli* des autres coliformes thermotolérants.

De chaque tube, nous prenons un aliquote auquel nous rajoutons du réactif « Kovacs », les tubes sont considérés positifs s'il y'a formation d'un anneau rouge signe de dégradation du tryptophane et production d'indole.

Les tests biochimiques miniaturisés de confirmation (galeries API20E) n'ont été réalisés que sur les tubes ayant montré un anneau rouge.

Les galeries API, nous ont permis d'identifier les *E.coli* et les Salmonelles.

I. Résultats et discussion :

1. Résultats de prises des pH :

Les prises de pH sont faites immédiatement à l'arrivée au laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV.

Les valeurs enregistrées sont comprises entre 6 et 6,8 pour le lait des trois centres de collecte, comme le montre la figure N° 03.

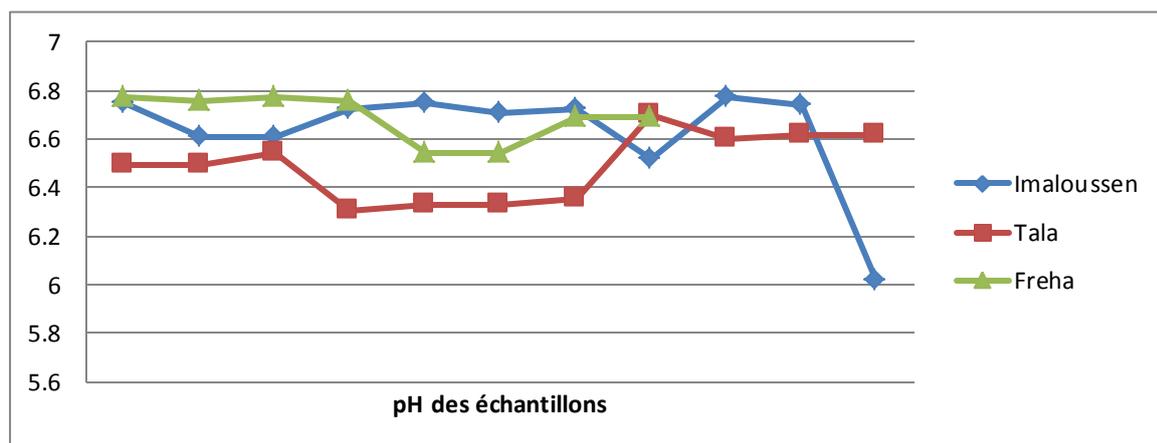


Figure N°03 : Variation des valeurs de pH dans le lait cru des trois centres.

Les moyennes de pH enregistrées sont de 6,63 ; 6,48 et 6,69 pour le centre d'Imaloussen, Tala et Freha respectivement. Ces valeurs sont situées dans la plage du pH normal du lait cru qui varie de 6,6 à 6,8 (FAO, 1995).

Ces valeurs indiquent qu'il n'y a pas eu de modification de pH liée à l'activité bactérienne de la flore naturelle du lait ou des germes de contamination (FAO, 1995). Ceci suggère que l'activité bactérienne lors de la collecte au niveau des centres de collections n'a pas été assez importante (phase de latence ou d'adaptation des bactéries à leur milieu) pour modifier le pH par dégradation du lactose et que les échantillons de lait ont été bien conservés au froid pendant leur transport rapide vers le laboratoire.

2. Résultats du dénombrement des coliformes thermotolérants:

Le dénombrement des coliformes thermotolérants dans les échantillons collectés a permis d'obtenir les résultats rapportés dans le tableau N°04.

Tableau N°04 : Résultats du dénombrement par échantillon et par centre de collecte.

Centre de collecte \ Résultats	Echantillon	Nombre de Coliformes thermotolérants
IMALLOUSSEN	P1	4.10 ²
	P2	5.10 ²
	P3	5.10 ²
	P15	5.10 ³
	P16	5.10 ⁵
	P17	4.10 ²
	P18	6.10 ²
	P25	1,5*
	P26	4*
	P27	2,5*
	P28	0*
TALA	P4	6.10 ²
	P5	8.10 ⁴
	P6	5.10 ²
	P11	4.10 ²
	P12	3.10 ⁵
	P13	10 ³
	P14	3.10 ²
	P21	6.10 ³
	P22	0*
	P23	2 .10 ³
P24	2.10 ³	
FREHA	P7	2,5*
	P8	3.10 ²
	P9	5.10 ²
	P10	8.10 ³
	P19	3.10 ²
	P20	1*

*nombre estimé de micro-organismes par millilitre, Norme ISO7218 :1996(F).

En comparant les résultats répertoriés dans le tableau N° 04, au seuil imposé par la réglementation algérienne, relative aux critères microbiologiques du lait cru (JO N°35), nous

observons que certains nombres sont inférieurs au seuil critique ($m=10^3$), alors que d'autres le dépassent largement. La figure N°04 résume la comparaison des taux obtenus au seuil critique.

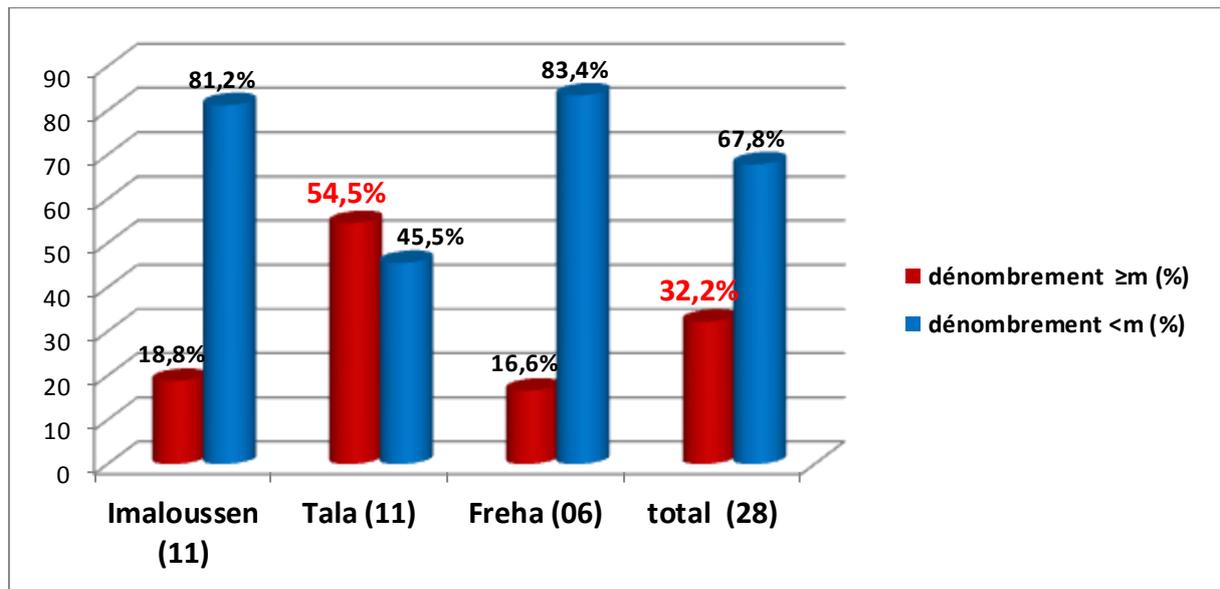


Figure N°04 : Répartition des % des dénombrements par centre de collecte

Le tableau N°04 et la figure N°04, montrent que sur 28 échantillons de lait cru de collecte prélevés dans les trois centres de collecte, 67,8 % des échantillons sont contaminés par les coliformes thermotolérants mais à des taux inférieurs au seuil de $m=10^3$, alors que 32,2% des échantillons dépassent largement ce seuil.

C'est dans le centre de collecte de Tala que le taux des échantillons dont la contamination dépassent le seuil critique imposé par la réglementation, est le plus élevé (54,5%) , suivi du centre d'Imaloussen (~19%) et enfin de Freha (16,6%).

Nous ne pouvons dire si les échantillons ayant présentés des taux de coliforme thermotolérant inférieur à « m » sont de bonne qualité microbiologique pour être destinés à la consommation humaine puisque les autres germes indiqués dans les critères microbiologiques du lait cru selon la réglementation algérienne, n'ont pas été recherchés. Nous pouvons dire par contre que ces échantillons s'ils sont commercialisés en l'état, sans aucun traitement bactéricide, ils peuvent s'altérer encore plus et présenter un danger sur la santé du consommateur.

3. Résultats de la recherche d'*E.coli* par identification biochimique :

Nous avons recherché la présence d'*E.coli* dans les échantillons positifs par l'utilisation du test de l'indole et de galeries API.

Les résultats obtenus (prévalences globales et par centre), figurent dans le tableau N°05 et la figure N°05.

Tableau N°05 : Prévalence d'*E.coli* dans les centres de collecte

Nombre d'échantillons	Prévalence globale d' <i>E. coli</i>		Prévalence d' <i>E. coli</i> par centre de collecte					
			TALA		FREHA		IMALOUSSEN	
	N	%	N	%	N	%	N	%
28	05	17,8	02	18,2	02	33,3	01	9,1

N : nombre d'échantillon

% : pourcentage d'échantillon

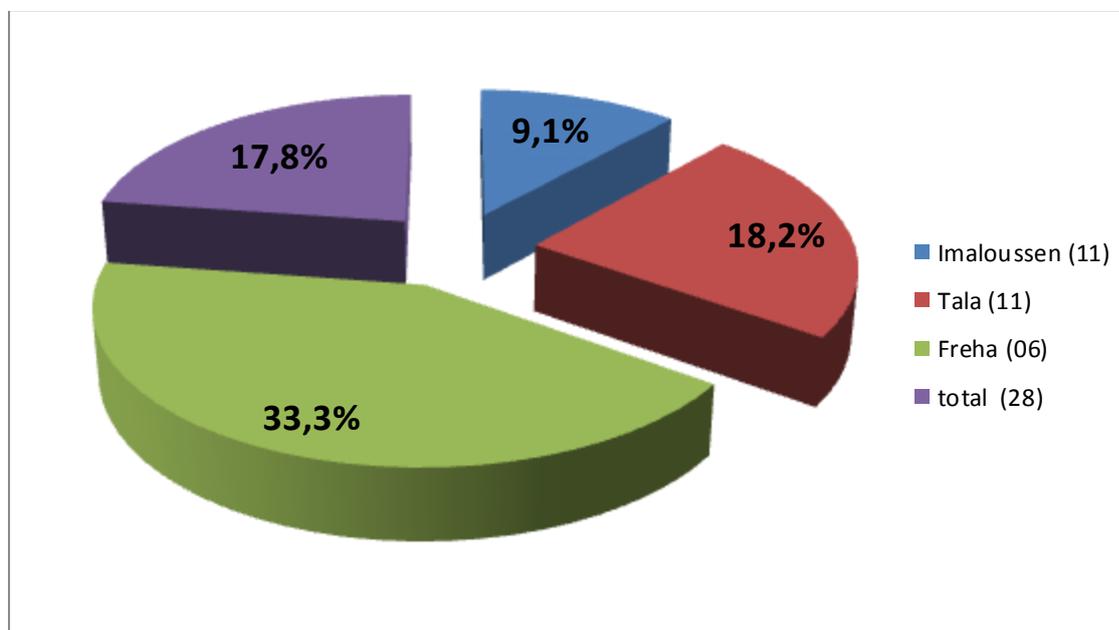


Figure N°05 : Prévalences d'*E.coli* dans le lait cru dans les centres de collecte.

Comme le montre le tableau N°05 et la figure N°05, *E.coli* a été retrouvé dans tous les centres de collecte. La prévalence globale a atteint le taux de 17,8% que nous considérons comme élevé. La plus part des souches d'*E.coli* sont inoffensives, seules certaines sont pathogènes et peuvent provoquer des toxi-infections alimentaires (OMS, 2016), nous n'avons pas effectué de sérotypage pour voir si les souches retrouvées sont pathogène ou pas, mais nous ne pouvons pas écarter le danger que peuvent représenter ces germes sur la santé du consommateur du lait cru. Des infections graves chez des enfants, liée à la consommation de lait cru ont été rapportées par la CDC en 2008 et le germe mis en cause était *Escherichia coli* 0157:H7 (CDC, 2008).

En termes d'hygiène alimentaire la présence d'*E.coli* indique une contamination d'origine fécale (Jay et al. 2005). Cette contamination proviendrait de l'environnement des fermes laitières. Elle serait liée à des mammites à *E.coli* ce qui contaminerait directement le lait (Hanzen, 2010) ; à une mauvaise hygiène lors de la traite (Pis mal nettoyé, ustensiles non désinfectés... etc.) Ou encore aux biofilms que forment ces germes sur les surfaces (Roux et Ghigo, 2006) (seaux, machines à traire, citernes de collecte...etc.) et continuent à contaminer le lait collecté.

4. Prévalence de *salmonelle* dans les échantillons de lait :

L'utilisation des galeries API 20E pour l'identification des *E.coli* a permis aussi d'identifier l'espèce *Salmonella* dans les échantillons de lait cru. Certains échantillons contenaient la *Salmonella* (04) et pas *E.coli* et parmi eux certains (02) étaient doublement contaminés à *Salmonella* et *E.coli*.

Les résultats obtenus sont rapportés dans la figure N°06 :

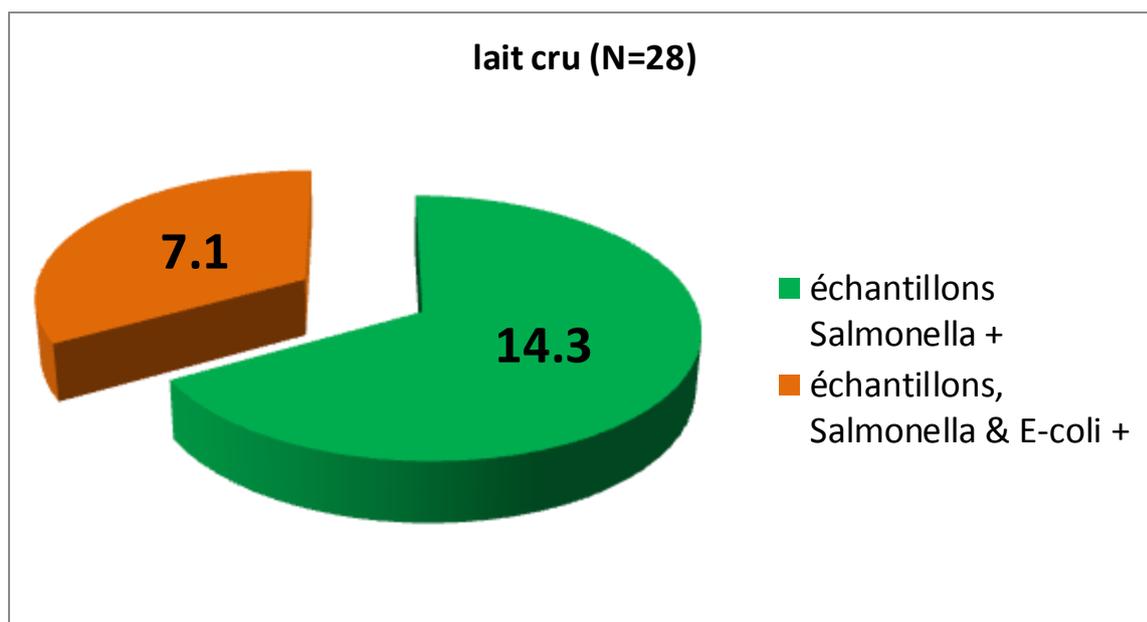


Figure N°06 : Prévalence des salmonelles dans le lait cru.

Nous avons enregistré la présence de *Salmonella* dans le lait cru que nous avons analysé, comme le montre la figure N°06. Un germe pathogène qui selon son sérotype peut provoquer des infections et des TIAC graves. La CDC a également rapporté en 2010, des cas d'infection liés à la consommation de lait non pasteurisé (CDC, 2010).

5. Comparaison des contaminations du lait cru dans les trois centres de collecte :

Les trois centres de collectes de lait cru, où nous avons effectué notre échantillonnage se trouvent dans la même région de Kabylie. Chaque centre a ses propres collecteurs de lait, mais ces collecteurs sillonnent la même région et collectent chacun dans ses propres fermes laitières.

La contamination par les coliformes thermotolérants a été enregistrée dans les trois centres de collecte, comme le montre le tableau N°4 ; la figure N° 04. Montre que la plus importante prévalence des échantillons dépassant le seuil de contamination acceptable a été enregistré à TALA, où plus de la moitié des échantillons étaient très contaminés.

E-coli a été également identifiée dans les trois centres avec une prévalence de 33% à FREHA, c'est le taux le plus élevé (tableau N°5).

Les échantillons doublements contaminés par salmonelles et *E.coli* provenaient chacun d'un centre de collecte différent (un à IMALOUSSEN et l'autre à FREHA).

Tous ces résultats suggèrent que la contamination proviendrait des fermes laitières. La différence des prévalences et de la répartition des différents germes recherchés (Coliformes thermotolérants, *E.coli* et *Salmonella* spp.) laisse penser que la contamination proviendrait des tanks de collecteurs et des citernes des centres de collection qui seraient mal nettoyés et mal désinfectés et où les germes ont formé des biofilms qui continuent à contaminer le lait cru collecté.

Conclusion :

Les objectifs de notre étude ont été atteints, ainsi nous avons évalué la contamination du lait cru de collecte par les coliformes thermotolérants et avons enregistré que 32% de ce lait étaient contaminés à des taux supérieures au seuil de l'acceptabilité rapporté par la législation algérienne.

Nous avons également retrouvé *E.coli* dans 17,8% du lait cru de collecte, signe de mauvaise hygiène et mauvaises pratiques de nettoyage et désinfection dans ce secteur.

La recherche d'*E.coli* a permis de mettre en évidence la présence de salmonelles et des échantillons doublement contaminés par les deux germes.

Les origines de cette contamination sont multiples, mais les schémas de collecte et la répartition des prévalences et des contaminations dans les différents centres de collecte, suggèrent que la contamination se fait dans les tanks de collecte et les citernes des centres de collectes, sans éliminer la source primaire de contamination au niveau des fermes.

L'utilisation d'organismes indicateurs s'est avérée très efficace pour évaluer la qualité microbiologique du lait cru et de même sa sécurité après détection de germes pathogènes.

Recommandations :

Pour une production d'un lait cru propre et de qualité bactériologique satisfaisante, en évitant sa contamination par *Escherichia coli* et autres germes, nous recommandons certaines pratiques :

- ✚ Veiller sur l'hygiène de la mamelle, laver et essuyer les trayons avant chaque traite pour éviter la contamination du lait par les fèces.
- ✚ Nettoyage quotidien de la machine à traire pour prévenir l'apparition des biofilms.
- ✚ Nettoyage et désinfection des tanks.
- ✚ Hygiène du vacher lors de la traite.
- ✚ Un contrôle adéquat ; à l'aide de test bactériologique ; du lait depuis sa production jusqu'à sa consommation.
- ✚ Une meilleure conservation du lait cru entre 3°et 5°C afin d'empêcher la multiplication bactérienne.
- ✚ Veiller à une pasteurisation convenable du lait cru afin d'éviter tout danger sur la santé humaine.
- ✚ Sensibilisation du public sur les dangers issus de la consommation d'un lait cru contaminer.
- ✚ Renforcer le rôle du vétérinaire dans le contrôle de la sécurité et la salubrité du lait tout au long de la chaîne de production.

Références:

1. **Anonyme01, 2003.** Le lait cru de la ferme.
http://biosol.free.fr/liens/fromage_2003/agri.htm téléchargé le : 08/06/17.
2. **Anonyme 02, 2012.** Guides de bonnes pratiques d'hygiène collectent de lait cru et fabrication de produits laitiers, les éditions des journaux officiels page 132 29/01/2017.
3. **Anonyme 03, 2014.** Recherche et identification d'*Escherichia coli* dans Leben marocain
<https://fr.slideshare.net/mazoudH/recherche-et-identification-descherichia-coli-dans-leben-marocain> téléchargé le: 07/06/17.
4. **Anonyme04, 2012.** Revue de Médecine Vétérinaire: RevMedVet.
<http://www.revmedvet.com> consulter le 01/06/2017.
5. **Bordjah A. 2011,** Analyse physico-chimique et microbiologie de lait UHT demi-écrémé par centre de formation professionnelle El Hidhab Sétif Algérie - BTS en contrôle de qualité dans les industries agroalimentaires <https://www.memoireonline.com/01/12/5176m-analyse-physico-chimique-et-microbiologique-de-lait-UHT-demi-ecremé.html> Téléchargé le : 08/06/17.
6. **Boukhalfa B., 2010 .**Contribution à l'étude de la qualité bactériologique du lait cru au niveau de quelques élevages de la wilaya d'Alger, projet de fin d'étude à l'Ecole National Supérieure Vétérinaire 2009/2010.
7. **Brisabois.A, Lafarge.V, Brouillaud.A, M.-L. de Buysen, Collette.C, Garin-Bastuji.B, 1997.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. . <https://www.oie.int/doc/ged/D9153.PDF> Consulté le 06/01/17.
8. **CAC/RCF 57, 2004.** Code d'usage en matière d'hygiène pour le lait et les produits laitiers.
9. **CEAEQ, 2000 :** Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24 p.
10. **CELC, 1998.** La microbiologie de lait, centre d'enseignement laitier par correspondance. In : BOUTAKHEDMIT M, BELKACEMI T ,2004 : Analyses microbiologique du lait cru, these Ecole Nationale Vétérinaire, page 11.
11. **CDC, 2008.** *Escherichia coli* 0157:H7 Infections in Children Associated with Raw Milk and Raw Colostrum From Cows --- California, 2006. MMWR, 57(23);625-628.
<https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5723a2.htm>, téléchargé le 09/05/17.

12. **CDC, 2010.** Notes from the Field: Salmonella Newport Infections Associated with Consumption of Unpasteurized Milk --- Utah, April--June 2010. MMWR, **59(26); 817-818**, <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5723a2.htm>, téléchargé le 09/05/17.
13. **Codex alimentarius, 1999.**
14. **Codex Stan 206-1999.** Norme générale codex pour l'utilisation de termes de laiterie
15. Congrès International de Répression des fraudes tenu à GENEVE EN 1909.
16. **Edberg, SC, EW Rice, RJ Karlin et MJ Allen, 2000.** *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88: 106S-116S.
17. **Estelle L., 2011.** Surveillance des *E.coli* producteurs de Shigatoxines dans les denrées alimentaires en France.
18. **FAO, 1995.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, Archives de la FAO, téléchargé le 5/4/17. URL : <http://www.fao.org/docrep/t4280f/T4280F01.htm>
19. **Fauchere J-L et Avril J-L. 2002.** Bactériologie générale et médicale édition Marketing S.A. p 239.
20. **Fournier. S et Goulet .J, 2004.** Fédération des producteurs de lait du Québec. https://www.agrireseau.net/bovinslaitiers/documents/Grenon_Claude.pdf Téléchargé le: [24/03/17.](https://www.agrireseau.net/bovinslaitiers/documents/Grenon_Claude.pdf)
21. **George H., Yoakum et Lawrence Grossman, 1981.** Identification of *E. coli* *uvrC* protein Department of Biochemistry, School of Hygiene and Public Health, The Johns Hopkins University, 615 North Wolfe Street, Baltimore, Maryland 21205, USA.
22. **Guillaume pierre-Yves, 2004.** Milieu de culture en microbiologie. http://py.guillaume1.free.fr/pierre-yves/site%20microbiologie/page%20les%20milieux%200de%20culture/milieu_en_boite/desoxycholate.htm Téléchargé le : [20 MARS 2017.](http://py.guillaume1.free.fr/pierre-yves/site%20microbiologie/page%20les%20milieux%200de%20culture/milieu_en_boite/desoxycholate.htm)
23. **Hamiroune M, 2009.** Contribution à l'étude de la contamination du lait par les staphylocoques et son impact sur la santé humaine p1 mémoire de magistère.
24. **Hamzaoui A. et Kenane C., 2005.** Evaluation de la qualité bactériologique et physicochimique du lait cru au niveau de laiterie de Beni Tamou, PFE école nationale vétérinaire, P11 ,12 ; 15.
25. **Hanzen.Ch., 2010.** La pathologie infectieuse de la glande mammaire, Etiopathogénie et traitements Approche individuelle et de troupeau Année 2009-2010. http://www.therioruminant.ulg.ac.be/notes/200910/R22_Mammites_etiopathogenie_traitement_2010.pdf. Téléchargé le 09/05/17.
26. **Hart et Shears, 2006** .Atlas de poche –microbiologie 4^{ème} édition. p 117.

27. **Jay. J.M; Loessener.M.J et Golden.D.A, 2005** .Indicator of food microbial quality and food safety in Modern FOOD microbiology, seventh edition, Springer. pp 473-495.
28. **Marasco WA SH Phan, Krutzsch H, Showell HJ, 1984.** Journal of Biological–ASBMB [Purification and identification of formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine as the major peptide neutrophil chemotactic factor produced by Escherichia coli.](#)
29. **McCrary, M.H., and E.M. Langevin, 1932.** The coliaerogenes determination in pasteurization control. *J. Dairy Sci.* 15:321–329.
30. **Millet L, Melcion D et Devoyod JJ, 1974.** Lait.dairy-journal.org applied and Environmental Microbiology “méthode rapide et sensible pour la détection de la toxine shiga-like production d’Escherichia coli dans le boeufs haché à l’aide de la réaction en chaine par polymérase [La flore microbienne du fromage de Cantal fabriqué à partir de lait cru. I.-Techniques d’études et résultats préliminaires.](#)
31. **OMS, 1994.** Directives de qualité pour l’eau de boisson; volume 1 – recommandations. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 202 p.
32. **OMS, 2000.** Directives de qualité pour l’eau de boisson; volume 2 – critères d’hygiène et documentation à l’appui. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 1050p.
Accessible à : www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables/
33. **OMS, 2016.** Escherichia coli (E. coli), Aide-mémoire N°125, Octobre 2016
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/fr/>, téléchargé le 08/05/17.
34. **Perrin Jean-François, 2004.** Systématique en microbiologie. Notion d’espèce. Classification mixte consensuelle en bactériologie (d’après la nomenclature du Bergey's Taxonomic Outline).
35. **Règlement (CE) n°853, 2004.** Du parlement Européen et du conseil de 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d’hygiène applicable aux denrées alimentaires d’origine animale.
36. **Roux. A et Ghigo, 2006.** Les biofilms bactériens, communications 261, Bull. Acad. Vêt. France — 2006 - Tome 159 - N°3 <http://www.academie-veterinaire-defrance.org>
37. **Schardinger, F. 1892.**Uber das Vorkommen Gahrung erregender Spaltpilze im Trinkwasser und ihre Bedeutung fur die hygienische Beurtheilung desselben. *Wien, Klin. Wachr.* 5:403–405, 421–423.

Résumé :

Le lait cru constitue un milieu favorable à la croissance de plusieurs espèces de microorganismes dont certains sont pathogènes et peuvent être à l'origine de plusieurs maladies et intoxications humaines.

Notre étude expérimentale a porté sur la recherche et l'identification des *Escherichia coli* à partir de 28 échantillons de lait cru prélevés dans trois centres de collecte dans la région de Tizi-Ouzou. Sur les 28 prélèvements de lait cru analysés cinq étaient positifs à *Escherichia coli* avec une prévalence de 17,8%. La recherche d'E-coli a permis également d'identifier *Salmonella spp* avec une prévalence de 14%.

L'utilisation d'E-coli comme indicateur d'hygiène et sécurité a donné ses résultats.

Mots clés : lait cru ; *Escherichia coli* ; *Salmonella spp.*, ; Indicateurs d'hygiène.

ملخص:

يعتبر الحليب الطازج وسطا ملائما لتكاثر البكتيريا المتسببة في ظهور الكثير من الأمراض و التسمم عند الإنسان. إن العمل التجريبي الذي قمنا به بغية البحث و التعريف عن الايشيريشيا كولي انطلاقا من 28 عينة حليب طازجة جلبت من 3 مراكز تجميع الحليب بولاية تيزي وزو من بين 28 عينة حليب طازج 5 منها وجدت ايجابية بنسبة % 17.8 . البحث عن الايشيريشيا كولي سمح بالتعرف على سالمونيلا بنسبة % 14 . استخدم ايشيريشيا كولي كمؤشر النظافة. كلمات مفتاح: الحليب الطازج. ايشيريشيا كولي, سالمونيلا, مؤشر النظافة.

Abstract:

Raw milk is a favorable environment for the growth of several species of microorganisms, some of which are pathogenic and may be the cause of several human diseases and intoxications. Our experimental study focused on the research and the identification of *Escherichia coli* from 28 samples of raw milk, collected at three collecting centers in the Tizi-Ouzou region. As regards the 28 samples of raw milk analyzed: five positive stains with *Escherichia coli*; a prevalence of 17.8%. The research of *Escherichia coli* permitted also to identify *Salmonella spp* with a prevalence of 14%.

The uses of *Escherichia coli* as an indicator-microorganism give its result.

Key words: Raw milk, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, indicator-microorganism.