

## ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

### Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**Contribution à la recherche de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru  
dans les régions : Centre-Est, Centre et Centre-Ouest d'Algérie.**

Présenté par : Mlle. LEBDJIRI kaouther.

Soutenu le : samedi 01 juillet 2017.

#### Devant le jury composé de :

- Président :	Dr. BOUAYAD L	Maitre de conférence classe A	ENSV d'Alger
- Promoteur :	Dr. MATALLAH A.M	Maitre-assistante classe A	ENSV d'Alger
- Examineur 1 :	Dr.Zenad W	Maitre-assistante classe A	ENSV d'Alger
- Examineur 2 :	Dr.Ferhat L	Maitre-assistante classe A	ENSV d'Alger

Année universitaire :

2016-2017

# Remerciements

*Je remercie dieu le tout puissant qui m'a donné le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.*

*Qu'il me soit permis de remercier tous ceux qui d'une manière ou d'une autre, de près ou de loin, y ont contribué.*

*A madame **BOUAYADE L**, maître de conférence classe A, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury, hommage respectueux.*

*A madame **MATALLAH A.M**, maître assistante classe A de l'ENSV,*

*Qui m'a fait l'honneur d'encadrer mon travail, qu'elle trouve ici l'expression de mon respect et de ma reconnaissance.*

*A madame **FERHAT L**, et madame **ZENAD W**, maîtres assistantes classe A de l'ENSV,*

*Qui m'ont fait l'honneur de prendre part à ce jury, sincères remerciements.*

*Madame **LOUIZA**, l'ingénieure de laboratoire de l'ENSV, pour son aide précieuse et ses orientations, sans lesquelles nous n'aurons jamais pu avancer.*

*Je tiens à exprimer ma plus profonde reconnaissance à :*

*Mon père et ma mère qui m'ont toujours entouré et motivé à sans cesse devenir meilleure ;*

*Mes sœurs et mon frère*

*qui m'ont assisté dans ces moments difficiles et m'ont servi d'exemple.*

*Mes tantes, oncles, cousins, et cousines.*

## Dédicace

*A mon père,*

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

*Pour avoir fait de moi ce que je suis, sans ton soutien à tous niveaux, je n'y serais jamais arrivée.*

*A ma mère,*

*« La plus belle des créatures que dieu créa sur terre... la source de tendresse, de patience et de générosité... »*

*Avec courage et dignité tu as subi les souffrances du monde, espérant édifier un avenir meilleur à tes enfants, ton courage et ton dévouement resteront gravés en moi. Que dieu te garde longtemps auprès de nous.*

*A mes sœurs et mon frère,*

*Pour vous dire que mon souhait ardent est la compréhension, l'entente, la solidarité et enfin une famille unie.*

*A mes grands-parents,*

*Ce travail est le prix de vos prières*

*A mon encadreur DR.MATALLAH Asmaa,Manel*

*Pour sa confiance, ses conseils et l'attention portée à mon travail, ainsi que pour tous ses encouragements pendant toute la durée de ce travail et pour les nombreuses discussions fructueuses que j'ai eu. Qu'elle trouve dans ce mémoire l'expression de ma profonde gratitude.*

*A mes amis d'ici et d'ailleurs,*

*Pour ces années d'école pleines d'amitié, pour votre compagne tout au long de mon chemin*

*A mes camarades de promotion,*

*Pour avoir partagé ensemble les joies et les peines.*

## **Abréviations**

AA : acide aminé

ADH : Arginine-dehydrolase

ADN : acide désoxyribonucléique

AG : acides gras

ARNr : acide ribonucléique

Aw : activité d'eau

BP : Baird-parker

C : Celsius

CCSI : comptage cellulaire somatique individuel

EN : norme européenne

ENSV : école nationale supérieure vétérinaire

g : gramme

G+C : contenu en guanine et cytosine de l'ADN

GN : gélose nutritive

h : heure

HIDAOA : hygiène et industrie des denrées alimentaire d'origine animale

ISO : organisation internationale de normalisation

Mds : milliards

MG : matière grasse

ml : millilitre

NF : norme française

S. aureus : Staphylococcus aureus

SCN : Staphylocoques à coagulase négative

SCP : Staphylocoques à coagulase positive

TSE : Tryptone-sel-eau

UFC : unité formant colonies

μ : micron

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b>	La lactogénèse simplifiée des composants principaux	Page 4
<b>Figure 2 :</b>	mamelle déséquilibrée	Page 12
<b>Figure 3 :</b>	trayon conique	Page 12
<b>Figure 4 :</b>	Lésion du trayon	Page 12
<b>Figure 5 :</b>	fistule du trayon	Page 12
<b>Figure 6 :</b>	relation entre bâtiments et mammites	Page 14
<b>Figure7 :</b>	mammite gangréneuse	Page 16
<b>Figure8 :</b>	mammite gangréneuse	Page 16
<b>Figure9 :</b>	pourcentage de contamination du lait de collecte	Page 31
<b>Figure10 :</b>	résultats obtenus des régions centre-est, centre et centre-ouest	Page 33
<b>Figure11 :</b>	comparaison entre les trois régions	Page 34
<b>Figure12 :</b>	recommandation pour limiter la contamination du lait cru	Page 37

## Liste des tableaux

<b>Tableau1 :</b>	caractéristiques physiques du lait	Page 5
<b>Tableau2 :</b>	Les principales caractéristiques du lait de vache	Page 6
<b>Tableau3 :</b>	Composition moyenne du lait de différentes espèces animales	Page 7
<b>Tableau4 :</b>	classification des vitamines selon leurs solubilités	Page 8
<b>Tableau5 :</b>	maladies identifiées comme facteurs de risques pour les mammites aiguës ou chroniques en Finlande	Page 13
<b>Tableau6 :</b>	Les germes responsables des mammites : Enquête québécoise	Page 14
<b>Tableau7 :</b>	résultats des analyses bactériologiques globales des échantillons	Page 31
<b>Tableau8 :</b>	Résultats du Calcul du nombre N de Staphylocoques à coagulase positive identifiés	Page 32

**Tableau9 :** distribution géographique des S.aureus (%) centre-est centre et centre-ouest Page 33

**Tableau10 :** Dénombrement et identification des souches caractéristiques et non caractéristiques

**Tableau11 :** Résultats du test de la coagulase et de la catalase

**Tableau12 :** critères microbiologiques du lait

#### **Liste des photos :**

**Photo personnelle1 :** Micropipette de 1mL Page 24

**Photo personnelle2 :** Micropipette de 0,1 MI Page 24

**Photo personnelle3 :** Embouts de précision de 1MI Page 24

**Photo personnelle4 :** Embouts de précision de 0,1 MI Page 24

**Photo personnelle5 :** Tube de dilution stérile Page 25

**Photo personnelle6 :** Vortex Page 25

**Photo personnelle7 :** Pipette pasteur Page 25

**Photo personnelle8 :** Incubateur Page 25

**Photo personnelle9 :** Conteur de colonies Page 25

**Photo personnelle10 :** Echantillons collectés Page 26

**Photo personnelle11 :** Echantillons dilués Page 27

**Photo personnelle12 :** Etalement des dilutions Page 27

**Photo personnelle13 :** Lecture et dénombrement des colonies obtenues Page 28

**Photo personnelle14 :** Purification des souches sélectionnées Page 28

**Photo personnelle15 :** Résultat du test de catalase Page 29

**Photo personnelle16 :** Résultat du test de coagulase Page 29

<b>Introduction générale</b>	<b>1</b>
------------------------------	----------

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **Chapitre I : généralité sur le lait**

I.	Définition	3
II.	Elaboration	4
III.	Caractéristiques du lait	5
IV.	Propriétés et structures générale des constituants du lait	6
IV.1.	Eau	7
IV.2.	Matière grasse	7
IV.3.	Protéines	7
IV.4.	Lactose	8
IV.5.	Minéraux	8
IV.6.	Vitamines	8
IV.7.	Enzymes	8
V.	Microbiologie du lait	9
V.1.	Classification des principaux microorganismes du lait selon leur importance	9
V.1.1.	Flore indigène ou originelle	9
V.1.2.	Flore contaminant	9
V.2.	Principales activités microbiennes du lait	9
V.3.	Modalités de contamination du lait	10
VI.	La traite	10
VII.	Infection intra-mammaire	11
VII.1.	Généralités	11

VII.2.	Facteurs de risques liés à l'animale	11
VII.3.	Facteurs de risques liés aux conditions d'élevage	13
VII.4.	Facteurs liés au logement	14
VII.5.	Importance des mammites à S.aureus	15
VII.6.	Classification des mammites à S.aureus	15
VII.6.1.	Les mammites cliniques	15
VII.6.2.	Les mammites sub-cliniques	16

## **CHAPITRE II : *Staphylococcus aureus***

I.	Introduction	17
I.1.	Définition	17
I.2.	Staphylococcus aureus un danger alimentaire	17
II.	Taxonomie	18
III.	Etude bactériologique	18
III.1.	Morphologie	18
III.2.	Caractères cultureux	19
III.3.	Caractères biochimiques	19
IV.	Habitat. Rôle pathogène	20
V.	Facteur de risque	22
VI.	Substances élaborées par staphylocoques pathogènes « <i>S. aureus</i> »	22
VI.1.	Des toxines	22
VI.2.	Des enzymes	23

## **Partie expérimentale**

	Objectif	24
I.	Matériels et méthodes	24
I.1.	L'échantillonnage	24
I.2.	Matériel de prélèvement	24
I.3.	Matériels de laboratoire	24
II	Méthode	26
II.1.	Collecte des échantillons	26
II.2.	Méthodes de recherche et de dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	26
III.	Résultat et discussion	31
IV.	Conclusion	35
V	Recommandation	36
	Références bibliographiques	
	Annexes	

# Introduction générale

L'Algérie est un pays de tradition laitière. Le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, ils apportent la plus grosse part des protéines d'origine animale. En regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présente une forte concentration en nutriments. Mais le lait n'a pas seulement un intérêt alimentaire, il occupe une place centrale dans l'imaginaire des algériens. Ce n'est d'ailleurs pas par hasard qu'il est offert comme signe de bienvenue, traduisant, ainsi par l'acte notre tradition d'hospitalité. La filière lait connaît une croissance annuelle de 8% avec un taux de collecte inférieur à 15%, cette filière reste, cependant fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (**Anonyme1**).

Seule la production laitière de quelques espèces mammifères présente un intérêt immédiat en nutrition humaine, même si le lait d'autres espèces animales possède des qualités nutritives supérieures. La vache assure de loin la plus grande part de la production mondiale (90%) même en pays tropicaux (70%). Ce lait est de loin le plus connu et les données qui le caractérisent sont sans doute les plus exactes (**FAO, 1998 ; PEACOCK, 2005**).

En effet, il n'est pas certain que la totalité des unités de production répondent aux normes reconnues, recommandées et dictées par le codex alimentarius.

Le lait et les produits laitiers constituent une importante source d'infection pour l'homme. Le lait cru ou non pasteurisé peut contenir des bactéries comme *Staphylococcus aureus* qui peuvent causer des maladies d'origine alimentaires et entraîner de graves problèmes de santé tels que les toxi-infections alimentaires.

*Staphylococcus aureus* représente l'un des germes les plus recherchés dans le lait.

Le présent travail a pour objectifs :

- ✓ Contribuer à évaluer la présence d'un germe pathogène « *Staphylococcus aureus* » dans le lait.
- ✓ Apporter des améliorations concernant le mode de la traite, le transport, et la collecte du lait.
- ✓ Apporter des conseils aux consommateurs afin d'éviter au maximum les risques de toxi-infections alimentaires par le lait.

Notre étude est composée d'une partie bibliographique et d'une partie expérimentale où seront développés :

- L'échantillonnage.
- Matériels et Méthodes
- Résultats
- Discussion
- Conclusion et recommandations.

## Partie bibliographique

### Chapitre 1 : Généralité sur le lait

#### I. Définition :

- ❖ Le lait est le produit des glandes mammaires des mammifères femelles. C'est un liquide biologique comestible généralement de couleur blanchâtre, il a aussi été défini par le 1<sup>er</sup> congrès international pour la répression des fraudes alimentaires tenu à Genève en 1908 comme étant : « le produit 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 ».
- ❖ . On entend par :
  - Traite totale : la composition du lait varie au cours de la traite. Le lait standard est la moyenne de la totalité de la traite.
  - Ininterrompue : éviter les laits anormaux, tel le lait de rétention.
  - Vache bien portante, bien nourrie et non surmenée : l'état général de la vache a une influence sur l'état et la composition du lait. On peut trouver des germes pathogènes dans le lait ;(lors de la tuberculose, brucellose ...)
  - Récolté proprement : Il s'agit de l'hygiène de la collecte, hygiène de l'animal ...
  - Absence de colostrum : Le colostrum n'est pas un lait.
- ❖ Selon la réglementation algérienne, la dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (**Anonyme 2**).
- ❖ La réglementation française signale que l'étiquetage d'un « lait » tout court est réservé au lait de vache :

La dénomination « lait » sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière autre que la vache doit être désigné par la dénomination « lait » suivi de l'indication de l'espèce animale dont il provient : « lait de brebis », « lait d'ânesse », etc. (...)(**Anonyme 3**).

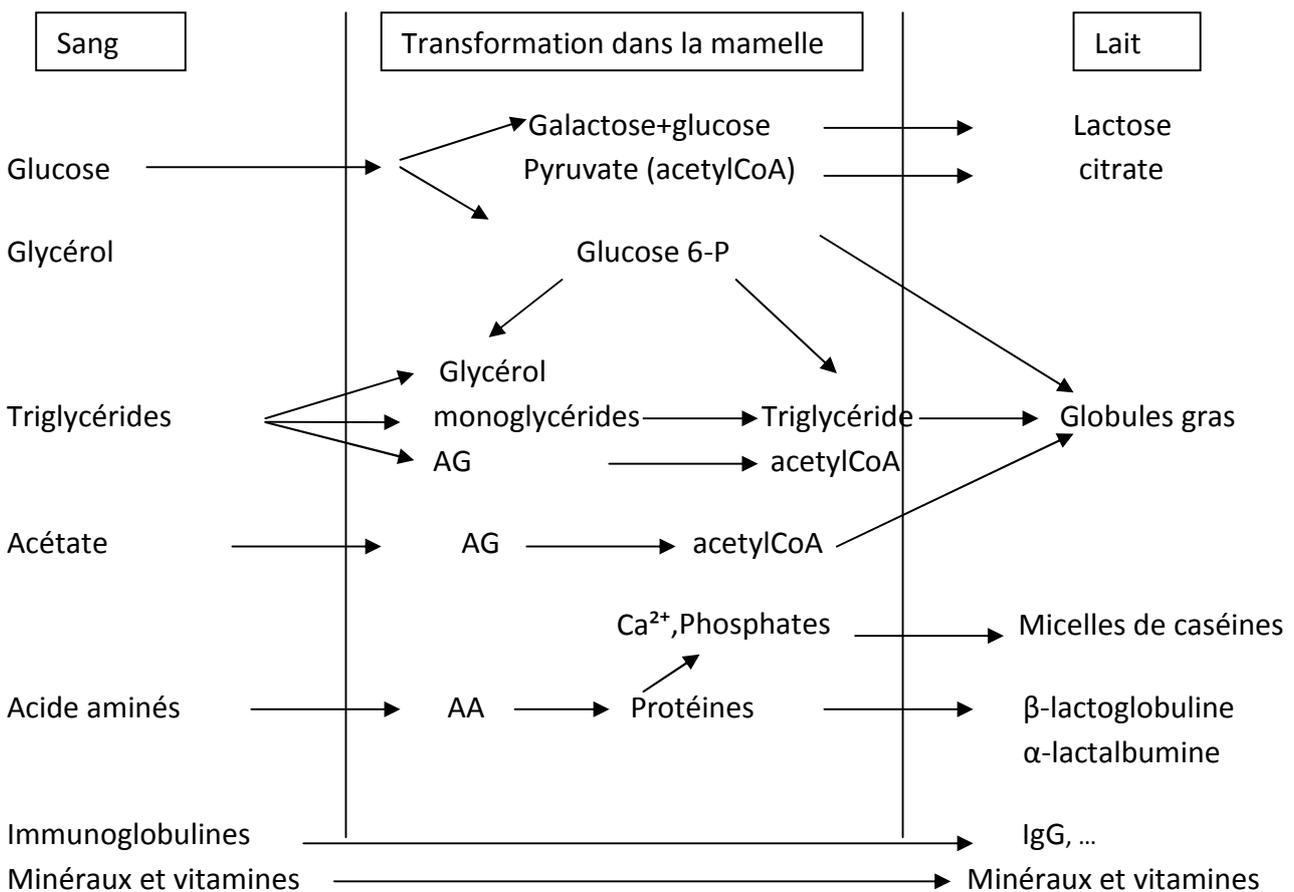
## II. Elaboration du lait :

La mamelle ou pis est constitué par un nombre de glandes ou quartiers variables selon les espèces. Il y en a quatre chez la vache, deux seulement chez la brebis et la chèvre. Les quartiers paraissent indépendants les uns des autres ce qui explique pourquoi on obtient parfois, des laits de compositions différentes selon les quartiers d'une même mamelle (**Barone, 1978**).

Schématiquement, chaque glande est constituée par un tissu comprenant essentiellement de nombreuses alvéoles ou acini groupés en grappes et tapissés intérieurement par les cellules qui secrètent le lait. Ces acini sont reliés à de fins canaux excréteurs par lesquels le lait s'écoule vers les canaux collecteurs, situés au-dessus d'une tétine ou trayon, cette citerne, ou sinus galactophore, se prolonge par la citerne du trayon qui s'ouvre vers l'extérieur par un canal dont l'orifice peut être clos par un sphincter puissant (**Chevremont, 1979**). Le tissu glandulaire est noyé dans un tissu conjonctif comprenant également de nombreux vaisseaux sanguins et lymphatiques ainsi que des nerfs (**Barone, 1978**).

- **La lactogénèse du lait :**

La figure ci-dessous montre une simplification de la lactogénèse



**Figure1 : La lactogénèse simplifiée des composants principaux (Debry, 2001).**

### III. Caractéristiques du lait cru :

C'est un liquide blanc au goût légèrement douceâtre de haute valeur nutritive aussi bien pour l'homme que les mammifères (INRA, 1999).

Le lait est un liquide opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre, due à une suspension colloïdale formée par la matière grasse et les protides (Sablonniere, 2001). Il se compose de quatre phases physiques :

- Une phase gazeuse : comprenant essentiellement du CO<sub>2</sub> au moment de la traite (Fredot, 2006).
- Une phase grasse : composée des globules gras (2 à 5 micromètre) qui renferment les lipides vrais et les aliments liposolubles. Les globules gras sont entourés de phospholipides et d'une membrane protidique (Fredot, 2006).
- Une phase colloïdale : comprenant les micelles de caséine associées à des sels minéraux (calcium, phosphate de calcium, magnésium, ... etc). (Fredot, 2006).
- Une phase aqueuse : composée des protéines solubles (protéines du lactosérum), du lactose et des minéraux (électrolytes) (Fredot, 2006).

Il existe une relation inverse entre la teneur en lactose et celle des minéraux, de manière à maintenir le lait dans un rapport isotonique avec le plasma sanguin (Adrian et al, 1995).

Le tableau ci-dessous montre les caractéristiques physiques du lait

**Tableau1 : caractéristiques physiques du lait de vache (Larpent, 1990).**

Paramètres	Valeurs
PH (20°)	6,5 à 6,7
Acidité titrable (D°)	16 à 18° D
Densité (20°c)	1.023 à 1.040
Point de congélation	-0.518°C à -0.534°C
Point d'ébullition	100.17°C
1 litre de lait	1032g

Le tableau ci-dessous exprime les principales caractéristiques du lait de vache.

**Tableau2 : Les principales caractéristiques du lait de vache (Larpen, 1997).**

	<b>Caractères normaux</b>	<b>Caractères anormaux</b>
<b>Couleur</b>	Blanc mat Blanc jaunâtre : Lait riche en crème	Gris jaunâtre : Lait de mammite Bleu, jaune : Lait coloré par des substances chimiques ou des pigments bactériens
<b>Odeur</b>	Odeur faible	Odeur de putréfaction, de moisissure, de rance ...
<b>Saveur</b>	Agréable	Salée : Lait de mammite Goût amer : Lait très pollué par des bactéries
<b>Consistance</b>	Homogène	Grumeleuse : mammite Visqueuse ou coagulée : pollution bactérienne

#### **IV. Propriétés et structures générales des constituants du lait :**

Le lait est un complexe nutritionnel qui contient plus de cent substances différentes qui sont en solution, en émulsion ou en suspension dans l'eau qui représente environ 90% de sa composition (Wattiaux, 2001).

Les principaux constituants du lait sont :

- De l'eau, très majoritaire.
- Des glucides, principalement représentés par le lactose.
- Des lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras.
- Des protéines, caséines rassemblés en micelles, albumines et globulines solubles.
- Des sels et des minéraux à l'état ionique et moléculaires.
- Des éléments à l'état de traces mais au rôle biologique important : enzymes, vitamines, oligoéléments ... (Kuzdzal et al. 1980).

Le tableau suivant montre la composition moyenne du lait de différentes espèces animales

**Tableau3 : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales (Vignola, 2002).**

<b>Animaux</b>	<b>Eau (%)</b>	<b>Matière grasse(%)</b>	<b>Protéines (%)</b>	<b>Glucides (%)</b>	<b>Minéraux (%)</b>
<b>Vache</b>	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8
<b>Chèvre</b>	87.0	3.8	2.9	4.4	0.9
<b>Brebis</b>	81.5	7.4	5.3	4.8	1.0
<b>Chamelle</b>	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7
<b>Jument</b>	88.9	1.9	2.5	6.2	0.5
<b>Femme</b>	87.1	4.5	3.6	7.1	0.2

#### **IV.1. Eau :**

L'eau est le constituant le plus important du lait en proportion, elle représente plus de 80% du lait (**Goursaud et Boudier, 1985**).

#### **IV.2. Matière grasse (MG) : Essentiellement constituée de :**

- ❖ Triglycérides (98%) : ce sont des esters de glycérol
- ❖ Phospholipides (1%) : on distingue trois types de phospholipides : les lécithines, les céphalines et les sphingomyelines. Leur caractéristique la plus importante est leur propriété émulsifiante. (**Kuzdzal, 1987**).
- ❖ Fractions insaponifiables (1%) : L'insaponifiable regroupe l'ensemble des constituants de la MG qui ne réagissent pas avec la soude et la potasse pour donner des savons qui sont insolubles dans l'eau en milieu alcalin. On retrouve essentiellement dans ces fractions des stérols (cholestérol), les caroténoïdes, les xanthophylles et les vitamines A, D, E et K (**Peerboom, 1969**).

#### **IV.3. Les protéines :**

Ce Sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes, elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers (**Lankveld, 1995**). On les classes en deux catégories d'après leur solubilité dans l'eau et leur stabilité : les Caséines et les protéines du sérum.

- Caséines : elles forment 80% de toutes les protéines présentes dans le lait, ce sont de grosses molécules insolubles dans l'eau, contenant du phosphore et du calcium. Elles donnent au lait l'aspect blanc et lui apportent de nombreux acides aminés indispensables.
- Protéines du sérum : elles représentent environ 20% des protéines totales, se retrouvent sous forme de solution colloïdale. Les deux principales sont la lactoglobuline et l' lactalbumine ; les

autres sont des immunoglobulines. En plus, différentes enzymes sont présentes dans le sérum (Eigel et al. 1984).

#### IV.4. Lactose :

Il est le glucide le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40% des solides totaux. Sa présence dans le tube digestif favorise l'implantation d'une flore lactique qui s'oppose à l'installation d'une flore de putréfaction. Il favorise également l'assimilation du calcium et des azotées (Luquet, 1986).

#### IV.5. Les minéraux :

Ils ont un rôle structural et fonctionnel ; et sont souvent impliqués dans les mécanismes physiologiques (régulation nerveuse ou enzymatique, contraction musculaire...) (Brulé, 1987) et (Guegen, 1979).

Le lait est la principale source alimentaire du calcium et du phosphore, pour lequel ils couvrent plus de la moitié de nos besoins journaliers. Ce sont les éléments plastiques intéressant dans l'ossification et leur apport est crucial pour les sujets jeunes et âgés.

#### IV.6. Les vitamines :

Le tableau ci-dessous résume les différentes vitamines présentes dans le lait

**Tableau4 : classification des vitamines selon leurs solubilités.**

Nature de la vitamine	Vitamines
Hydrosolubles (se retrouvent en grande concentration dans le sérum)	Vitamines du groupe B Vit C Vit H Acide folique Niacine et niacinamide Acide pantothénique
Liposolubles (associer à la matière grasse)	Vit A Vit D Vit D Vit K

#### IV.7. Les enzymes :

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (oxydase) et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température (Kitchen et al, 1970).

## V. Microbiologie du lait :

### V.1. Classification des principaux microorganismes du lait selon leur importance :

On répartit les microorganismes du lait selon leur importance, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore contaminatrice. La flore contaminatrice est subdivisée en deux sous-classes : La flore d'altération et la flore pathogène (**Plommet, 1987**).

#### V.1.1. Flore indigène ou originelle :

Lorsque le lait provient d'un animal sain et qu'il est prélevé dans des conditions aseptiques, il devrait contenir moins de 5000UFC/ml (unité formant colonies) de microorganismes. La flore naturelle du lait cru est un facteur essentiel particulièrement à ses propriétés organoleptiques (**fontou et all, 2011**). La flore indigène des produits laitiers se définit comme l'ensemble de microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Ces microorganismes, plus ou moins abondants sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs.

#### V.1.2. Flore contaminante :

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

✓ Flore d'altération : Causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparences ou de texture et réduira la vie et altérera la formule du produit laitier.

✓ Flore pathogène : Leur présence dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme (**Andelot, 1983**). Les germes pathogènes auxquels on accorde une importance particulière, en raison de la gravité ou de la fréquence des risques qu'ils présentent sont cités ci-dessous :

➤ Les principales bactéries infectieuses sont : *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogènes*, *Clostridium perfringens* et *Campylobacter sp*.

➤ Les principales bactéries toxigènes sont : *Staphylococcus sp*, *Clostridium botulinum*(**Vignola, 2002**).

### V.2. Principales activités microbiennes dans le lait :

Les activités métaboliques des microorganismes présents dans le lait peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'apparence, l'odeur, la consistance ou la texture et le goût des produits laitiers.

Il y a six principales catégories d'activités métaboliques pouvant survenir dans le lait : l'acidification, la production de gaz tels le dioxyde de carbone, l'alcoolisation, le limonage, la protéolyse et la lipolyse (**Guiraud et Galzy, 1980**).

### V.3. Modes de contamination du lait :

✓ Contamination par l'animal :

Lorsque l'animal est sous médication, son lait renferme des résidus d'antibiotiques qui sont à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers (**Ben Mahdi et Ouslimani, 2009**).

Le canal du trayon est toujours contaminé, même chez un animal sain ; de ce fait, les premiers jets de lait obtenus lors de la traite doivent être éliminés. L'extérieur de la mamelle est toujours chargé en germes ; l'importance de la charge, qui est liée aux conditions de la propreté de la stabulation, représente une source de contamination majeure du lait. (**Boudier et al, 1987**).

✓ Contamination au cours de la traite :

C'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de groupes microbiens. Dans le lactoduc et l'air de traite, la diversité microbienne est moindre puisque seuls quelques groupes microbiens sont systématiquement présents. (**Lemire, 2007**)

✓ Contamination au cours du transport :

Une altération au cours du transport par une mauvaise réfrigération, peut avoir un impact grave sur la qualité du lait et engendrer des pertes financières importantes (**Jacob et al, 2011**).

✓ Contamination du lait cru au stade de la production :

Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelque jours) (**Guinard et al, 1980**).

### V. La traite :

Il est nécessaire de mettre en place une routine de traite pour réduire le risque de mammites, en respectant les 10 règles d'or suivantes (**Hanzen, 2009**) :

- ❖ Propreté des mains du trayeur
- ❖ Etablir et maintenir un rythme de traite dans un environnement non stressant
- ❖ Etablir un ordre de traite
- ❖ Préparation du pis et des trayons :
  - Elimination des premiers jets :
    - Diagnostic des mammites
    - Elimination des germes
    - Effet ocytocique
  - Lavage à sec des trayons : élimination des germes (nettoyage des trayons)
  - Lavage et séchage des trayons : élimination des germes provenant de l'environnement.

- ❖ Attache des gobelets trayeurs :< 30 sec après la préparation
- ❖ Temps de traite : en moyenne 5minutes
- ❖ Couper le vide avant d'enlever la griffe
- ❖ Eviter la surtraite (overmilking) : traite prolongée volontaire ou involontaire
- ❖ Eviter l'égouttage : le lait d'égouttage (stripping milk) est le lait des acini récupéré par une pression sur la griffe (machine stripping) ou massage manuel (manual stripping) ou non simultané du quartier (égouttage).
- ❖ Hygiène du trayon après la traite.

## **VI. Infection intramammaire :**

### **❖ Mammites :**

#### **VI.1. généralités :**

- ❖ Les mammites sont définies comme des conditions inflammatoires de la glande mammaire en réponse à une blessure, qui servent à détruire et neutraliser les agents infectieux et à promouvoir la guérison et le retour à un fonctionnement normal de la glande mammaire (**Anonyme4**).
- ❖ La mammite est une inflammation de la mamelle dont l'origine la plus fréquente est la pénétration d'une bactérie dans un quartier par le canal du trayon. On peut différencier la mammite clinique (qui entraîne une modification systématique de l'aspect du lait, avec présence ou non de signes locaux sur la mamelle et de signes généraux ), de la mammite subclinique que l'on met en évidence a posteriori grâce à une bactériologie du lait et à l'identification d'un recrutement cellulaire (comptage cellulaire somatique individuels CCSI) ou à ceux du quartier (**Laisane, 1969**).

#### **VI.2. facteurs de risques liés à l'animal :**

- Stade de la lactation :
 

Pendant la lactation, l'incidence des mammites est maximale pendant les deux premiers mois et la contamination se fait à partir de l'environnement (**Erskine et al, 1988**). Deux périodes sont critiques : tarissement avec le début de la phase d'involution mammaire et la période péri-partum. Le risque d'infection associé à la première période est accru environ 3 fois (**Oliver et al, 1988**).
- Le rang de lactation :
 

La fréquence d'infection augmente avec le numéro de lactation. Chez les vaches âgées, le sphincter du trayon présente une perte d'élasticité ce qui contribue à la réduction de la distance entre les trayons et le sol et à augmenter la perméabilité du sphincter ce qui favorise la

contamination (**Poutrel, 1983**). La fréquence des cas cliniques augmente avec la parité (**Grohn et al, 1995**).

- La morphologie de la mamelle :

Le principal facteur de risque est la distance entre l'extrémité du trayon et le sol (**Pluvinage et al, 1991 ; Slettbakket al, 1995**). La forme de l'orifice du trayon, la fermeté du sphincter, la longueur et le diamètre du trayon (en relation avec la vitesse de traite), et l'équilibre antéropostérieur des quartiers jouent également un rôle (**Slettbakket al, 1995**).



**Figure2 : mamelle déséquilibrée (Bouaz**



**Figure3 : trayon conique (bouaziz)**

- Lésions du trayon :

Constituent un réservoir de bactéries susceptibles de pénétrer dans la mamelle au cours de la traite ou après celle-ci expliquant ainsi l'augmentation des mammites cliniques et subcliniques.

Certaines études rapportent que 10 % des vaches d'un troupeau présentaient des lésions à l'extrémité des trayons (**Kirk et al, 2003**).



**Figure4 : lésion de trayon(Bouaziz)**



**Figure5 : fistule du trayon(Bouaziz)**

- Maladie intercurrente :

Le tableau ci-dessous rapporte les pourcentages des maladies identifiées comme facteurs de risques pour les mammites aiguës ou chroniques en Finlande

**Tableau5 : maladies identifiées comme facteurs de risques pour les mammites aiguës ou chroniques en Finlande (Grôhn et al, 1990)**

Maladies	Mammite aigue	Mammite chronique
	Risque relatif (%)	
Fièvre vitulaire	1,9	
Cétose	1,9	1,9
Parésie (autre que fièvre vitulaire)	3	2,2
Rétention placentaire	2,1	1,6
Réticulo-péritonite traumatique	2	2,8
OEdème de la mamelle	3,5	4,3
Lésions du trayon	6,9	4
Pathologie podale	2	

### VI.3. Facteurs de risques liés aux conditions d'élevage :

- Les conditions de la traite :

- L'influence de la traite sur l'incidence des mammites a été étudiée par divers auteurs. D'après Roussel et Ribaud (2000), dans leur étude sur les mammites, l'absence de nettoyage et de désinfection des griffes après la traite d'une vache à mammite clinique est associée à une augmentation du risque de mammites des vaches primipares autour du vêlage.

- La période de traite est la plus propice à l'installation des germes.

Trois éléments interviennent :

- Le fonctionnement de la machine à traire

- La technique de traite

- L'hygiène de la traite

- Des défauts liés au réglage de la machine à traire, à son entretien, à la technique ou à l'hygiène de traite vont permettre le développement des mammites dans le cheptel.

Ces défauts agissent en favorisant :

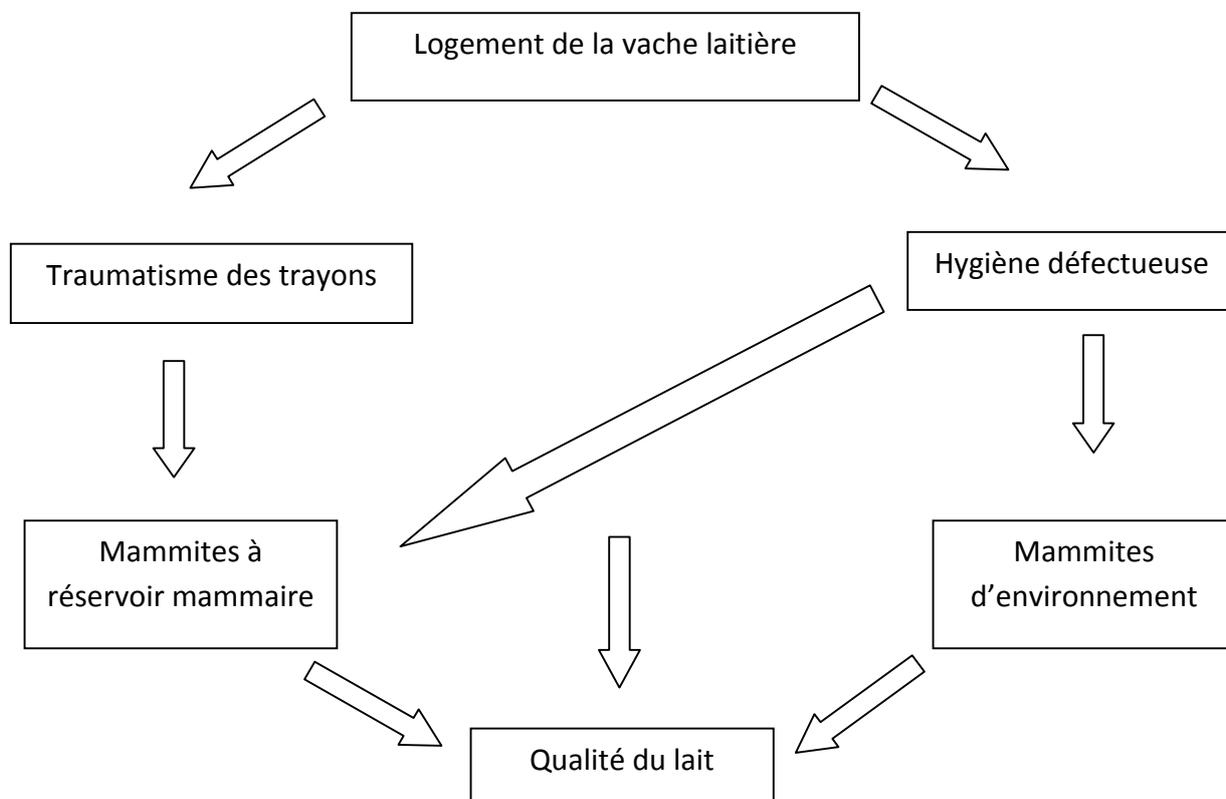
- L'apparition de lésions sur les trayons

- La diminution des défenses de la mamelle

- La formation de nouveaux réservoirs de germe.
- La transmission des germes aux quartiers.

#### VI.4. Facteurs liés au logement :

La figure suivante illustre la relation entre les bâtiments d'élevage et les mammites



**Figure6 : relation entre bâtiments et mammites (Brouillet et Raguét, 1990)**

- **Tableau 6 : Les germes responsables des mammites : Enquête québécoise (Hanzen, 2004).**

germes responsables des mammites	pourcentages
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Germes contagieux</b></li> </ul>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	46,5
<i>Streptococcus agalactiae</i>	18,8
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Germes d'environnement</b></li> </ul>	
<i>Streptococcus uberis</i>	4,9
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	3,4
<i>Streptococcus bovis</i>	0,9
<i>E. coli</i>	5
<i>Klebsiella, Pseudomonas, Enterobacter</i>	0,6

<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Pathogènes mineurs</b></li> </ul>	
<i>Staphylococcus sp. (Hyicus et coagulase -)</i>	16,5
<i>Corynebacterium</i>	5,6
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Microbes occasionnels</b></li> </ul>	
Levure	1,1
<i>Actinomyces pyogènes, Nocardia, Listeria</i>	0,3

### VI.5. Importance des mammites à *S.aureus* :

*Staphylococcus aureus* est considéré comme étant l'agent pathogène mammaire causant les plus grandes pertes économiques au niveau de l'industrie des bovins laitiers. Les infections causées par *S.aureus* sont plus dommageables pour le tissu sécrétoire suite à la production de toxine par cet organisme (akers, 2002). Les mammites causées par *S.aureus* peuvent devenir chroniques étant donné la capacité de la bactérie à se localiser à l'intérieur des cellules empêchant ainsi le système immunitaire de la reconnaître et de l'éliminer (akers, 2002 ; barkema et al, 2006).

La mammite à *S.aureus* est également un problème potentiel de santé publique, étant donné que plus de la moitié des souches impliquées dans les infections intra mammaires possèdent des gènes d'entérotoxines. L'excrétion dans le lait à partir des glandes infectées est généralement modérée (moins de 10 000 UFC/mL), mais la contamination du lait de Tank peut conduire à une intoxication alimentaire à *Staphylococcus* via des produits laitiers fermentés crus (petons et Le Loir, 2014).

### VI.6. Classification des mammites à *S.aureus* :

#### VI.6.1. La mammite clinique :

Une mammite clinique est définie comme l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle associée à des signes cliniques. Il est possible de différencier les mammites aiguës, voire suraiguës, caractérisées par des symptômes généraux très marqués (inflammation violente du quartier, hyperthermie, choc toxinique) des mammites subaiguës où seule la modification macroscopique du lait est observée (Serieys, 1995).

- La mammite suraigüe gangréneuse : Dans quelques rares cas, on peut observer une mammite suraigüe, dont le déclenchement est très brutal. Les vaches présentent initialement une température rectale élevée (41- 42 °C). Le quartier atteint est fortement enflé et douloureux, le lait est très modifié (séreux voire sanguinolent) Le quartier manifeste peu après des signes de gangrène ischémique, avec des plaques bleuâtres visibles à la surface cutanée. La mort de l'animal est possible, sinon un sillon nécrotique se développe, ce qui aboutit à la perte physique de la glande

atteinte. Dans les formes suraigues gangréneuses, un œdème sous cutané avec une forte congestion vasculaire sont présents. Le tissu mammaire, ferme et ischémique, ne sécrète plus le lait, le liquide qui envahit les canaux et les citernes est séreux, sanguinolent avec des flammèches de fibrines (**Rainard et Gilbert, 2010 ; Prescott et al, 2011**).



**Figure7 : mammite gangréneuse (Hanzen, 2004)**

A noter : la décoloration bleuâtre



**Figure8 : mammite gangréneuse (Hanzen 2004)**

A noter : l'écoulement rouge brun

- La mammite clinique aiguë : Le quartier infecté est chaud, enflé, sensible. Des grumeaux sont visibles dans le lait, dont la concentration cellulaire est fortement augmentée. Il peut y avoir des symptômes généraux, avec hyperthermie, ralentissement ruminal et perte d'appétit (**Rainard et al, 2010 ; Prescott et al 2011**).
- La mammite chronique : Le passage à la chronicité est l'issue la plus fréquente. Les infections à *S.aureus* de la mamelle sont notoirement difficiles à traiter, ce qui conduit à la formation d'une infection chronique avec une fibrose extensive et une induration de la mamelle (**Prescott et al, 2011**). Environ 80% des nouvelles infections persistent pendant toute la lactation, sans traitement l'infection n'est pas éliminée pendant le tarissement. Elle est retrouvée lors de la lactation suivante et pourrait persister des années en l'absence de traitement ou de réforme (**Rainard et Gilbert, 2010**).

#### **VI.6.2. La mammite subclinique :**

Dans la grande majorité des cas, la phase clinique de courte durée est suivie d'un passage à un état subclinique sans symptômes généraux ; celle-ci est associée à des perturbations locales peu ou pas détectables par l'éleveur. Seule l'élévation de la concentration cellulaire du lait persiste, avec des fluctuations généralement entre 200 000 et 2 millions de cellules/mL(**Rainard et Gilbert, 2010**). Il convient de signaler que, le nombre de cellules présentes dans le lait est étroitement associé à l'inflammation et la santé de la glande mammaire. La mammite subclinique est 2 à 3 fois plus fréquente que la mammite clinique selon le type de l'agent pathogène présent dans le troupeau (**Levesque, 2006**).

## CHAPITRE II : *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

### I. Introduction :

#### I.1. Définition :

*S. aureus* appartient à la famille des *Micrococcaceae* et au genre *Staphylococcus* qui regroupe 41 espèces reconnues jusqu'à présent (Gillaspy et Iandolo, 2009). C'est en l'an 1880 que la première description d'une infection suppurative par un staphylocoque a été observée en Écosse et a été nommée par le chirurgien Alexander Ogston (Ogston, 1984). L'adjectif *aureus* (ou "or" en latin) lui a été attribué en 1884 par Anton J. Rosenbach suite à la couleur formée par les colonies sur milieu nutritive (sang) (Rosenbach, 1884).

*S. aureus* est une coque à Gram positif d'environ 0,7 à 1,2 micromètre de diamètre qui se trouve seul, en paires ou en grappe dans divers milieux liquides et solides. Cette bactérie aérobie ou anaérobie facultative a une température optimale de croissance de 37 °C lui conférant le caractère de mésophile.

*S. aureus* est considérée avant tout comme une bactérie commensale. En effet, elle fait partie de la microflore normale de la peau, du tractus intestinal et du nasopharynx. Certaines souches infectent les mammifères incluant l'humain. C'est le staphylocoque à coagulase positif le plus isolé des infections humaines, il est capable de produire l'enzyme menant à la coagulation du plasma sanguin. Lorsque cette bactérie se transmet d'un individu malade à l'autre, change d'habitat normal ou est exposée à une situation de stress, elle s'attache, colonise et déchaîne ses facteurs de virulence multiples. De ce fait, *S. aureus* présente un danger de santé publique, que ce soit au niveau médical ou alimentaire (Lynn, 2014).

#### I.2. *Staphylococcus aureus* un danger alimentaire :

*S. aureus* est un pathogène alimentaire contaminant, entre autres, le lait et les dérivés laitiers. En effet, le lait est un milieu riche et propice pour la croissance d'organismes de par le fait qu'il contient une teneur en eau élevée, une abondance de nutriments et un pH près de la neutralité (entre 6,4 et 6,8) (Touch et Deeth, 2009).

La majorité des intoxications liées à la consommation de lait cru sont causées par les bactéries pathogènes *Listeria monocytogènes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp, *Yersinia enterocolitica* et *S. aureus*. Leur prévalence dans le lait cru dépend de la région géographique, de la saison, du nombre d'animaux dans la ferme et de l'hygiène du lieu et du personnel (Touch et Deeth, 2009). Plus particulièrement, certaines souches de *S. aureus*, à une concentration spécifique dans l'aliment, peuvent sécréter des entérotoxines dans un milieu à Aw élevée, un pH entre 4,8 et 9,0 et une température optimale entre 34 et 40 °C. Une fois sécrétées dans l'aliment, une concentration en entérotoxines de l'ordre du nanogramme peut déclencher les

symptômes d'une intoxication alimentaire (diarrhées, fièvre, nausées, crampes abdominales, maux de tête) à la personne ingérant l'aliment contaminé (**Hennekinne et al., 2012; Krakauer et Stiles, 2013; Ostynet al., 2010**). Ces symptômes peuvent être bénins comme mentionnés plus haut, mais, dans des cas rares, ils se traduisent par des variations de la pression artérielle et même par la mort de la personne par entérotoxicose et déshydratation (**Balaban et Rasooly, 2000; Do Carmoet al., 2004**).

## II. Taxonomie :

Le *S.aureus* étant un organisme procaryote et une bactérie à Gram positif, il se retrouve donc dans le règne *Bacteria* puis dans le phylum *Firmicutes*. Sa taxonomie complète le positionne dans la classe des *Bacilli* puis dans l'ordre des *Bacilliales*. En 2001, les chercheurs Garrity et Holt ont proposé de radier les *S.aureus* de la famille des *Micrococcaceae* grâce à l'analyse des séquences de la sous unité 16S de l'acide ribonucléique ribosomique (ARNr 16S) ainsi que d'autres analyses génétiques. Sa position taxonomique est maintenant bien définie et il a une famille à son nom : *Staphylococcaceae*. Cette famille comporte les genres *Gémella*, *Jeotgalicoccus*, *Salinicoccus*, *Macroccoccus*, ainsi que le plus important le genre *Staphylococcus*.

En fonction de la capacité de production de la coagulase libre, les espèces sont classées en deux groupes :

- Les Staphylocoques à coagulase positive (SCP) généralement considérés comme pathogènes
- et les Staphylocoques à coagulase négatives (SCN), réputés moins dangereux (**Dworkin et al, 2006**).

Les membres du genre *Staphylococcus* diffèrent cependant de ceux du genre *Micrococcus* entre autres par leur métabolisme anaérobie facultatif, par un contenu en G+C ( contenu en guanine et cytosine de l'ADN), compris entre 30 et 39% (entre 63 à 73% pour *Micrococcus*), par la paroi contenant un peptidoglycane et des acides teicoïques et par la présence de peptides oligoglycines dans les ponts peptidiques de la paroi (**Pellerin et al, 2010**).

## III. Etude bactériologique :

### III.1. Morphologie :

- Dans les produits pathologiques ou les cultures en milieu liquide, on observe des coques immobiles, isolées, en diplocoques ou, le plus souvent, en amas de plusieurs éléments réalisant la disposition « en grappe de raisin ». de courtes chainettes, ne groupant jamais plus de quatre bactéries, sont plus rares.
- Ces coques ont un diamètre moyen de 0,8 à 1  $\mu$ . Ils ne sont ni sporulés, ni capsulés. Ils apparaissent Gram positif de façon intense et homogène.

- Si l'on observe une culture sur milieu solide, on ne retrouve qu'une nappe homogène de coque Gram positif de forme régulière, parsemée de larges espaces circulaires sans bactérie.

### III.2. Caractères cultureux :

Les staphylocoques se multiplient très bien en 24h sur la plupart des milieux usuels : température optimale 37°C (culture entre 12 et 46 °C) ; pH optimal 7,2 – 7,4.

- Sur gélose nutritive : on obtient des colonies arrondies, bombées, luisantes, opaques, à contours nets, pigmentées après 24 à 36h, pouvant alors présenter :
  - une coloration ocre-jaune ; c'est le cas de la majorité des souches de *S.aureus* ;
  - une teinte blanche, porcelainée : il peut s'agir alors de *S.aureus*, de *S.epidermitis* ou de *S.saprophyticus*
- En bouillon nutritif : on observe en 24h, un trouble uniforme abondant, puis un dépôt et un voile pelliculaire en surface
- Sur milieu Chapman : Les *S.aureus* fermentent le mannitol (virage de l'indicateur de couleur).
- Sur milieu Baird Parker au tellurite : présence de colonies noires avec halo clair.

*S.aureus* est capable de croître sur une large gamme de milieux de culture, sélectifs ou non sélectifs. Sur une gélose au sang, les souches « typiques » de *S.aureus* donnent des colonies lisses, convexes avec des diamètres de 1~ 3 mm, de couleur jaune dorée due aux caroténoïdes, et sont souvent hémolytiques (**Fereny, 2007**), Présence d'hémolyse bêta.

L'aptitude de la bactérie à coaguler le plasma de lapin est le principal test caractérisant l'espèce *S.aureus*, mais de nouvelles espèces de staphylocoques à coagulase positive ont été récemment isolées : *S.schleiferisubsp.coagulans*, *S.delphini*, *S.lutrae*, *S.intermedius* et *S.hyicus*.

Il est à noter que d'une part, la coagulase n'est pas toujours présente chez ces deux dernières espèces et d'autre part, elles sont beaucoup plus rarement présentes dans les aliments que *S.aureus* (**Brisabois et al, 1997 ; Leyral et Vierling, 2007 ; De buyser, 2008**).

### III.3. Caractères biochimiques :

Les caractères biochimiques des staphylocoques permettent non seulement d'identifier le *Staphylococcus*, mais encore de distinguer un staphylocoque potentiellement pathogène (*S.aureus*) d'une souche généralement saprophyte (*S.epidermis* ou *S.saprophyticus*) (**Pilet, 1979**).

### III.3.1. Caractères utiles pour l'identification du genre de *Staphylococcus* :

- Catalase : elle est toujours fortement positive.
- Arginine-dehydrolase (ADH) : cette recherche, réalisée en anaérobiose, sur bouillon de Moeller+Arginine, donne un résultat positif en moins de 96h pour les souches appartenant au genre *Staphylococcus*.

Fermentation de nombreux hydrates de carbone : glucose, saccharose, glycérol, etc. sont fermentés. La xylose n'est jamais attaquée (**Pilet, 1979**).

### III.3.2. Distinction entre staphylocoques saprophytes et potentiellement pathogènes :

- Recherche de la staphylocoagulase libre : Produite en 24h, elle est capable in vitro de coaguler le plasma de lapin oxalaté ou citraté.

La présence de staphylocoagulase libre permet d'identifier « *S.aureus* ».

- Recherche de la désoxyribonucléase : la plupart des staphylocoques appartenant à l'espèce *S.aureus* possèdent une enzyme capable de dépolymériser l'ADN.
- Recherche d'une phosphatase-acide : Les staphylocoques coagulases + peuvent manifester une activité phosphatasique en milieu acide. Ce test est surtout pratiqué en contrôle alimentaire.

Fermentation du mannitol : cette attaque permet d'orienter vers *S.aureus* ; toutefois, certaines souches ont perdu ce caractère alors que quelque souche de *S.epidermis* peuvent se révéler fermentatives (**Pilet et al, 1979**).

**Remarque :** Exceptionnellement, on peut rencontrer des souches de *S.aureus* ayant perdu leur coagulase ; elles possèdent cependant un fort équipement enzymatiques (**Pilet et al, 1979**).

## IV. Habitat. Rôle pathogène :

Les staphylocoques sont des bactéries très répandues dans la nature, aussi bien dans l'air que dans le sol ou dans l'eau.

Ce sont des commensaux extrêmement fréquents de la peau et des cavités naturelles de l'homme et des animaux (avec une prédominance pour les fosses nasales et le périnée) : la plupart des espèces rencontrées sont opportunistes (*S.epidermidis*, *S.saprophyticus*) ; d'autres peuvent être occasionnellement pathogènes (*S.aureus*).

En **pathologie humaine et animale** leur rôle est très important :

➤ **Chez l'Homme**, les infections staphylococciques sont fréquentes et très variées.

Ces bacilles peuvent être responsables :

- De **suppuration** : furoncle (Pasteur découvrit le staphylocoque dans le pus d'un furoncle en 1880), anthrax (résultant du groupement de plusieurs furoncles), abcès superficiels ou profonds

(périphériques ou pulmonaires), phlegmons, pleurésies, péritonites, arthrites, infections osseuses (ostéomyélites), etc. Certaines de ces lésions suppurées ont un aspect nécrotiques ;

- **De septicémies** (thrombo-emboliques ou vasculaires).

➤ **D'atteintes intestinales d'origine alimentaire (toxi-infection d'évolution aigue)**. Seuls les staphylocoques capables d'élaborer une toxine protéique peuvent déclencher une toxi-infection **(Pilet et al, 1983)**.

➤ **Chez les animaux,**

- Le cheval : suppurations diverses, maux de garrot, botriomyose (notamment sur les plaies de castration).
- Les bovins : mammites, métrite, septicémie chez les jeunes.
- Les moutons et les chèvres : mammite gangréneuse, lymphadénie caséuse.
- Le porc : suppurations banales, mammite.
- Le chien : dermites suppurées rebelles (staphylo-démodicose), mammite gangréneuse.
- Les oiseaux : synovites, arthrites, septicémie **(Pilet et al, 1983)**.

➤ **Les problèmes posés aux pathologistes par les staphylocoques sont multiples :**

Certaines souches sont indiscutablement plus pathogènes que d'autres ce qui a conduit, pour leur identification, à la mise au point de nombreux critères bactériologiques de virulence. Ceux-ci doivent être envisagés avec beaucoup de sens critique : pris isolément, ils ne peuvent avoir de valeur absolue ; toutefois, la présence d'une coagulase libre (mise en évidence chez la plupart des *S.aureus*) révèle un pouvoir pathogène potentiel indéniable. Encore faut-il reconnaître que certaines souches, qualifiées de non pathogènes par les bactériologistes, peuvent parfois se montrer d'une grande agressivité pour l'homme.

Les staphylocoques acquièrent très facilement une résistance aux antibiotiques (et en particulier aux -lactamines). Cette résistance peut être due à la présence d'une enzyme détruisant l'antibiotique (telle la pénicillinase) ou, au contraire, à une modification du récepteur bactérien sensible à l'action de l'antibiotique (methicilline-oxacilline) : les microbes appartenant à cette dernière catégorie sont généralement appelés « résistants hétérogènes » **(Pilet et al, 1983)**.

➤ **En bactériologie alimentaire**, l'intérêt des staphylocoques est également élevé, grâce au rôle joué par leur toxine protéique dans le déterminisme des toxi-infections.

- Les toxi-infections alimentaires staphylococciques :

La toxi-infection alimentaire d'origine staphylococcique, appelée également « maladie des banquetts », se caractérise par un temps d'incubation très court. Les symptômes apparaissent en moyenne deux ou trois heures après l'ingestion de l'aliment contaminé **(Chaubeau et al, 1992)**.

La symptomatologie est la suivante : nausées, vertige, céphalées suivis rapidement par des vomissements incoercibles, une diarrhée hydrique accompagnée de douleurs intenses.

Du point de vue pathogénique, même si les modalités d'absorption intestinale restent peu connues, le mode d'action des entérotoxines est bien compris.

Les entérotoxines possèdent deux zones fonctionnelles distinctes (**Balaban et al, 2000**) :

- Une zone est responsable d'une action neurotoxique. Elle entraîne une stimulation des terminaisons du nerf vague présentes au niveau du tube digestif et est responsable de l'effet émétique.
- L'autre zone est responsable d'une action immunotoxique. Les toxines jouent le rôle de superantigènes et sont à l'origine d'une cascade de réponses immunitaires.

## V. Les facteurs de risque :

- Température, durée et niveau de contamination requis : on considère qu'une densité supérieure à  $10^6$  UFC de *S.aureus*/g d'aliment est nécessaire pour atteindre une quantité d'entérotoxines susceptibles d'induire une intoxication. Plus on s'éloigne des températures optimum de croissance et de toxigénèse, plus le temps nécessaire sera long. Il est de l'ordre de quelques heures à 37°C, quelques jours à température ambiante et de quelques semaines à 10°C dans des conditions optimales (**Hennekine et De Buyser, 2010**).
- Souches entérotoxigènes : en Italie 100% de 50 souches isolées de lait de vaches atteintes de mammites étaient porteuses de seg et sei (**Zecconi et al, 2006**).

## VI. Substances élaborées par les staphylocoques pathogènes « *S. aureus* » :

### VI.1. Des toxines :

➤ Les hémolysines : trois variétés principales sont décrites :

- Hémolysine (active sur les hématies de lapin à 37°C). Dermo-nécrotique et létale vis-à-vis du lapin, c'est une exotoxine authentique ; excrétée au fur et à mesure de sa formation, elle est élaborée par les souches pathogènes pour l'homme.
- Hémolysine active sur les hématies du mouton à +4 °C ; moins toxique, elle est élaborée par les souches d'origine animale.
- Hémolysine active sur les hématies de lapin, de mouton, d'homme et de cheval. Elle serait produite par les souches de staphylocoques coagulases négatives.
- Hémolysine : différente de la précédente car sans action sur les hématies du cheval, elle est constituée par deux fractions distinctes inactives séparément.

Ces toxines possèdent tous les caractères des toxines protéiques. Elles sont, en particulier, transformables en anatoxines (**Pilet et al, 1983**).

- Les leucocidines, altérant les leucocytes : ce terme est actuellement réservé à une toxine formée de deux composés cristallisables (F et S), bien que les hémolysines et puissent être également considérées comme des leucocidines (**Pilet et al, 1983**).
- Les entérotoxines : des techniques immunologiques permettent de distinguer cinq variétés (de A à E). Ces exotoxines protéiques sont thermostables et résistent aux enzymes digestives (**Pilet et al, 1983**).

## **VI.2. Des enzymes :**

- Les coagulases : on distingue deux types de coagulase :
  - Libre : spécifique de *S.aureus*, libérée hors des corps bactériens elle agit sur une globuline plasmatique voisine de la prothrombine ; elle coagule le plasma de l'homme et du lapin, aussi bien in vitro qu'in vivo ; elle peut jouer alors un rôle dans la pathogénie des septicémies ;
  - liée aux corps bactériens : commune au genre *Staphylococcus* et *Micrococcus*, elle interviendrait in vivo en protégeant les staphylocoques de l'action phagocytaire (**Pilet et al, 1983**).
- La fibrinolysine : (staphylokinase) intervient dans la physiopathologie des septicémies en dissociant les caillots colonisés par les bactéries, permettant ainsi l'envoi dans la circulation d'embolies septiques. Elle n'est pas élaborée par les souches -hémolytiques (**Pilet et al, 1983**).
- La hyaluronidase : dissocie la substance fondamentale du tissu conjonctif et favorise l'extension de l'infection (**Pilet et al, 1983**).
- La désoxyribonucléase : pourrait entraîner des lésions tissulaires.
- La pénicillinase : est capable d'empêcher l'activité antibiotique de la pénicilline en ouvrant son cycle -lactame (**Pilet et al, 1983**).

## Partie expérimentale :

### Objectif :

Étant donné l'importance des toxi-infections alimentaires provoquées par *S aureus*, nous avons jugé utile et judicieux de faire une recherche de ce germe dans le lait cru provenant de citernes de collecte au niveau de plusieurs laiteries.

### I. Matériels :

#### I.1. L'échantillonnage :

Pour effectuer notre échantillonnage et afin de pouvoir représenter un maximum de régions de collecte nous nous sommes déplacé dans trois laiteries situées dans le centre d'Alger où nous avons prélevé 50 échantillons de lait à partir de citernes de collecte et ce durant la période allant de septembre 2016 à février 2017. Les échantillons ont été transportés au laboratoire de microbiologie alimentaire de l'ENSV en respectant les conditions recommandées (glacière).

#### I.2. Matériel de prélèvement :

- Louche
- Chalumeau
- Alcool chirurgicale
- Flacon stérile

#### I.3. Matériels de laboratoire :



**Photo1 : Micropipette de 1ml**  
(photo personnelle)



**photo2 : Micropipette de 0,1 ml**  
(Photo personnelle)



**Photo3 : Embouts de précision de 1ml**  
(Photo personnelle)



**photo4 : Embouts de 0,1 ml**  
(photo personnelle)



**Photo5 : Tube de dilution stérile**  
**(Photo personnelle)**



**photo6 : Vortex**  
**(photo personnelle)**



**Photo7 : pipette Pasteur**  
**(photo personnelle)**



**Photo8 : Incubateur**  
**(photo personnelle)**



**Photo9 : conteur de colonies**  
**(Photo personnelle)**

- Gélose nutritive
- Eau oxygénée
- lame
- Plasma de lapin
- Gélose BairdParker
- Boites de Pétri

## II. Méthodes :

### II.1. Collecte des échantillons :

Après stérilisation de la louche à l'aide d'alcool et d'un chalumeau, nous avons procédé au prélèvement de 225 ml de lait des citernes, les flacons stériles et identifiés au préalable, sont remplis avec ce dernier. Les échantillons sont ensuite acheminés jusqu'au Laboratoire d'HIDAOA dans une enceinte isotherme (glacière). Les échantillons ont été analysés le jour même.



**Photo10 : Échantillons collectés (Photo personnelle).**

### II.2. Méthodes de recherche et de dénombrement de *Staphylococcus aureus*:

Après avoir acheminé les échantillons au laboratoire d'HIDAOA de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger ces derniers ont été analysés selon la norme **NF EN ISO 6888-1** relative à la recherche des staphylocoques à coagulase positive. Pour cela, nous avons procédé en premier à différentes dilutions décimales de la manière suivante :

- Dilution des échantillons au 1/10<sup>ème</sup> dans du TSE :

Devant un bec benzène, et après stérilisation de l'ouverture du flacon, on prélève 01mL de la solution mère du flacon au moyen d'une micropipette dans un tube à essai rempli préalablement avec 9mL de solution TSE,

On agite la solution obtenue à l'aide d'un vortex, à ce stade nous avons réalisé la première dilution décimale ( $10^{-1}$ ). Ensuite, de la solution ainsi obtenue, on prélève 01mL dans un tube à essai rempli préalablement avec 9mL de solution TSE. On agite la solution obtenue à l'aide d'un vortex, celle-ci constitue la seconde dilution décimale ( $10^{-2}$ ). On continue de la même manière pour l'obtention de la troisième ( $10^{-3}$ ) et de la quatrième décimale ( $10^{-4}$ ).



**Photo11 : échantillons dilués (Photos personnelles) .**

➤ Etallement ou mise en culture : Nous avons d'abord pipeté un volume de 0,1 mL de chaque dilution décimale en utilisant une micropipette de précision réglable. Ensuite, ce volume est déposé sur la boîte de pétri contenant le Milieu Baird Parker. Puis, ce volume est étalée à l'aide d'un râteau préparé à partir d'une pipette pasteur. Enfin, les boîtes sont identifiées et incubées à 37°C pendant 48h.

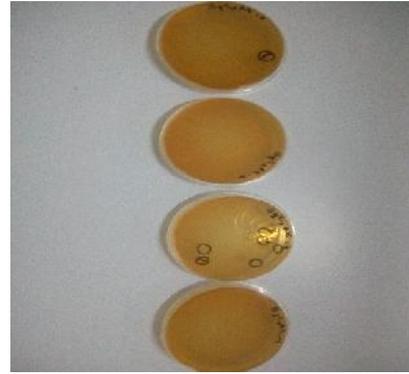


**Photo12 : Etallement des dilutions (Photo personnelle)**

➤ Lecture et dénombrement : cette étape à pour but l'identification des colonies caractéristiques et non caractéristiques de *Staphylocoques aureus*. On ne retient pour le dénombrement que les boîtes renfermant au maximum 300 colonies dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques au niveau de deux dilutions successives. Il faut qu'une des boîtes renferme au moins 15 colonies.

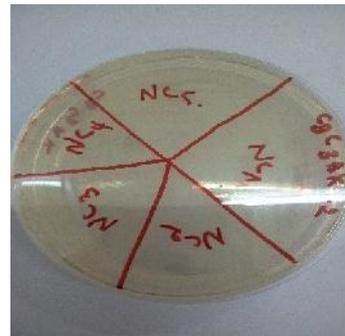
- Les colonies caractéristiques : elles apparaissent convexes, brillantes, de couleur gris foncée à noire présentant un contour complet et des zones transparentes. Les colonies peuvent ou non être entourées d'une zone opaque.

- Les colonies non caractéristiques : elles apparaissent soit noires et brillantes avec ou sans bord blanc étroit ; la zone clair est absente ou a peine visible et l'anneau opalescent est absent ou a peine visible. Soit, des colonies gris dépourvus de zone claire.



**Photo13 : Lecture et dénombrement des colonies obtenues (Photo personnelle)**

Nous avons procédé ensuite à la purification sur gélose nutritive (GN) de quelques colonies caractéristiques et non caractéristiques à l'aide d'une pipette pasteur, les boites de pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h.



**Photo14 : Purification des souches sélectionnées (Photo personnelle).**

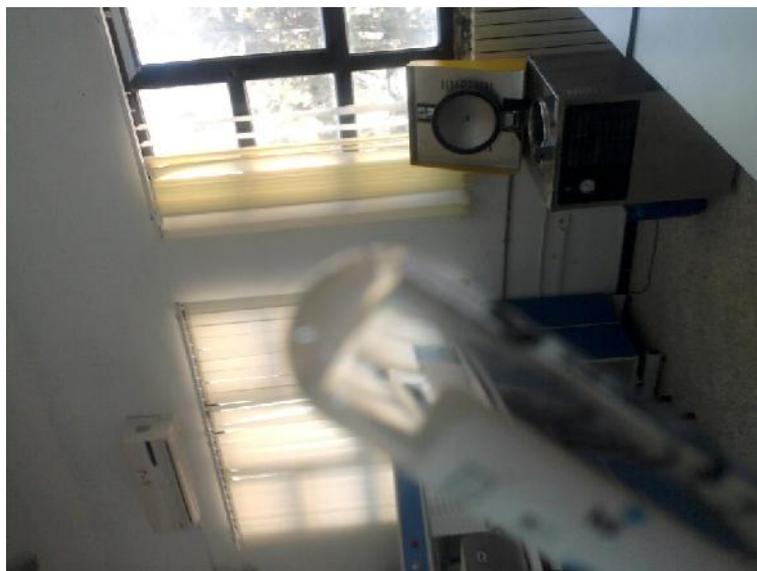
➤ Test de catalase : Il s'agit de mettre en évidence la présence de cette enzyme. Pour cela, nous avons raclé à l'aide d'une pipette pasteur une partie de chaque colonie purifiée et on la dissocie dans une goutte d'eau oxygénée déposé sur une lame propre et sèche. Pour certaines souches on observe immédiatement une effervescence. Alors que pour d'autres, il ne se produit rien.



**Photo15 : résultat du test de catalase (Photo personnelle).**

➤ Test de coagulase : ce test n'est effectué que sur les colonies catalase positive, il permet la recherche de la coagulase, exo-enzyme capable in vitro de coaguler le plasma de lapin. A partir des boites de GN, à l'aide d'une pipette pasteur, nous avons prélevé une partie de chaque colonie purifiée (catalase positive) et nous l'avonsensemencé dans un tube à essai ou dans un flocon de bouillon cœur-cerveille et incubé à 35°C ou 37°C pendant 24 h plus ou moins 2h. Dans des tubes stériles, nous avons ajouté stérilement 0,1 ml de chaque culture à 0,3 ml de plasma de lapin et incubé à 37°C.

• Pour examiner la coagulation, les tubes à essai sont inclinés, nous considérons que la réaction est positive quand le coagulum occupe plus que la moitié du volume initialement occupé par le liquide.



**Photo15 : résultat positif du test de coagulase (Photo personnelle).**

➤ **Calcul du nombre N de Staphylocoques à coagulase positive identifiés :**

Pour les boîtes qui contiennent 300 colonies au maximum, dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques pour deux dilutions successives, on calcule le nombre N de staphylocoques à coagulase positive identifiés présent dans nos échantillons, en tant que moyenne pondérée à partir de deux dilutions successives à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma a}{V(n_1 + 0,1 n_2)d}$$

- a : est le nombre de staphylocoques à coagulase positive identifiés, son calcul se fait selon l'équation :

$$a = \frac{bc}{Ac} X Cc + \frac{bnc}{Anc} X Cnc$$

$A_c$  : le nombre de colonies caractéristiques soumises au test de la coagulase ;

$A_{nc}$  : le nombre de colonies non caractéristiques soumises au test de la coagulase ;

$b_c$  : le nombre de colonies caractéristiques qui ont répondu positivement au test de la coagulase ;

$b_{nc}$  : le nombre de colonies non caractéristiques qui ont répondu positivement au test de la coagulase ;

$c_c$  : le nombre totale de colonies caractéristiques repérées sur la boîte ;

$c_{nc}$  : le nombre totale de colonie non caractéristiques repérées sur la boîte.

- a : est la somme des colonies de staphylocoques à coagulase positive identifiées sur l'ensemble des boîtes retenues ;
- V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millimètres ;
- $n_1$  : est le nombre de boîtes retenues à la première dilution ;
- $n_2$  : est le nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;
- d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

## Résultats et discussion :

### ❖ Incidence globale :

Le tableau ci-dessous, reflète les résultats des analyses bactériologiques, effectué sur 50 échantillons de lait cru.

**Tableau7 : résultats des analyses bactériologiques globales des échantillons**

	Totale	Positif	Négatif
Nombre d'échantillons	50	20	30



**Figure9 : pourcentage de la contamination du lait de collecte.**

La figure ci-dessus montre que sur les 50 échantillons analysés, 20 échantillons soit 40% sont contaminés par *Staphylococcus* à coagulase positive. Ce résultat est plus élevé que celui observé au cours d'une enquête menée en Italie, et qui a révélé une prévalence de 17% (Normanno et al, 2007), par ailleurs, il est inférieur à celui d'André et al (2008) qui ont rapporté un taux de 66,7% dans le lait cru des bovins au Brésil. Ces résultats sont également inférieurs comparativement aux résultats de l'étude faite par Chaalalen en 2013, qui a révélé que sur 107 échantillons, 77 étaient positifs à la contamination par *S.aureus* avec un taux de 71,96%.

❖ **Calcul du nombre N de Staphylocoques à coagulase positive identifiés :**

Le tableau suivant illustre les résultats obtenus après le calcul du nombre N

**Tableau8 : Résultats du Calcul du nombre N de Staphylocoques à coagulase positive identifiés**

<b>Echantillons</b>	<b>Nombre de staphylocoques à coagulase positive dans la prise d'essai « N »</b>
E1	5,45 x 10 <sup>3</sup> ufc /ml
E2	9,09 x 10 <sup>2</sup> ufc /ml
E3	3,64 x 10 <sup>4</sup> ufc /ml
E7	1,30 x 10 <sup>4</sup> ufc /ml
E8	4,55 x 10 <sup>4</sup> ufc /ml
E9	1,45 x 10 <sup>4</sup> ufc /ml
E10	1,93 x 10 <sup>4</sup> ufc /ml
E11	2,91 x 10 <sup>3</sup> ufc /ml
E18	1,13 x 10 <sup>3</sup> ufc /ml
E23	3,76 x 10 <sup>3</sup> ufc /ml
E26	1,05 x 10 <sup>3</sup> ufc /ml
E30	6,36 x 10 <sup>2</sup> ufc /ml
E31	8,18 x 10 <sup>3</sup> ufc /ml
E32	1,25 x 10 <sup>3</sup> ufc /ml
E33	1,82 x 10 <sup>2</sup> ufc /ml
E34	8 x 10 <sup>2</sup> ufc /ml
E36	9,09 x 10 <sup>2</sup> ufc /ml
E37	1,45 x 10 <sup>3</sup> ufc /ml
E46	9,09 x 10 <sup>3</sup> ufc/ml
E49	7,27 x 10 <sup>2</sup> ufc /ml

❖ **Comparaison des résultats avec la réglementation algérienne :**

Selon l'arrêté interministériel du 24/01/1998, relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires paru au journal officiel de la RADP N° 35 du 27/05/1998, le lait cru est sensé ne contenir aucune souche de *Staphylococcus aureus* à coagulase positive, alors que nos résultats du calcul du nombre N révèle une contamination élevée du lait cru par les *staphylococcus aureus* à coagulase positive.

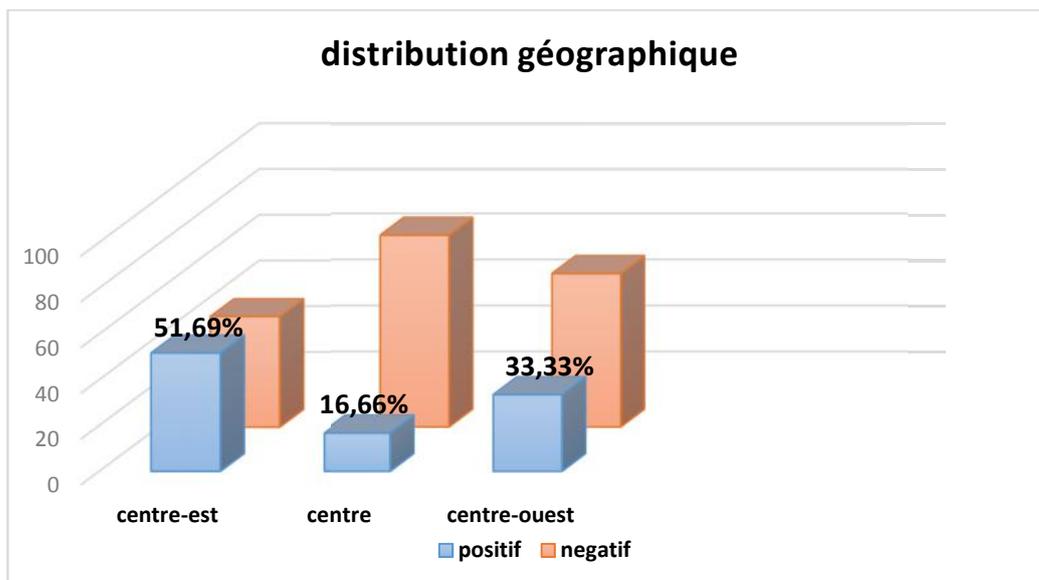
Nos résultats ne sont pas conformes avec les spécifications de la réglementation algérienne.

❖ **Incidence géographique :**

Le tableau suivant montre la distribution géographique de *S.aureus* selon les trois régions : centre-est, centre et centre-ouest

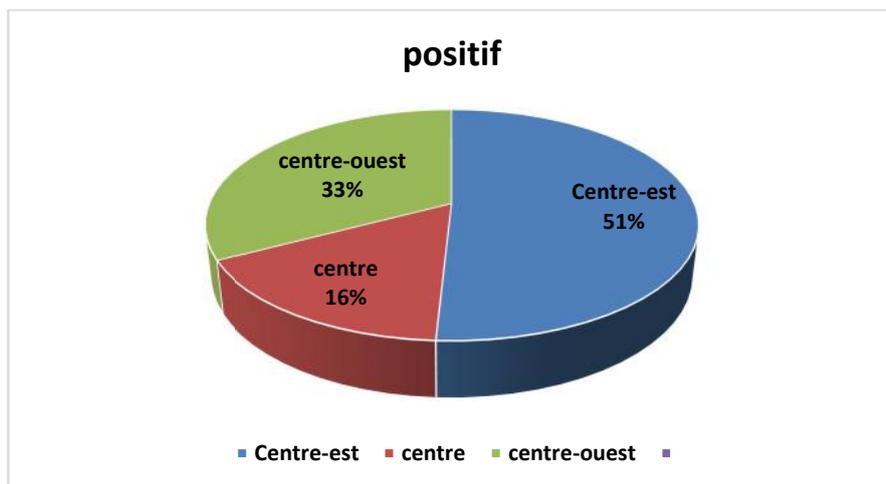
**Tableau9 : distribution géographique des *S.aureus* (%) au centre-est, centre et centre-ouest.**

Source	Nombre d'échantillon	Nombre des cas positif
Centre-est	26	15 (51,69%)
Centre	18	03 (16,66%)
Centre- ouest	06	02 (33,33%)



**Figure10 : résultats obtenus selon les régions : centre-est, centre et centre-ouest.**

❖ **Etude comparatif entre les régions :**



**Figure11 : comparaison entre les trois régions.**

Concernant l'étude par régions, nos résultats montrent que le lait provenant des élevages de la région Centre-Est était le plus contaminé par *S.aureus* (51,69 %), suivi par la région Centre-Ouest (33,33%) et en dernier la région Centre (16,66%). Cette différence serait due au mode d'élevage plus extensif dans les régions montagneuses des wilayas de Tizi Ouzou et Boumerdes, exposant ainsi la mamelle aux agressions externes, qui pourraient provoquer des écorchures au niveau des trayons et être la source d'éventuelles mammites staphylococciques, selon **André et al, (2008)**.

*S .aureus* est la bactérie la plus fréquemment isolée à partir de mammite bovine dans le monde entier, elle est responsable d'environ 40% de tous les cas de mammites bovines en Algérie (**Kaidi et al, 2011**).

La mauvaise hygiène des étables et le manque de nettoyage des machines à traire et du matériel de traite pourrait être aussi une raison d'une contamination plus élevée dans cette région du centre-est. **Fourichon et al, (2004)** montrent que le nettoyage incomplet de la machine à traire permet la survie des agents pathogènes dans les gobelets trayeurs qui contamineraient le trayon en début de traite, car cette bactérie a la capacité de former des biofilms et réinfecter le lait à chaque traite.

Ces résultats mettent en évidence un risque potentiel majeur pour les consommateurs en particulier en l'absence d'hygiène rigoureuses et de mesures préventives pour éviter toute source de contamination qui engendrera la production d'entérotoxines dans les aliments (**Normanno et al, 2007**).

## Conclusion

Alors que la réglementation algérienne stipule que pour le lait cru il devrait y avoir absence totale de *S aureus*, nos résultats d'analyses effectuées sur 50 échantillons de lait cru, ont montré un taux de 40% d'échantillons positifs, ce qui représente un réel danger pour le consommateur Algérien qui par ses habitudes alimentaires il consomme souvent le lait cru sans ébullition préalable.

Le lait provenant de la région centre-est semble plus contaminé (51,69%) que celui des régions centre-ouest (33,33%) et centre (16,66%). Cette différence serait due aux modes d'élevages plus extensifs dans la région du centre-est et donc plus de risques de contaminations.

## Recommandations

Afin de fournir aux consommateurs un lait de bonne qualité microbiologique, l'intervention première serait dans :

### ❖ **Les étables** : en s'assurant :

- De la bonne santé des animaux produisant du lait par un suivi sanitaire efficace.
- -Que les pratiques de traite n'entraînent pas de contamination du lait.
- De Jeter le lait des animaux malade ou sous traitement.
- De veiller à ce que les ustensiles de traite soient correctement lavés et désinfectés.
- De laver et désinfecter les mamelles de chaque vache avant la traite.
- De veiller à un approvisionnement convenable en eau propre.
- De veiller à maintenir propre le lieu de la traite et que les trayeurs suivant bien les règles de base d'hygiène.
- De mettre en place un système de refroidissement rapide du lait après la traite.
- D'éviter le mélange de lait.

### ❖ **Aux collecteurs** : en s'assurant :

- De transporter le lait dans des conditions respectant les bonnes pratiques d'hygiène.
- De nettoyer et désinfecter régulièrement les citernes et les tanks.

### ❖ **Aux points de vente** : en s'assurant :

- Entreposer le lait de vente dans des enceintes frigorifiques.
- Bien laver les ustensiles de vente de lait.

### ❖ **Aux services sanitaires en charge de la sécurité alimentaire** : en assurant :

- Une initiation aux bonnes pratiques d'hygiène (BPH) et aux bonnes pratiques de fabrication (BPF) liées à la propreté des animaux, de leur environnement et la salubrité de la traite (trayeurs, ustensiles de traite).

### ❖ **Aux consommateurs** : en s'assurant :

- De ne plus consommer du lait cru
- De bien bouillir le lait avant sa consommation
- D'éviter la consommation de lait issue d'élevages méconnus



**Figure12 : recommandation pour limiter la contamination du lait cru**

## Références bibliographiques

- **Adrian J, 1987:** valeur alimentaire du lait. la maison rustique, Paris 85-95 ;
- **Akers, M. J, 2002:** lactation and mammary gland, Iowa, USA, 278pp.
- **Andelot P, 1983:** le contrôle laitier, facteur d'amélioration technique, rev lait franç. 416 :15-16.
- **Anonyme1: Salon International du lait,** Acte du 1<sup>er</sup> salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger.
- **Anonyme2 :** Arrêté interministériel du 29 Safar 1414, 1993.
- **Anonyme3 :** arrêté Interministériel, 1993
- **Balaban et al, 2000:** Prevention of diseases caused by *Staphylococcus aureus* using the peptide RIP.
- **Balaban & Rasooly, 2000:** Staphylococcal enterotoxins. Int Food Microbiol 61.
- **Barone R, 1978:** anatomie comparée des mammifères domestiques- tome 3. Splonchnologie fasciculé 2 – appareil uro-génitale fœtus et ses annexes- péritoine et topographie abdominale-Vigot- Lyon.
- **Barkema, H. W., M. J. Green, A. J. Bradley, R. N. Zadoks , 2009:** the role of contagious disease in udder health. J. Dairy Sci. 92 : 4717-4729.
- **Ben Mahdi et OUslimani, 2009:** Mise en evidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. European Journal of scientific research, 36(3), 357-362.
- **Boudier J.F et Luquet F.M. 1978:** Utilisation du lactosérum en alimentation humaine et animale, N°21, edition APRIA, Paris.
- **Brisabois A., Lafarge V., Brouillard A., de Buyser M. L., Collette C., Garin-Bastuji B, Thorel M.F, 1997:** pathogenic organisms in milk and milk products : the situation in France and in Europe.
- **Brouillet et Raguet, 1990 :** Logement et environnement des vaches laitières et qualité du lait. Bull. GTV., 4B-357 :13-22.
- **Brulé G, 1997:** les minéraux, In Cepil (1987). Le lait matière première de l'industrie laitière. Cepil – INRA, Paris. 87-98.
- **De buyser, 2008:** *Staphylococcus aureus*. In :Federighi M. bactériologie alimentaire-compendium d'hygiène des aliments( 2ème ed), Paris, pp 25-51.
- **Chevrmont M, 1979 :** cytologie et histologie, Ed Maloine- paris.
- **Chavaux S, Beguin P, Aubert JP, 1992:** Site-directed mutagenesis of essential carboxylic residues in *Clostridium thermocellum* endoglucanase CEID.

- **Debry G, 2001:** lait, nutrition et santé technique et documentation, Lavoisier paris.
- **Do Carmo et al. 2004:** A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident.
- **Dworkin et M., Falkow S., Rosenberg E., Schkeufer KH., Stackebrandt E., 2006 :** The prokaryotes : Bacteria : Firmicutes, Cyanobacteria. 3eme ed ; Springer, New-York, Vol4, Chap.1.2.1. The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*
- **Eigel WN, Buther JE, Ernstrom CA., 1984 :** nomenclature of cow's milk : fifth revision-Journal of Dairy Science.
- **Erskine R. J, Eberhart R. J, Hutchinson L. J, Spencer S. B, Campell M.A, 1988 :** cow specific risk factors for clinical mastitis .
- **FAO, 1998:** Manuels sur le contrôle de la qualité des produits alimentaires. Rome- FAO, Paris, Lavoisier.
- **fredot, 2006:** connaissance des aliments-bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc. Lavoisier : 10-14 (397 pages).
- **Ferney, 2007:** précis de bacteriologie clinique, 2eme Edition.
- **Fourichon, 2001:** evaluation de l'impact zootechnique et économique des troubles de santé en élevage bovin laitier. Thèse ENSA, rennes, 252p.
- **Fotou K, Tzorz A, Voidarou Ch, Alexopoulos A, Plessas S, Avgeris I, Bezirtglou E, 2011:** Isolation of microbial pathogens subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epirus and their role in its hygiene. Anaerobe 17, 315, 319.
- **Gillaspay et Iandolo, 2009:** The *Staphylococcus aureus* NCTC8325 Genome. Gram positive pathogens. ASM press, Washington, pp 381-413.
- **Goursaud et Boudier, 1985:** composition et propriétés physico-chimiques. Dans le lait et les produits laitiers de vache, brebis, chèvre. Tome 1 : les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- **Gröhn Y.T., Erb H.N., McCulloch C.E., Saloniemi H.S. 1990:** Epidemiology of mammary gland disorders in multiparous Finish Ayrshire cows. Prev. Vet. Med., 8 : 241-252.
- **Guegen L, 1996:** La valeur nutritionnelle minérale du lait. Interets nutritionnel et diététique du lait. France, pp. 67-80.
- **Guiraud et Galzy, 1980 :** l'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p.
- **Hanzen, 2004 :** propéductique de la glande mammaire : sémiologie et diagnostic individuel et de troupeau. Université de Liège. Belgique

- **Hanzen, 2009** : La pathologie infectieuse de la glande mammaire. Etiopathogénie et traitement. Approche individuelle et de troupeau. P63.
- **Hennekinne et Marie-Laure de buyser, Sylviane Dragacci., 2012** : *Staphylococcus aureus* ans its food poisoning toxins : characterization and outbreak investigation.
- **Hennekine et De Buyser, 2010** : *Staphylococcus aureus*, Paris, pp 65-156.
- **J.O, 1993** : **journal officielle de la république algérienne** : Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 aout 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, N JORA : 069 du 27-10-1993.
- **Jacob et al, 2011** : la qualité du lait cru un défi permanent. Edition Agroscope Liebfeld-Posieux. Forum n°78 f.pp :5-17.
- **Kaidi R, Saidi R, Kelef D, 2001** : lait mammiteux : etude experimentale d'un est bactériologique rapide. Recueil des journées vétérinaires de Blida, numéro spéciale-reproduction des animaux en élevage, Vol 4-105-111.
- **Kerouanton A, Hennekinne JA, Letertre C, Petit L, Chesneau O, Brisabois A, De buyser ML, 2007** : Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbeaks in France. Int J Food Microbiol 115 :369-375.
- **Kitchen B.J, Taylor G.C, White I.C, et 1970** : Milkenzyme. Their distribution and activity. Dairy Rec.
- **Kirk JH, Sischo WM. 2003**. Case report – An investigation of dairy cow teat lesions and clinical mastitis. The bovine practitioner, 37 (1) : 31-34.
- **Krakauer T, Stiles BG, 2013** : The staphylococcal enterotoxin (SE) family : SEB and siblings.
- **Kuzdzal S, Manson W, Moore J, 1980**: the constutents of cow's milk. International dairy federation bull.
- **Lausane, 1969**: Le lait.
- **Lankveld JMG, 1995**: Protein standaridized milk products, compositions and properties- IDF Bruessels 70-85.
- **Larpent, 1990** : Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie alimentaire. (Bourgois C.M). tome1 : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Tec et Doc. Lavoisier. Pp : 201- 215.
- **Larpent, 1997** : Microbiologie alimentaire Technique de laboratoire.
- **Levesque, 2006** : la traite des vaches laitières. Etape par étape vers la qualité Guide pratique. Edition Edicagri. Quebec.

- **Lemire G, 2007:** evaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régie biologique. Edition l'envollait biologique. Quebec. 9p.
- **Leyral G, Vierling E, 2007:** Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires. 4<sup>e</sup> édition biosciences et techniques. 87p.
- **Luquet FM, 1986 :** Lait et produit laitiers (vache, brebis, chèvre, T3., qualité, énergie et tables décomposition). Ed, Technique et documentation. Paris : pp343-442.
- **Lynn El Haddad, 2014 :** Utilisation des bactériophages pour le contrôle de *Staphylococcus aureus* dans les produits laitiers. P 1.
- **Normanno G, Corrente M, La S-G, Dambrosio A, Quaglia N.C, Parisi A, Greco G, Bellacico A.L, Virgilio S, Celano G.V, 2007 :** Methicilin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin. Production Italy, international journal of food microbiologie 117, 219-222.
- **Ogston, 1984:** on abscess, classics in infectious diseases.
- **Oliver SO et Sordillo LM, 1988 :** udder health in the preparturient period. J.Dary Sci., 71, 2584-2606.
- **Ostyn A, De buyser ML, Guillier F, Groult J, Felix B, Salah S, Delma G, Hennekinne JA., 2010:** First évidence of a food poisoning outbreaks due to staphylococcal enterotoxin type E. France, 2009. Euro Surveill 15 :1-4.
- **Peacock S. J, Moore C. E, Justice I., Kantzanou M., Story L., Mackie K., O'Neil G., Day N. P., 2005:** Virulent combinations of adhesion and toxic genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. Infect. Immun. 70, 4987-96.
- **Plommet, 1987:** Handbook of laboratory Animal Science, Volume II, 3rd Edition
- **Pluinage P, Ducruet T., Josse J., Monicat F., 1991:** Facteur de risque des mammites des vaches laitières. Résultats d'enquête. Rec. Med. Vet., 167.
- **Poutrel B, Serieys F, Lerondelle C., 1983 :** Effet d'un second traitement (Ampicilline-cloxacilline) pendant le tarissement sur le niveau d'infection mammaire au vêlage. Bull. Soc.Vet. prat. France, 67.
- **Prescott et al, 2011:** A region of the nucleosome required for multiple types of transcriptional silencing in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics 188.
- **Rainard et Gilbert, 2010:** Effect of naturally occurring intramammary infections by minor pathogens on new infections by major pathogens in cattle. Am. J. Vet ? Res., 49.
- **Rosenbach, 1884:** microorganismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen.

- **Serieys, 1995:** concentration cellulaire du lait individuel de vache : influence de l'état d'infection mammaire, du numéro, du stade de lactation et de la production laitière. Ann. Rech. Vet., 16.
- **Silait, Salon International du lait, 2008 :** Acte du 1<sup>er</sup> salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008 Alger.
- **Slettbakk , 1995:** Epidemiological aspects of cerebrospinal.
- **Touch & Deeth, 2009:** Microbiologie of Raw and Market Milks.
- **Vignola, 2002:** science et technologie du lait Transformation du lait. Edition Presses Internationales Polytechniques, Canada. Pp, 3-75.
- **Wattiaux MA, 2001:** La machine à traire, Guide technique, essentiels laitiers : lactation et récolte du lait, Institut Babcock pour la recherche et le développement international du Secteur laitier, USA, 2005, 5p.
- **Zecconi A, Cesaris L, Liandris E, 2006 :** Role of several *Staphylococcus aureus* virulence factors on the inflammatory response in bovine mammary gland. Microb Pathogenesis, 40.

## Annexes

### Annexe 01

#### ❖ Milieu gélosé baird parker :

##### • Principe :

La BD Baird-Parker Agar (gélose Baird-Parker) est un milieu différentiel modérément sélectif servant à l'isolement et à l'énumération des *Staphylococcus aureus* issus d'échantillons alimentaires, environnementaux et cliniques.

##### • Formule :

Ingrédient en grammes pour 950ml d'eau distillée ou déminéralisée.

- Peptone pancréatique de caséine	10.00	}	Milieu de base
- Extrait de viande de bœuf	5.00		
- Extrait de levure	1.00		
- Chlorure de lithium	5.00		
- Glycine	12.00		
- Pyruvate de sodium	10.00		
- Agar	20.00		
- Emulsion de jaune d'œuf (stérile)	50.0		
- Tellurite de potassium (stérile)	0.1		

##### • Préparation du milieu de base :

- Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en portant à ébullition
- Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit  $7,2 \pm 0,2$  à  $25^{\circ}\text{C}$  ;
- Répartir le milieu, par quantité de 100 ml, dans des flacons ou fioles (6,5) de capacité approprié ;
- Stériliser le milieu à  $121^{\circ}\text{C}$  pendant 15 mn

##### • Solution de tellurite de potassium :

- Dissoudre complètement le tellurite de potassium dans 100 ml d'eau, en chauffant le moins possible. Il convient que la poudre soit rapidement soluble. Si un composé blanc insoluble est présent dans l'eau, ne pas retenir la poudre.
- Stériliser par filtration sur membrane de  $0,22 \mu\text{m}$  de porosité.
- LA solution peut être conservé maximum 1mois à  $+3^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

- Eliminer la solution si un précipité blanc se forme.
- Emulsion du jaune d'œuf (à une concentration d'environ 20% ou selon les instructions de fabricant)
  - Utiliser des oeufs frais de poule à coquille intacte. Nettoyer les œufs avec une brosse à l'aide d'un détergent liquide. Les rincer à l'eau courante puis désinfecter les coquilles, soit en les plongeant dans l'éthanol à 70% (fraction volumique) pendant 30s et les laissant séché à l'air, soit en les pulvérisant d'alcool suivi de flambage.
  - En opérant de façon septique, casser chaque œuf et séparer le jaune du blanc par transferts répétés du jaune d'une demi coquille dans l'autre. Placer les jaunes dans un flacon stérile et ajouter quatre fois leur volume d'eau stérile. Mélanger vigoureusement. Chauffer le mélange dans le bain d'eau. Régler à 47°C pendant 2h et entre poser à 3°C pendant 18h à 24h pour laisser se former un précipite. Recueillir aseptiquement le liquide surnageant dans un flacon stérile pour l'utilisation. L'émulsion peut être conservée 72h maximum à 3°C.
- Préparation des boites de milieu gélosé :
 

Couler la quantité nécessaire du milieu complet, dans des boites de pétri stériles de façon à obtenir une épaisseur de gélose d'environ 4mm, et laisser solidifier.

Les boites peuvent être conservées, avant séchage, 24h au maximum à 3°C.

❖ Bouillon cœur cervelle(BHIB) :

- Composition :
 

- Digestats enzymatiques de tissus animaux	10.0 g
- Extrait déshydraté de cervelle de veau	12.5 g
- Extrait déshydraté de cœur de bœuf	5.0 g
- Glucose	2.0 g
- Chlorure de sodium	5.0 g
- Hydrogénorthophosphate disodique anhydre (NaHPO <sub>4</sub> )	2.5 g
- Eau	1000ml
- Préparation :
  - Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en chauffant si nécessaire ;
  - Ajusté le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,4 à 25°C ;
  - Répartir le milieu de culture, par quantité 5ml à 10ml, dans des tubes ou fioles (6,5) de capacité appropriées ;

- Stériliser le milieu à 129°C pendant 15mn.

❖ Plasma de lapin :

Est un plasma de lapin standardisé et lyophilisé utilisé pour la détection qualitative de l'enzyme coagulase produite par *Staphylococcus aureus*.

- Utiliser un plasma déshydraté de lapin, disponible dans le commerce, et le réhydrater en se conformant aux instructions du fabricant ;
- Si l'on ne peut se procurer du plasma de lapin déshydraté, diluer un plasma de lapin frais et stérile à 1 volume pour 3 volumes d'eau stérile ;
- Si du citrate de potassium ou du citrate de sodium a été utilisé comme anticoagulant du plasma ajouter une solution d'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) de manière à avoir 0,1% d'EDTA dans le plasma réhydraté ou dilué ;
- A défaut d'instruction du fabricant, le plasma réhydraté ou dilué doit être utilisé extemporanément ;
- Avant utilisation, contrôler chaque lot de plasma avec des souches de staphylocoques à coagulase positive ainsi qu'avec des souches de staphylocoques à coagulase négative.

## Annexe 02

### Mode opératoire selon la norme ISO 6888-1 :

- Préparation d'une solution mère au 1/10 : dilutions décimales en peptone sel
- Etalement :
  - Transférer à l'aide d'une pipette stérile 0,1 ml de suspension mère (dilution  $10^{-1}$ ) à la surface de chacune de 2 boîtes de milieu gélosé. Répéter l'opération avec la dilution  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ .
  - Etalement soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface de milieux gélosés en évitant de toucher les bords de la boîte, laisser sécher les boîtes avec leurs couvercles en place, pendant environ 15mn à température ambiante.
- Incubation : 24h +/- 2h à 37°C +/- 1°C.
- Marquage des colonies caractéristiques : marquer sur le fond des boîtes les positions des colonies caractéristiques éventuellement présentes.
- Ré-incubation : 24h +/- 2h à 37 °C +/- 1°C.

- Dénombrement : dénombrer les colonies caractéristiques supplémentaires et des colonies non caractéristiques éventuellement présentes.

Ne retenir que les boîtes renfermant au maximum 300 colonies dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques au niveau de deux dilutions successives.

Repiquage de 5 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques à partir de chaque boîte retenue.

- Incubation : 24h +/- 2h à 37 °C +/- 1°C.
- Confirmation (recherche de la coagulation) :

A l'aide d'un fil stérile (6.7), prélever une partie de chaque colonie sélectionnée et l'ensemencer dans un tube ou dans un flacon de bouillon cœur-cerveille. Incuber à 37°C pendant 24h.

- Test de coagulase :
  - Ajouter aseptiquement 0.1 ml de plasma de lapin dans des tubes stériles à hémolyse ou flacons et incuber à 37°C.
  - En inclinant le tube, examiner la coagulation du plasma après 4h à 6h d'incubation ; si test négatif, réexaminer après 24h d'incubation.
  - Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus que la moitié du volume initialement occupé par le liquide.
  - A titre de contrôle négatif, ajouter pour chaque lot de plasma 0.1 ml de bouillon cœur-cerveille stérile à la quantité recommandée de plasma de lapin et incuber sans ensemencement. Pour que la réaction soit valable, le plasma du tube témoin ne devra pas montrer de signes de coagulation.

### Annexe 03

**Tableau 10** : Dénombrement et identification des souches caractéristiques et non caractéristiques.

Echantillon	Dilutions			
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>
E1	NC : ind CC : 8	NC : 170 CC : 2	NC : 15 CC : 0	NC : 2 CC : 0
E2	NC : ind CC : 17	NC : 102 CC : 5	NC : 16 CC : 0	NC : 6 CC : 0
E3	NC : ind CC : 12	NC : ind CC : 10	NC : 78 CC : 1	NC : 1 CC : 0
E4	NC : ind CC : 0	NC : 97 CC : 0	NC : 17 CC : 0	NC : 2 CC : 0
E5	NC : ind CC : 0	NC : ind CC : 0	NC : 133 CC : 0	NC : 25 CC : 0
E6	NC : ind CC : 0	NC : 218 CC : 0	NC : 23 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E7	NC : ind CC : 19	NC : 176 CC : 2	NC : 19 CC : 1	NC : 0 CC : 0
E8	NC : ind CC : 28	NC : 129 CC : 0	NC : 7 CC : 0	NC : 5 CC : 0
E9	NC : ind CC : ind	NC : 26 CC : 16	NC : 11 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E10	NC : ind	NC : 19	NC : 8	NC : 3

	CC : ind	CC : 11	CC : 2	CC : 0
E11	NC : ind CC : ind	NC : 101 CC : 16	NC : 0 CC : 7	NC : 0 CC : 0
E12	NC : 269 CC : 0	NC : 36 CC : 0	NC : 10 CC : 0	NC : 5 CC : 0
E13	NC : ind CC : ind	NC : 197 CC : 0	NC : 14 CC : 0	NC : 1 CC : 0
E14	NC : ind CC : ind	NC : 138 CC : 0	NC : 104 CC : 12	NC : 11 CC : 0
E15	NC : ind CC : ind	NC : 204 CC : 0	NC : 35 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E16	NC : 190 CC : 0	NC : 23 CC : 0	NC : 6 CC : 0	NC : 0 NC : 0
E17	NC : 250 CC : 0	NC : 27 CC : 0	NC : 0 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E18	NC : 63 CC : 0	NC : 9 CC : 0	NC : 0 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E19	NC : 26 CC : ind	NC : 39 CC : 52	NC : 24 CC : 0	NC : 6 CC : 0
E20	NC : ind CC : ind	NC : 13 CC : 3	NC : 15 CC : 0	NC : 2 CC : 0
E21	NC : ind CC : 2	NC : 176 CC : 3	NC : 9 CC : 0	NC : 1 CC : 0
E22	NC : 227	NC : 68	NC : 2	NC : 0

	CC : 2	CC : 3	CC : 0	CC : 0
E23	NC : 131 CC : 69	NC : 16 CC : 2	NC : 2 CC : 0	NC : 3 CC : 0
E24	NC : 59 CC : 0	NC : 58 CC : 0	NC : 11 CC : 4	NC : 10 CC : 2
E25	NC : ind CC : 10	NC : 23 CC : 19	NC : 12 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E26	NC : 33 CC : 5	NC : 4 CC : 0	NC : 1 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E27	NC : 13 CC : 4	NC : 0 CC : 5	NC : 0 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E28	NC : 1 CC : 0	NC : 0 CC : 0	NC : 1 CC : 8	NC : 0 CC : 3
E29	NC : 173 CC : 0	NC : 29 CC : 0	NC : 3 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E30	NC : 105 CC : 7	NC : 23 CC : 1	NC : 1 CC : 0	NC : 1 CC : 0
E31	NC : ind CC : ind	NC : 89 CC : 15	NC : 4 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E32	NC : 23 CC : 0	NC : 3 CC : 0	NC : 0 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E33	NC : 100 CC : 10	NC : 25 CC : 1	NC : 3 CC : 0	NC : 2 CC : 0
E34	NC : 22	NC : 0	NC : 0	NC : 0

	CC : 0	CC : 0	CC : 0	CC : 0
E35	NC : 54 CC : 0	NC : 10 CC : 0	NC : 1 CC : 0	NC : 1 CC : 0
E36	NC : ind CC : 1	NC : 68 CC : 0	NC : 3 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E37	NC : 115 CC : 40	NC : 10 CC : 0	NC : 2 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E38	NC : ind CC : ind	NC : ind CC : ind	NC : 108 CC : 60	NC : 0 CC : 0
E39	NC : ind CC : 0	NC : 209 CC : 0	NC : 1 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E40	NC : 135 CC : 0	NC : 23 CC : 0	NC : 0 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E41	NC : 153 CC : 0	NC : 89 CC : 0	NC : 0 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E42	NC : ind CC : ind	NC : ind CC : ind	NC : 47 CC : 0	NC : 16 CC : 19
E43	NC : 64 CC : 21	NC : 62 CC : 0	NC : 27 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E44	NC : 99 CC : 0	NC : 16 CC : 0	NC : 4 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E45	NC : 191 CC : 0	NC : 30 CC : 0	NC : 2 CC : 0	NC : 1 CC : 0
E46	NC : ind	NC : 287	NC : 114	NC : 24

	CC : ind	CC : 14	CC : 2	CC : 0
E47	NC : 79 CC : 1	NC : 50 CC : 0	NC : 138 CC : 0	NC : 35 CC : 0
E48	NC : 50 CC : 0	NC : 5 CC : 0	NC : 22 CC : 0	NC : 15 CC : 0
E49	NC : 173 CC : 10	NC : 13 CC : 4	NC : 0 CC : 0	NC : 0 CC : 0
E50	NC : ind CC : ind	NC : 134 CC : 1	NC : 4 CC : 0	NC : 0 CC : 0

- E : échantillon.
- NC : non caractéristique.
- CC : caractéristique.
- Ind : indénombrable.

### Annexe 04 :

**Tableau 11** : Résultats du test de la coagulase et de la catalase.

Echantillon		Catalase	Coagulase	Echantillon		Catalase	coagulase
E1	CC1	+	+	E5	NC1	+	-
	CC2	+	+		NC2	+	-
	CC3	+	+		NC3	+	-
	CC4	+	+		NC4	+	-
	CC5	+	+		NC5	+	-
	NC1	+	-				
	NC2	+	-				
	NC3	+	-				
E2	CC1	+	+	E6	NC1	+	-
	CC2	+	-		NC2	+	-
	CC3	+	-		NC3	+	-
	CC4	+	-		NC4	+	-
	CC5	+	+		NC5	+	-
	NC1	+	-				
	NC2	+	-				
	NC3	+	-				
E3	CC1	+	+	E7	CC1	+	+
	CC2	+	+		CC2	+	+
	CC3	+	+		CC3	+	+
	CC4	+	+		CC4	+	+

	CC5	+	+		CC5	+	+
	NC1	+	-		NC1	+	-
	NC2	+	-		NC2	+	-
	NC3	+	-		NC3	+	-
E4	NC1	+	-	E8	CC1	+	+
	NC2	+	-		CC2	+	+
	NC3	+	-		CC3	+	+
	NC4	+	-		CC4	+	+
	NC5	+	-		CC5	+	+
					NC1	+	-
					NC2	+	-
					NC3	+	-
E9	CC1	+	+	E10	CC1	+	+
	CC2	+	+		CC2	+	+
	CC3	+	+		CC3	+	+
	CC4	+	+		CC4	+	+
	CC5	+	+		CC5	+	+
	NC1	+	-		NC1	-	-
	NC2	+	-		NC2	+	+
	NC3	+	-		NC3	-	-
E11	CCA	+	+	E12	NC1	+	-
	CC2	+	-		NC2	+	-
	CC3	+	-		NC3	+	-
	CC4	+	-		NC4	+	-

	CC5	+	-		NC5	+	-
	NC1	+	-				
	NC2	+	-				
	NC3	+	-				
E13	NC1	+	-	E14	CC1	+	-
	NC2	+	-		CC2	+	-
	NC3	+	-		CC3	+	-
	NC4	+	-		CC4	+	-
	NC5	+	-		CC5	+	-
					NC1	+	-
					NC2	+	-
					NC3	+	-
E15	NC1	+	-	E16	NC1	+	-
	NC2	+	-		NC2	+	-
	NC3	+	-		NC3	+	-
	NC4	+	-		NC4	+	-
	NC5	+	-		NC5	+	-
E17	NC1	+	-	E18	NC1	+	-
	NC2	+	-		NC2	+	-
	NC3	+	-		NC3	+	+
	NC4	+	-		NC4	+	-
	NC5	+	-		NC5	+	-
E19	CC1	+	-	E20	CC1	+	-

	CC2	+	-		CC2	+	-
	CC3	+	-		NC1	-	-
	CC4	+	-		NC2	+	-
	CC5	+	-		NC3	+	-
	NC1	+	-				
	NC2	+	-				
	NC3	+	-				
E21	CC1	+	-	E22	CC1	-	-
	CC2	+	-		CC2	+	-
	NC1	+	-		CC3	+	-
	NC2	+	-		CC4	+	-
	NC3	+	-		CC5	+	-
					NC1	+	-
					NC2	+	-
					NC3	+	-
E23	CC1	+	+	E24	NC1	+	-
	CC2	+	+		NC2	+	-
	CC3	+	+		NC3	+	-
	CC4	-	-				
	CC5	-	-				
	NC1	+	-				
	NC2	+	-				
	NC3	+	-				
E25	CC1	+	-	E26	CC1	+	+

	NC1	+	-		CC2	+	+
	NC2	+	-		CC3	+	+
	NC3	+	-		CC4	+	+
					CC5	+	+
					NC1	+	-
					NC2	+	-
					NC3	+	+
E27	NC1	+	-	E28	CC1	+	-
	NC2	+	-		CC2	+	-
	NC3	+	-		CC3	+	-
					CC4	+	-
					CC5	+	-
					NC1	+	-
					NC2	+	-
					NC3	+	-
E29	NC1	+	-	E30	CC1	+	+
	NC2	+	-		CC2	+	+
	NC3	+	-		CC3	+	+
	NC4	+	-		CC4	+	+
	NC5	+	-		CC5	+	+
					NC1	+	-
					NC2	+	-
					NC3	+	-
E31	CC1	+	+	E32	NC1	+	+

	CC2	+	-		NC2	-	-
	CC3	+	+		NC3	+	-
	CC4	+	+		NC4	+	+
	CC5	+	-		NC5	+	+
	NC1	+	-				
	NC2	+	-				
	NC3	+	-				
E33	CC	+	+	E34	NC1	+	-
					NC2	+	+
					NC3	+	-
					NC4	+	-
					NC5	+	-
E35	NC1	+	-	E36	CC1	+	+
	NC2	+	-		NC1	+	-
	NC3	+	-		NC2	+	-
	NC4	+	-		NC3	+	-
	NC5	-	-				
E37	CC1	+	-	E38	CC1	+	-
	CC2	+	+		CC2	+	-
	CC3	+	+		CC3	+	-
	CC4	+	-		CC4	+	-
	CC5	+	-		CC5	+	-
	NC1	+	-		NC1	+	-
	NC2	+	-		NC2	+	-

	NC3	+	-		NC3	+	-	
E39	NC1	+	-	E40	NC1	+	-	
	NC2	+	-		NC2	+	-	
	NC3	+	-		NC3	+	-	
	NC4	+	-		NC4	+	-	
	NC4	+	-		NC5	+	-	
E41	NC1	+	-	E42	CC1	+	-	
	NC2	+	-		CC2	+	-	
	NC3	+	-		CC3	+	-	
	NC4	+	-		CC4	+	-	
	NC5	+	-		CC5	+	-	
						NC1	+	-
						NC2	+	-
E43	CC1	+	-	E44	NC1	+	-	
	CC2	+	-		NC2	+	-	
	CC3	+	-		NC3	+	-	
	CC4	+	-		NC4	+	-	
	CC5	+	-		NC5	+	-	
	NC1	+	-					
	NC2	+	-					
	NC3	+	-					
E45	NC1	+	-	E46	CC1	+	+	
	NC2	+	-		CC2	+	-	

	NC3	+	-		CC3	+	-
	NC4	+	-		CC4	+	-
	NC5	+	-		NC1	-	-
					NC2	+	-
					NC3	+	-
E47	CC1	+	-	E48	NC1	+	-
	NC1	+	-		NC2	+	-
	NC2	+	-		NC3	+	-
	NC3	+	-		NC4	+	-
					NC5	+	-
E49	CC1	+	+	E50	CC	+	-
	CC2	+	+		NC1	+	-
	CC3	+	+		NC2	+	-
	CC4	+	+		NC3	-	-
	CC5	+	-				
	NC1	+	-				
	NC2	+	-				
	NC3	+	-				

## Annexe 5

**Tableau 12 :** Spécification microbiologique de certaines denrées alimentaires dont le lait cru et les produits laitiers, selon l'arrêté interministériel du 24/01/1998 paru au JORADP N°35 du 27/05/1998.

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

## Résumé :

Le lait est une denrée alimentaire d'une richesse non négligeable et d'un apport protéique certain, peut, par le biais de certains incidents hygiéniques, se trouver contaminé par différents pathogènes, tous de nature à nuire à la santé du consommateur.

Le présent travail a pour objectif de rechercher les *Staphylococcus aureus* dans le lait cru de citernes de collecte et d'étudier sa contamination selon les trois régions de collecte : Centre-Est, Centre, Centre-Ouest de l'Algérie.

Les résultats obtenus montrent une présence importante (20%) de *S.aureus* dans les 50 échantillons testés rapportant ainsi le non-respect de bonnes pratiques d'hygiène.

Ces résultats sont plus élevés dans le lait de la région Centre-Est (51,69%) que dans le lait de la région Centre (16,66%) et dans celui de la région Centre-Ouest(33,33) ce qui serait due au mode d'élevage et à la mauvaise hygiène des étables.

**Mots clés : lait cru- Staphylococcus aureus- citernes de collecte- régions de collecte.**

## Abstract :

The milk, Food from a significant richness and certain protein intake, can, through some hygienic problems, be contaminated with various pathogens, all likely to harm the health of consumer. The aim of the present work was to research *Staphylococcus aureus* in raw milk of collectin tanks and study the contamination of the three regions: Center-Est, Centre and Centre-West and East of Algeria

The results aims an important presence (20%) of *S.aureus* in 50 samples tested, reporting a non-respect of the good-hygiene practices.

These results was higher in the Centre-East (51,69%), then Centre-West (33,33%) and then Centre (16,66%) which hilights the implication of the method of rearing and the bad hygiene of the cowshed.

**Keywords : raw milk- Staphylococcus aureus- collecting talk- collecting regions.**

:

غداء بقدر كبير من الغنى، ومصدر اكد للبروتينات، الحليب يمكنه ويسبب بعض الحوادث الصحية، ان يتلوث بمختلف الجراثيم، والتي تضر . هذا العمل كان هدفه تقييم الجودة البكتيرية للحليب الخام في الجزائر مستندين على معايير بحث بيو تكنولوجية.

النتيجة المتحصل عليها تفيد بوجود كبير (20%) للمكورات العنقودية الذهبية في الخمسين عينة المختبرة، مفسرة عدم احترام الممارسات الصحية الجيدة.

هذه النتائج كانت عالية في (51,69%) مقارنة بالنتيجة الموجودة في الوسط (33,33%) - (16,66%). مما يدل على مشاركة طريقة التربية و في تلويف الحليب الخام.

كلمات مفتاحية: الحليب - العنقودية الذهبية.