

## ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Mémoire de master complémentaire  
en sciences vétérinaires

### THÈME:

**Évaluation des bonnes pratiques de fabrication (BPF) dans  
les centres de collecte de lait cru par l'utilisation  
d'organismes indicateurs.**

Présenté par :

AMEUR Hanane  
TIGUERCHA Massinissa

Soutenu le : 19/12/2017.

### Devant le jury composé de:

- Président : Mr GOUCEM R.
- Promoteur : Mlle BOUAYAD L.
- Examineur 1: Mlle BOUHAMMED R.
- Examineur 2 : Mr HAMDI

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

Année universitaire : 2016-2017

## Remerciements

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

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

Nous adressons également, nos sincères remerciements à **Mr GOUCEM R** pour nous avoir honorés en présidant le jury de notre soutenance, Madame **BOUHAMED R** et Monsieur **HAMDI** pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nos remerciement vont également à messieurs **SEHAIM Yacine** et **DIRAMI Hamid**, de la bibliothèque de l'ENSV pour leur aide précieuse, leur disponibilité et leur orientation et à **Louisa** notre Louis d'or du laboratoire d'HIDAOA

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

## Dédicace

A ma Mère,

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

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

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

A mon Père,

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

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

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

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

A toute la famille LOULI et AMEUR.

A Alilou pour ton soutien et ta présence à chaque moment.

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

Rosa, Ryma M. cylvia A., Sarah, Amina A.

Et à tous mes amis.

A mon Binôme : Massi.

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

Hanane

### *Dédicaces*

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

A toutes les personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes études.

**Massi**

## **Liste des abréviations :**

**API:** Analytic Prophylactic Index.

**Aw :** activité de l'eau.

**CDC:** Centre of Disease Control.

**CE :** Communauté européenne.

**CELC :** Confédération européenne du lin et du chauve.

**CEAEQ :** Centre d'expertise en analyse environnemental du Québec.

**CAC/RCP :** Codex Alimentarius Commission/ Recommended Code of Practice.

**BPF :** Bonnes pratiques de fabrication.

**GMP:** Good manufacturing practices.

**CTT:** Coliformes thermotolérants.

**TSE:** Tryptone-sel-eau.

**FAO:** Food and Agriculture Organisation.

**HACCP:** Hazard Analysis Critical Control Point.

**IPA:** Institut Pasteur d'Algérie.

**ISO :** International Standardisation for Normalisation.

**OMS :** Organisation mondiale de la santé.

**SHU:** Syndrome hémolytique et urémique.

**TDA :** Tryptophane Désaminase.

**TIAC :** Toxi infection alimentaire collective

**VP :** Voges Proskauer.

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 01</b> : Composition du lait de vache (quantité par 100g).....	03
<b>Tableau 02</b> : Germes incriminés des mammites.....	10
<b>Tableau 03</b> : Caractéristiques biochimiques d' <i>E.coli</i> .....	14
<b>Tableau 04</b> : Hygiène corporelle et vestimentaire. ....	19
<b>Tableau 05</b> : Danger lors de stockage. ....	19
<b>Tableau 06</b> : Hygiène du matériel. ....	20
<b>Tableau 07</b> : Conception des locaux et le danger de contamination. ....	20
<b>Tableau 08</b> : Hygiène des locaux et environnement. ....	21
<b>Tableau 09</b> : Hygiène de la traite. ....	21
<b>Tableau 10</b> : Hygiène au cours du transport. ....	22
<b>Tableau 11</b> : Organismes négativement corrélés avec la qualité du produit. ....	25
<b>Tableau 12</b> : Répartition des prélèvements effectués durant les deux passages dans les trois centres.....	27
<b>Tableau 13</b> : Prévalence globale de la contamination des surfaces par les CTT dans les centres de collecte.....	30
<b>Tableau 14</b> : Répartition des contaminations par type de citerne.....	32
<b>Tableau 15</b> : Prévalence d' <i>E.coli</i> dans les échantillons positifs aux CTT.....	33
<b>Tableau 16</b> : Prévalence des <i>E.coli</i> dans les échantillons positifs aux CTT selon le type de citerne.....	35
<b>Tableau 17</b> : Prévalence des salmonelles dans les échantillons environnementaux.....	36

## Liste des figures :

<b>Figure 01</b> : logigramme du protocole de recherche des CTT (photo personnel) .....	28
<b>Figure 02</b> : Nombre d'échantillon positifs aux CTT par centre de collecte.....	30
<b>Figure 03</b> : prévalence de contamination par les CTT dans chaque centre de collecte...31	
<b>Figure 04</b> : Répartition de la contamination par les CTT par type de citernes.....	32
<b>Figure 05</b> : Prévalence d'E.coli dans les échantillons positifs aux CTT par centre....	34
<b>Figure 06</b> : Prévalence des E.coli dans les échantillons positifs aux CTT selon le type de citerne.....	35
<b>Figure 07</b> : Répartition des différentes contaminations.....	36

## Glossaire :

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

## **Sommaire :**

Introduction générale .....	1
-----------------------------	---

### **Partie 1: partie bibliographique.**

<b>Chapitre I : Généralité sur le lait cru.....</b>	<b>3</b>
I.1. Définition .....	3
I.1.1. Générale.....	3
I.1.2. Légale.....	3
I.2. Composants du lait de vache.....	3
I.3. Composition cellulaire du lait.....	4
I.3.1. Micro-organismes .....	4
I.3.1.1. Micro-organismes utiles .....	4
I.3.1.2. Micro-organismes d'altération .....	4
I.3.1.3. Micro-organismes pathogènes .....	5
<b>Chapitre II : Nature et sources de contamination du lait cru.....</b>	<b>6</b>
II.1. Nature de contamination .....	6
II.1.1. Microflore du lait .....	6
II.1.1.1. Bactéries lactiques .....	6
II.1.1.2. Microflore psychrotrophe .....	6
II.1.1.3. Microflore thermorésistante .....	7
II.1.2. Microflore pathogène .....	8
II.1.2.1. Coliformes .....	8
II.1.2.2. Bactéries zoonotiques .....	8
II.1.2.3. Bactéries agents d'infection et de toxi-infections alimentaires .....	8

II.1.2.4. Virus .....	8
II.2. Sources de contamination du lait cru .....	9
II.2.1. Dans la ferme.....	9
II.2.1.1. Environnement .....	9
II.2.1.2. Personnel .....	9
II.2.1.3. Traite .....	9
II.2.1.4. Animal .....	10
II.2.1.5. Alimentation .....	11
II.2.2. Transport .....	11
<b>Chapitre III : Coliformes thermotolérants et <i>E. coli</i></b> .....	12
III.1. Généralités sur les coliformes thermotolérants.....	12
III.2. <i>Escherichia coli</i> .....	12
III.2.1. Taxonomie .....	13
III.2.2. Caractères morphologiques .....	13
III.2.3. Caractères biochimiques .....	13
III.2.4. Caractères culturaux .....	14
III.2.5. Méthode d'isolement et d'identification.....	15
III.2.5.1. Méthodes d'isolement .....	15
III.5.2. Méthodes d'identification .....	15
III.2.6. Organismes indicateurs d'hygiène des procédés .....	15
<b>Chapitre IV : Bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication dans le secteur laitier...</b>	<b>17</b>
IV.1. Nettoyage et désinfection .....	17
IV.1.1. Types de souillures en industrie laitière.....	18

IV.1.1.1. Souillures minérales .....	18
IV.1.1.2. Souillures organiques .....	18
IV.1.1.3. Souillures microbiologiques .....	18
IV.2. Bonnes pratiques générales .....	18
IV.2.1. Hygiène du personnel.....	18
IV.2.2. Stockage .....	19
IV.2.3. Hygiène du matériel .....	20
IV.2.4. Conception des locaux .....	20
IV.2.5. Hygiène des locaux et environnement.....	21
IV.2.6. Traite.....	21
IV.2.7. Transport.....	22
IV.3. Bonnes pratiques de fabrication .....	22
IV.4. Indicateurs de la qualité et de la sécurité microbienne des aliments .....	24
IV.4.1. Quelques indicateurs de la qualité du produit .....	24
IV.4.2. Indicateurs de sécurité alimentaire .....	25

## **Partie 2 : Partie expérimentale.**

Objectifs.....	26
I. Matériels et méthodes.....	26
I.1. Matériels.....	26
I.1.1. Echantillonnage .....	26
I.1.1.1. Période de l'étude.....	26
I.1.1.2. Lieu de prélèvement.....	26
I.1.2. Matériels de prélèvement et de laboratoire.....	27
I.1.2.1. Matériel de prélèvement.....	27

I.1.2.2. Matériels de laboratoire.....	27
I.1.2.3. Les milieux et les réactifs.....	27
I.2. Méthode.....	28
I.2.1. Ecouvillonnage .....	28
I.2.2. Recherche des coliformes thermotolérants (CTT) .....	28
I.2.3. Identification des <i>Escherichia coli</i> .....	29
I.2.3.1. Test d'indole.....	29
I.2.3.2. Galerie biochimique miniaturisée .....	29
II.        Résultats .....	30
II.1. Résultats globaux de la recherche des coliformes thermotolérants.....	30
II.1.1 Répartition de la contamination aux coliformes thermotolérants dans les différentes citernes des centres.....	31
II.2. Identification des <i>Escherichia Coli</i> .....	33
II.2.1. Répartition de la contamination par les <i>Escherichia Coli</i> .....	34
II.3. Identification des Salmonelles.....	36
II.4. Résultats globaux des différents germes recherchés .....	<b>36</b>
III.    Discussion .....	38
III.1. Résultats globaux de la recherche des coliformes thermotolérants.....	38
III.1.1. Répartition de la contamination aux coliformes thermotolérants dans les différentes citernes des centres.....	38
III.2. Identification des <i>Escherichia coli</i> .....	39
III.3. Identification des Salmonelles.....	40
Conclusion .....	41
Recommandation.....	42

*Partie 1 :*

*Partie bibliographique*

## **Introduction :**

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

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

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

Du fait que les conditions d'hygiène doivent être satisfaites, le lait et les produits laitiers provoquent des maladies chez le consommateur, c'est pourquoi l'hygiène du lait englobe toute une série de mesures relatives à l'état sanitaire des animaux producteurs, à l'observation des règles d'hygiène dans la chaîne de production, la manipulation et le traitement (**Bouichou, 2009**).

La qualité microbiologique et hygiénique du lait peuvent être surveillées régulièrement, les analyses microbiologiques longues fastidieuses et coûteuses peuvent constituer un obstacle à cette surveillance. Une méthode alternative peut être proposée pour évaluer la salubrité et la sécurité des aliments. La recherche de microorganismes indicateurs peut aider les responsables - qualité à mieux surveiller la qualité microbienne et hygiénique de leurs produits sans passer systématiquement par l'analyse du produit fini.

Différentes études ont été menées pour déterminer les origines de la contamination du lait à la production en vue de mettre en place, au sein de ces filières, des programmes de lutte adaptés et préserver la santé des consommateurs.

Les objectifs de notre étude sont :

- Evaluer la contamination de l'environnement des trois centres de collecte par la recherche des coliformes thermotolérants.
- La recherche de l'organisme indicateur *E. coli* a été effectuée afin d'évaluer les bonnes pratiques de fabrication et en particulier les opérations de nettoyage - désinfection dans ces unités de collecte.

## Chapitre I : Généralités sur le lait

### I.1. Définition :

#### I.1.1. Générale :

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

#### I.1.2. Légale :

Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance, correspond au lait de vache. Tel définit par le premier congrès International de Répression des fraudes tenu à **GENEVE EN 1909**, le lait se définit comme « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ».

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

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

**I.2. Composants du lait de vache** : les principaux composants du lait de vache sont présentés dans le tableau N°01 (**Michel et Wattiaux, 2000**).

**Tableau 01:** Composition du lait de vache (quantité par 100g).

Nutriments	Vache
Eau (g)	88.00
Energie (kcal)	61.0
Matière grasse (g)	3,4
Lactose (g)	4,7
Minéraux (g)	0,72

### **I.3. Composition cellulaire du lait :**

Elle est présentée par les cellules sanguines, cellules épithéliales des glandes, les cellules bactériennes d'origine endogène ou exogène et des cellules somatiques qui sont de nature hétérogène (Abdennebi, 2011).

#### **I.3.1. Micro-organismes :**

Le lait cru, du fait de sa composition physico-chimique, est un excellent substrat pour le développement des micro-organismes originaux ou de contamination qui provoque différentes actions sur le lait. Sa contamination peut être due au cours de la chaîne de traite, du transport ou le stockage à la ferme ou à l'usine par une grande variété de micro-organismes, un certain nombre de ces germes sera multiplié à savoir que la température soit favorable ainsi qu'un milieu propice (Larpen, 1997).

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes /ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles (Guiraud, 1998 ; Bourgeois *et al.*, 1998).

La microflore du lait est habituellement classée en trois grandes catégories (Le page, 1999 ; Beuvier *et al.*, 1997).

##### **I.3.1.1. Micro-organismes utiles :**

Ce sont des micro-organismes ferments, utilisés en industrie laitière pour la production des fromages, yaourt et d'autres produits laitiers fermentés. Parmi ces bactéries les ferments lactiques utilisés pour l'acidification (FAO, 1995).

##### **I.3.1.2. Micro-organismes d'altération :**

Causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture ou réduira la durée de conservation des produits (Anonyme 01, 2003). Ils peuvent engendrer la dégradation du lait, provoquer le limonage, entraînant une apparition d'une texture visqueuse à la surface des

fromages, la présence de longs filaments dans le lait, le caillage du lait et la production de mauvaise odeur (**Guiraud, 1998**).

### **I.3.1.3. Micro-organismes pathogènes :**

C'est des germes capables de provoquer des dangers sur la santé des personnes manipulatrices ou consommatrices, soit par leurs présences dans le lait au moment de la consommation (*Salmonelles, Clostridium perfringens, Listeria monocytogens, Escherichia coli...*) ou bien par la production de toxines dangereuses (**FAO, 1995**).

## **Chapitre II : Nature et sources de contamination du lait cru :**

### **II.1. Nature de la contamination :**

La microflore du lait est généralement divisée en deux grandes catégories : la microflore d'altération et la microflore pathogène.

#### **II.1.1. Microflore d'altération:**

Elle regroupe les bactéries qui peuvent avoir une conséquence sur la transformation technologique du lait cru.

Elle est répartie en différents groupes :

##### **II.1.1.1. Bactéries lactiques :**

Leur présence est naturelle. Les genres dominants sont les *Streptococcus*, *Lactobacilles*, *Leuconostoc* et les *Lactococcus* qui forment un groupe très hétérogène.

Ce groupe est constitué de bactéries aérobies facultatives, saprophytes mésophiles, Gram positifs et thermophiles. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Dellagio et al., 1994**).

Se caractérisent par un développement surtout dans les laits non réfrigérés, leur température optimale de croissance est de 30°C. Ces bactéries lors de leurs croissances hydrolysent le lactose du lait grâce à la galactosidase et ce qui aboutit à l'accumulation d'acide lactique, ce dernier provoque l'abaissement du pH du lait, créant ainsi un milieu défavorable à la prolifération de certaines bactéries, essentiellement les psychrotrophes et les coliformes (**Gilliand, 1985**).

Les bactéries lactiques sont utilisées dans l'industrie laitière pour la production de yaourts, des fromages, de la crème et du beurre.

### **II.1.1.2. Microflore psychrotrophe :**

Ce sont des bactéries à Gram négatif, aérobies, non pathogènes, capables de se développer à basse température à +7°C.

Le genre *Pseudomonas* possède la meilleure capacité de développement au froid et présente une activité significative jusqu'à une température de +2°C (**Gill et Newtonk, 1977**).

Par conséquent, leur activité est accentuée par l'utilisation de plus en plus fréquente du froid de la ferme à l'usine.

Les psychrotrophes ont une origine tellurique ; sol et végétation. Les plus importantes sources de contaminations sont le matériel de traite, les tanks de réfrigération et la peau de la mamelle (**Choisy et Lenor, 1984**).

### **II.1.1.3. Microflore thermorésistante :**

Selon **Flurand (1988)**, ces bactéries regroupent les bactéries qui résistent après les traitements thermiques de pasteurisation ou stérilisation.

Les germes moyennement thermorésistants, appartiennent au genre *Microbacterium* qui résiste à un traitement de 75°C pendant 15 secondes et provoque une dégradation des protéines du lait à l'origine de l'altération de son goût.

Dans les germes possédant une thermo-résistance exponentiellement élevée, on trouve l'espèce *Clostridium tyrobutyricum* qui produit des gaz (H<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>) et de l'acide butyrique (**Jeuzier et Cohen, 1986**).

Ces bactéries proviennent surtout de l'ensilage mal conservé, matériel de la traite mal lavé et le manque de désinfection du pis de la vache.

### **II.1.2. Microflore pathogène :**

La microflore pathogène peut proliférer dans le lait à la suite d'une contamination provenant de l'homme, de l'animal ou de l'environnement (**Abdennebi, 2011**).

### **II.1.2.1. Coliformes :**

Les coliformes sont des bactéries contaminant le lait tout au long de son cheminement de la ferme à l'industrie laitière. Les coliformes sont des bacilles, Gram négatif, non sporulés, capable de fermenter le lactose (**Hermier et al., 1992**). Elles provoquent des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture du lait et ses dérivés. *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*...provoquent une acidification du lait (**Richard et Braquehay, 1985**).

La contamination par les coliformes se fait lors de non-respect de bonnes pratiques d'hygiène par le trayeur. Leur présence dans le lait revêt une grande importance, du point de vue hygiénique, l'espèce *Escherichia coli* est un indicateur de la contamination fécale. En effet, plus leur nombre est élevé plus les chances d'y retrouver de micro-organismes pathogènes sont grandes. Du point de vue technologique, la prolifération des coliformes favorise la fermentation lactique et la production de gaz qui gonfle la pâte du fromage (**CAU, 1993**).

### **II.1.2.2. Bactéries zoonotiques :**

*Mycobacterium tuberculosis* l'agent infectieux responsable de la tuberculose ainsi que *Brucella spp* responsable de la brucellose, sont les agents les plus dominants dans l'apparition de zoonose chez l'homme. La transmission s'opère après consommation des produits laitiers ou carnés contaminés (**Bouichou, 2009**).

### **II.1.2.3. Bactéries agents d'infection et de toxi-infections alimentaires :**

Les bactéries majeures provoquant les toxi-infections alimentaires chez le consommateur suite à leur ingestion provoquent des diarrhées, vomissements ainsi que des malaises, sont : *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus* (**Abdennebi, 2011**).

### **II.1.2.4. Virus :**

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

## **II.2. Sources de contamination du lait cru :**

Les données de la littérature citent plusieurs facteurs de contamination du lait, à commencer par l'hygiène de la traite, le respect de la chaîne du froid et les délais de livraison à la laiterie (**Bonfoh, 2006 ; Rahal, 2009**).

Un matériel en contact du lait, mal nettoyé et désinfecté devient propice à la formation de biofilms microbiens susceptibles de contaminer le lait (**Leefrileux, 2004**).

En outre des différentes sources de contamination du lait en amont de la production, le nettoyage et la désinfection du matériel en contact avec le lait et la réfrigération jouent un rôle prépondérant dans la contamination du lait (**Bonfoh et al, 2006**).

### **II.2.1. Dans la ferme :**

#### **II.2.1.1 Environnement :**

La production laitière doit être contrôlée dans les mesures du respect d'un équilibre de l'environnement de la ferme.

Les surfaces mouillées par le lait représentent généralement une plus grande source d'infection que le pis (**Bensalah et Korib, 2010**)

La présence de chiens et de rongeurs dans l'environnement des vaches peut constituer une source de contamination croisée (**Kouamé et al., 2010**).

#### **II.2.1.2. Personnel :**

Le personnel doit être sain de toute maladie contagieuse qui pourrait être transmise par le lait (tuberculose, brucellose). Certaines pratiques (se moucher, se gratter) pendant la manipulation peuvent véhiculer des germes et contaminer le lait (**Jacquet et Thevenot, 1961**).

#### **II.2.1.3. Traite :**

Avec la traite manuelle le trayeur par son comportement (mains sales, pis des vaches non nettoyés) peut entraîner une contamination du lait. La litière, l'air ambiant, les mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite peuvent être des sources de contamination. La plupart de ces sources d'infection sont supprimées par la traite mécanique. Cependant elle-même

représente une nouvelle voie de contamination par le contact direct entre les surfaces des machines à traire et le lait en particulier s'il y a présence de biofilms. Un très grand nombre de bactéries peuvent contaminer le lait de cette façon si l'on ne nettoie pas l'équipement de traite correctement (**Bourgois et al, 1998 ; Rahal, 2009**).

#### **II.2.1.4. Animal :**

L'état sanitaire de l'animal constitue la majeure source de contamination du lait cru, qui peut se provoquer par deux voies :

- ✓ Voie ascendante : A travers des bactéries provenant de la peau de l'animal, des implants intra mammaire ou de l'environnement.
- ✓ Voie descendante : les bactéries intra mammaire lors de septicémie, bactériémie ou mammites (**Faye et Loiseau, 2002 ; Srairi et al., 2006**).

En dehors de la source fécale, des mains des trayeurs, des ustensiles et la propreté de l'animal, la contamination du lait peut être due à l'excrétion mammaire en cas d'infection à *E.coli* d'où les mammites à *E.coli*.

*S. aureus* et *Enterococcus* peuvent avoir aussi une origine intra-mammaire due aux mammites sub-cliniques des vaches. Les infections mammaires à *S. aureus* constituent la principale source de contamination du lait à la production. Cette bactérie est responsable d'une proportion importante des mammites subcliniques et chroniques chez la vache laitière, et d'environ un tiers des mammites cliniques (**Kouamé et al., 2010**). Les germes incriminés dans l'apparition des mammites sont répertoriés dans le tableau N°02.

**Tableau N°02: Germes incriminés des mammites (Clinique Vétérinaire Des Saulniers, 2000).**

<b>Type de mammite</b>	<b>Les bactéries</b>
Suraiguë	-Streptocoque hémolytique -Staphylocoque.
Aigue	-entérobactérie ( <i>E.coli</i> ) -Staphylococcus.
Chronique catarrhale	-Streptococcus ( <i>S.agalactie</i> ) -Streptocoques contagieux -Corynebactérium pyogènes.

Tout animal malade est susceptible de transmettre un germe pathogène au/par le lait, en particulier, les animaux malades de tuberculose ou de brucellose qui donnent des laits contaminés par *Mycobacterium* et *Brucella* (**Bouichou, 2009**).

#### **II.2.1.5. Alimentation :**

La production et la manipulation inappropriée des aliments destinés aux animaux peuvent entraîner l'introduction de germes pathogènes ainsi que des micro-organismes dangereux ce qui provoque l'insalubrité du lait produit par ces animaux. L'eau contaminée par des agents biologiques ou de substances chimiques présente un danger de contamination pour le lait. (**FAO/OMS, 2009**).

#### **II.2.2. Transport :**

Le transport des fermes vers les centres de collectes se fait souvent dans des conditions favorables à la multiplication bactérienne ;

- ✓ Les contenants du lait sont souvent à faible ouverture, donc difficile à nettoyer, ils peuvent être de véritables nids pour les bactéries.
- ✓ La durée de transport est parfois longue.
- ✓ Le mélange de plusieurs laits d'origine différente.
- ✓ Température ambiante élevée, ce qui favorise la multiplication bactérienne (**Bouichou, 2009**).

Le lait cru à la ferme est contaminé par une charge microbienne initiale, qui augmente au moment du stockage et par la suite lors du transport. L'augmentation du nombre de germe dans le lait se fait progressivement puis d'une façon exponentielle pendant le transport (**Siousarran, 2003**).

## Chapitre III : Coliformes thermotolérants et *E. coli*.

### III.1. Généralités sur les coliformes thermotolérants :

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

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

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

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

### III.2. *Escherichia coli* :

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

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

À l'origine de flambées épidémiques d'*E.coli* producteur de shigatoxines, on trouve principalement la viande hachée crue ou mal cuite, le lait cru et la contamination fécale de légumes.

Dans la plupart des cas, la maladie guérit spontanément, mais elle peut évoluer vers une forme potentiellement mortelle comme le syndrome hémolytique et urémique (SHU), notamment chez les jeunes enfants et les personnes âgées (OMS, 2016)

### III.2.1. Taxonomie : *E.coli* appartient à

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

### III.2.2. Caractères morphologiques :

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

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

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

### III.2.3. Caractères biochimiques :

L'*E.coli* se caractérise des autres espèces par des caractères biochimiques, elles se résument dans le tableau N°03.

**Tableau N°03 : caractéristiques biochimiques d'*E-coli* (Hart et Shears, 2006).**

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

#### **III.2.4.Caractères cultureux : (Anonyme 02, 2012).**

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

### III.2.5.Méthode d'isolement et d'identification:

#### III.2.5.1.Méthodes d'isolement :

Méthodes microbiologiques classique avec utilisation de géloses sélectives telles que :

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

**III.2.5.2.Méthodes d'identification :** plusieurs techniques sont utilisées pour l'identification des *E.coli* tels :

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

#### III.2.6. Les organismes indicateurs d'hygiène des procédés :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## Chapitre IV : Bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication dans le secteur laitier.

### IV.1. Nettoyage et désinfection :

Le nettoyage et la désinfection sont deux actions indispensables en industrie agro-alimentaire, puisqu'elles permettent de rapporter la contamination par les souillures de l'environnement, matériel et la main d'œuvre à un niveau bas (**Amrouche, 2010**).

- **Nettoyage**, c'est d'éliminer les souillures par une action mécanique et des substances chimiques, ce qui prive les microbes de nutriments et stoppe leurs multiplication et rendre les surfaces propres.
- **Désinfecter**, c'est de réduire provisoirement le nombre de germes (charge microbienne), en détruisant les microorganismes. Une surface désinfectée est qualifiée de saine ou hygiénique. On ne peut désinfecter une surface sale, donc vaut mieux un nettoyage sans désinfection que l'inverse (**Amrouche, 2010**).

Dans les zones où l'aliment est en contact étroit avec le matériel, ce qui le rend très fragile, les opérations nettoyage-désinfection seront faites à fond. On doit appliquer un protocole complet de 7 étapes :

- 1) Ranger : démonter, débranché et sortir l'aliment et déchets.
- 2) Prélaver : par jet d'eau froide pour le lait ou chaude pour les graisses et raclage.
- 3) Nettoyer : afin de décoller et de mettre en suspension les souillures.
- 4) Rincer : par l'eau chaude et détergent.
- 5) Désinfecter : à froid en 10mn.
- 6) Rincer : à l'eau potable froide pour enlever les résidus de désinfection.
- 7) Sécher : s'égoutter et sécher spontanément (**Amrouche, 2010**).

L'efficacité des opérations de nettoyage-désinfection est basé les facteurs suivants:

- Température de l'eau.
- Action mécanique liée au matériel de nettoyage.
- Concentration en détergents
- Temps et durée de contact entre produit et la surface à nettoyer (**Amgar et Coord, 1998**).

#### **IV.1.1. Types de souillures en industrie laitière :**

**IV.1.1.1. Souillures minérales :** le tartre est constitué de carbonate de calcium et de phosphate de calcium constitue un réservoir pour les micro-organismes. L'eau dure qui est riche en magnésium et en calcium favorise la formation du tartre.

**IV.1.1.2. Souillures organiques :** - Souillures lipidiques : insolubles dans l'eau.

- Souillures glucidiques : solubles dans l'eau.

- Souillures protéiques : solubles dans l'eau.

**IV.1.1.3. Souillures microbiologiques :** les bactéries forment des colonies sur les surfaces et se protège de la désinfection et le nettoyage en formant des biofilms (**Stephanie, 2003**).

- **Les biofilms :** se forment suite à l'accumulation des micro-organismes sur les surfaces, suite à un nettoyage non suivi d'une désinfection, à une désinfection insuffisante ou encore à une désinfection non précédée d'un nettoyage. Ils sont observés beaucoup plus sur les surfaces difficilement à atteindre (**Bourion, 1998**).

#### **IV.2. Bonnes pratiques générales :**

##### **IV.2.1. Hygiène du personnel :**

Hygiène corporelle et vestimentaire : la nature du risque véhiculé par le personnel et sa tenue vestimentaire et les moyens de maîtrise sont répertoriés le tableau N°04 (**Anonyme 4, 2005**).

**Tableau N°04** : Hygiène corporelle et vestimentaire.

Nature du risque	Moyens de maîtrise
<p>Dangers microbiologiques</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Contamination par les mains souillées ou mal lavées.</li> <li>• Contamination du produit par les manipulations avec une tenue inadaptée, ou par contact du produit avec les cheveux, bijoux...</li> </ul>	<p>Formation du responsable de la laiterie aux BPH et BPF puis sensibilisation du personnel et suivi de leur application.</p> <p>Se laver les mains de manière efficace avant et après toute manipulation des produits et après tout passage aux toilettes ou sortie de la salle : avec du savon en quantité suffisante, un rinçage à l'eau et un séchage des mains avec des papiers jetables à usage unique ou un torchon propre et sec.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Installer des lavabos si possibles à commande non manuelle avec du savon et du désinfectant.</li> <li>• Porter des vêtements adaptés et propres et réservés à la seule transformation.</li> <li>• Ranger les tenues dans un endroit spécifique.</li> <li>• Retirer les bijoux, attacher et couvrir les cheveux longs avec une coiffe/charlotte ou un foulard, couper les ongles à ras.</li> <li>• Limiter des déplacements du personnel (notamment entre les différentes pièces)</li> </ul>

#### IV.2.2. Stockage :

Des dangers peuvent parvenir lors du stockage (tableau Ci-dessus) (**Anonyme 4, 2005**):

**Tableau N°05** : Danger lors de stockage.

Nature du risque	Moyens de maîtrise
<p>Dangers microbiologiques</p> <p>Les micro-organismes peuvent être apportés par un local sale, trop humide,</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Refermer soigneusement les sacs ouverts avant de les stocker.</li> <li>• Stocker les matières premières (sacs de sucre, de poudre de lait...) sur des palettes dans un endroit propre, sec et aéré et à l'écart du lieu de transformation.</li> </ul>

**IV.2.3. Hygiène du matériel :** le matériel peut véhiculer des dangers (tableau ci-dessous) (Anonyme 4, 2005).

**Tableau N°06 :** Hygiène du matériel.

Nature du risque	Moyens de maîtrise
Danger microbiologique et physique <ul style="list-style-type: none"> <li>• L'usage des ustensiles en matériaux inadaptés (bois), contamine les produits par un apport en micro-organisme ou en débris physiques.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Éviter l'usage de matériel en bois et préférer plutôt du matériel en aluminium ou en plastique alimentaire, facilement lavable (changement fréquent)</li> </ul>

**IV.2.4. Conception des locaux :** Les locaux peuvent être source de contamination (tableau ci-dessous) (Anonyme 4, 2005).

**Tableau N°07 :** Conception des locaux et le danger de contamination.

Nature du risque	Moyens de maîtrise
Danger microbiologique <ul style="list-style-type: none"> <li>• Risques de contamination microbienne du lait par le contact entre produits «sales» et «propres» (danger de contaminations croisées)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Effectuer la transformation dans une enceinte close à l'abri de la poussière et des animaux nuisibles.</li> <li>• Respecter le principe de la «marche en avant» dans l'espace ou dans le temps qui suppose que les flux de produits «propres» et «sales» ne se croisent pas.</li> <li>• Respecter le principe de séparation des secteurs sains et souillés.</li> <li>• Prévoir les systèmes d'évacuation des eaux usées, des eaux de nettoyage et des déchets.</li> <li>• Prévoir des locaux, matériaux et surfaces facilement lavables et désinfectables.</li> </ul>

#### IV.2.5. Hygiène des locaux et environnement :

**Tableau N°08 : Hygiène des locaux et environnement (Anonyme 4, 2005).**

Nature du risque	Moyens de maîtrise
<p>Dangers microbiologiques</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Contamination par la poussière qui abrite de nombreux germes.</li><li>• Les murs dégradés et les plafonds percés peuvent abriter des moisissures et des levures.</li></ul> <p>Dangers physiques</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Élaborer et respecter un plan de nettoyage des locaux et du matériel.</li><li>• Nettoyer et désinfecter le sol et les espaces de travail avec une solution efficace.</li><li>• Effectuer un nettoyage général de l'unité (murs, plafonds, fenêtres, abords de l'unité) chaque fois que nécessaire et au minimum une fois par an</li></ul>

#### IV.2.6. Traite :

**Tableau N°09 : Hygiène de la traite (Anonyme 4,2005).**

Nature du risque	Moyens de maîtrise
<p>Dangers microbiologiques</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Contamination due au manque ou au non-respect des bonnes pratiques d'hygiène pendant la traite.</li></ul> <p>Dangers physiques</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Paille, poils... dans le lait.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Effectuer la traite sur une aire propre (spécifiquement réservée, aménagée pour la traite).</li><li>• Attacher la queue de la vache.</li><li>• Nettoyer et désinfecter les mains.</li><li>• Nettoyer les pis avec un tissu propre.</li><li>• Ne pas conserver les trois premiers jets</li><li>• Nettoyer et désinfecter les ustensiles de traite</li></ul>

#### IV.2.7. Transport :

**Tableau N°10 : Hygiène au cours du transport (Anonyme 4, 2005).**

Nature du risque	Moyens de maîtrise
<p>Dangers microbiologiques</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Contamination des bactéries provenant de l'environnement.</li><li>• La température élevée pendant le transport et la durée favorisent la multiplication des germes.</li></ul>	<p>Acheminer rapidement le lait au centre de collecte ou à la laiterie.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Autant que possible, utiliser les bidons à large ouverture.</li><li>• Nettoyer, désinfecter et sécher les récipients de transport et, si possible, les laver et les désinfecter à la laiterie.</li><li>• Bien identifier la provenance de chaque bidon.</li></ul>

#### IV.3. Bonnes pratiques de fabrication :

BPF, en anglais *Good Manufacturing Practices* ou GMP. Bonne pratique de fabrication est une notion d'assurance de la qualité.

Établies par des États ou la Commission européenne dans le cadre du développement des "démarches qualité", les BPF s'appliquent à la fabrication de médicaments à usage humain ou vétérinaire.

Des textes similaires existent pour les produits cosmétiques, et de nombreux secteurs industriels dont les industries agro-alimentaires et même la production laitière emploient le vocable de bonnes pratiques de fabrication (**Blanchard, 2012**).

Le détenteur d'une autorisation de fabrication doit fabriquer un produit adapté à l'usage, conforme à ses spécifications définies dans l'autorisation de mise sur le marché et ne devant pas exposer un patient à un risque remettant en cause la sécurité, la qualité ou l'efficacité du produit (**James et al., 2005**).

Dans cet esprit, les BPF s'attachent à limiter 2 catégories de risques :

- Les risques de contamination croisée des produits (par un autre produit, ou un contaminant interne et externe) ;
- Les risques de confusion notamment au niveau des étiquetages et de l'identification des composants.

Les (10) grands principes des BPF et les 5M (**James et al., 2005**) :

1. *Écrire* les modes opératoires et les instructions afin de fournir une "feuille de route" nécessaire à la conformité aux BPF et à une production de qualité régulière.
2. *Suivre* scrupuleusement procédures et instructions pour prévenir toute contamination, inversion ou erreur.
3. *Renseigner* rapidement et précisément le travail en cours dans un but de conformité aux procédures et de traçabilité.
4. *Prouver* que les systèmes font ce pour quoi ils sont conçus en effectuant des démarches formelles de validation.
5. *Intégrer* les procédés, la qualité du produit et la sécurité du personnel dans la conception des bâtiments et des équipements.
6. *Effectuer la maintenance* des bâtiments et équipements de manière régulière et efficace.
7. *Développer et démontrer* clairement les compétences au poste de travail.
8. *Protéger* les produits contre toute contamination en adoptant des habitudes régulières et systématiques de propreté et d'hygiène.
9. *Construire la qualité* dans les produits par un contrôle des matières premières et des processus tels que la fabrication, l'emballage, l'étiquetage, etc.
10. *Planifier et effectuer* régulièrement des *audits* afin d'assurer conformité aux BPF et efficacité au système qualité.

Ces principes sont souvent résumés autour des "5M" :

- Matériel : identifié, entretenu, nettoyé, qualifié ;
- Méthodes : disponibles, détaillées, précises, vérifiées, validées, auditées ;
- Main-d'œuvre : formée et habilitée au poste de travail ;
- Matières : identifiées, contrôlées;
- Milieu : infrastructures de production qualifiées (**James. et al., 2005**).

#### **IV.4.Indicateurs de la qualité et de la sécurité microbienne des aliments :**

Les organismes indicateurs peuvent être utilisés pour refléter la qualité microbiologique des aliments par rapport à la durée de conservation ou à la sécurité vis-à-vis des agents pathogènes d'origine alimentaire. En général, les indicateurs sont le plus souvent utilisés pour évaluer la sécurité des aliments et les traitements assainissant (**Jay et al., 2005**).

##### **IV.4.1.Quelques indicateurs de la qualité du produit :**

Les indicateurs de qualité microbienne ou des durées de conservation (DLC) des produits sont des organismes et / ou leurs produits métaboliques dont la présence dans certains aliments à certains niveaux peut être utilisée pour évaluer la qualité ou, mieux, pour prédire la durée de conservation du produit. Lorsqu'ils sont utilisés de cette manière, les organismes indicateurs doivent répondre aux critères suivants :

1-ils devraient être présents et détectables dans tous les aliments dont la qualité (ou l'absence) doit être évaluée.

2-leur croissance et leur nombre devraient avoir une corrélation négative directe avec la qualité du produit.

3-ils devraient être facilement détectés et énumérés et se distinguer clairement des autres organismes.

4-ils devraient être énumérables dans un court laps de temps, idéalement dans une journée de travail.

5-leur croissance ne devrait pas être affectée négativement par d'autres composants du microbiote alimentaire (**Jay et al., 2005**).

En général, les indicateurs les plus fiables de la qualité des produits ont tendance à être spécifiques aux produits : certains exemples de produits alimentaires et d'indicateurs de qualité possibles sont énumérés dans le tableau N°12. Lorsqu'un organisme unique est la cause de l'altération, son nombre peut être surveillé par une culture sélective ou par une méthode telle que l'impédance à l'aide d'un milieu sélectif approprié. En effet, les indicateurs de qualité microbienne sont des organismes responsables de la détérioration dont le nombre croissant entraîne une perte de qualité du produit (**Jay et al., 2005**).

**Tableau 11 : Organismes négativement corrélés avec la qualité du produit (Jay *et al.*, 2005).**

Organismes	Des produits
<i>Clostridium spp.</i>	Fromages durs
<i>Lactococcus lactis</i>	Lait cru (réfrigérer)
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	Beurre
<i>Levures</i>	Concentrés de jus de fruits
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	mayonnaise, vinaigrette

#### **IV.4.2. Indicateurs de sécurité alimentaire :**

Les microorganismes indicateurs sont utilisés le plus souvent pour évaluer la sécurité sanitaire des aliments et l'assainissement que la qualité. En effet, un indicateur de sécurité sanitaire des aliments devrait répondre à certains critères importants :

1-Etre facilement et rapidement détectable.

2-Etre facilement distinguable des autres membres du biote alimentaire.

3-Avoir une histoire d'association constante avec le pathogène dont il va indiquer la présence

4-Est toujours présent lorsque l'agent pathogène préoccupant est présent.

5-Etre un organisme dont les nombres devraient idéalement correspondre à ceux du pathogène concerné.

6-Posséder des exigences de croissance et un taux de croissance égal ou supérieur à celui de l'agent pathogène.

7- Avoir un taux de mortalité qui correspond au moins à celui de l'agent pathogène et, idéalement, persiste légèrement plus longtemps que l'agent pathogène concerné.

8-Etre absent des aliments qui sont exempts de l'agent pathogène, sauf peut-être à certains nombres minimums (Jay *et al.*, 2005).

*Partie 2 :*

*Partie expérimentale*

## **OBJECTIFS :**

Suite à une étude ultérieure relative à l'évaluation de la contamination du lait cru dans les centres de collecte par les coliformes thermotolérants et par *Escherichia. coli*, une nouvelle étude a été réalisée dans le but d'évaluer la contamination de l'environnement de ces trois centres par les mêmes contaminants. La recherche de l'organisme indicateur *E. coli* a été effectuée afin d'évaluer les bonnes pratiques de fabrication et en particulier les opérations de nettoyage - désinfection dans ces unités de collecte.

### **I. Matériels et méthodes :**

#### **I.1. Matériels :**

##### **I.1.1. Echantillonnage :**

###### **I.1.1.1. Période d'étude :**

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

###### **I.1.1.2. Lieux de prélèvement :**

Trente-quatre (34) prélèvements de surfaces par écouvillonnage ont été réalisés dans trois (03) centres de collecte de lait cru dans la wilaya de Tizi-Ouzou.

-  Centre de Freha
-  Centre de Tala
-  Centre d'Imaloussen.

Les prélèvements ont été effectués lors de deux passages dans les centres de collecte à un intervalle de 15 jours. Le même nombre d'échantillons est prélevé à chaque passage. Le choix de la fréquence et du nombre des prélèvements a été opté afin d'évaluer l'évolution de la contamination pendant ces deux semaines et ainsi l'efficacité des opérations de nettoyage – désinfection.

Les différents points de prélèvements dans les trois centres de collecte sont indiqués dans le tableau N°12.

**Tableau N°12 : Répartition des prélèvements effectués durant les deux passages dans les trois centres de collecte.**

Centre	Citerne centrale	Citerne moyenne	Citerne des collecteurs	Total
Tala	01(*2)	(-)	04(*2)	10
Freha	01(*2)	01(*2)	04(*2)	12
Imalloussen	01(*2)	01(*2)	04(*2)	12
Total	06	04	24	34

(-) = absence de la citerne moyenne dans le centre de Tala. (\*2)= nombre de prélèvement multiplié par deux (deux passages). Citerne centrale = où le lait de toutes les citernes sera mélangé. Citerne moyenne = pour la réception du lait collecté de chaque citerne des éleveurs.

### **I.1.2. Matériels de prélèvement et de laboratoire :**

#### **I.1.2.1. Matériels de prélèvement :**

- Ecouvillons
- Sac stériles
- Bouillon T.S.E (tryptone-sel-eau)
- Glacière isotherme.

#### **I.1.2.2. Matériels de laboratoire ;**

- Tubes à essai
- Pipettes pasteurs
- Micropipettes
- Boîtes de pétri
- Anse de platine
- Vortex (SCILOGEX)
- Etuves réglées à 44°C et 37°C (Mettler)
- Autoclave (PbInternational)

#### **I.1.2.3. Milieux et réactifs :**

- TSE (tryptone-sel-eau)
- Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre VRBL (IPA)
- Eau distillée
- Galerie API 20E (Biomerieux)

- Réactif de Kovacs (IPA)
- Réactif Tryptophane Désaminase (TDA) (IPA)
- Réactifs Voges-Proskauer (VP1, VP2) (IPA)
- Vaseline.

## I.2. Méthode :

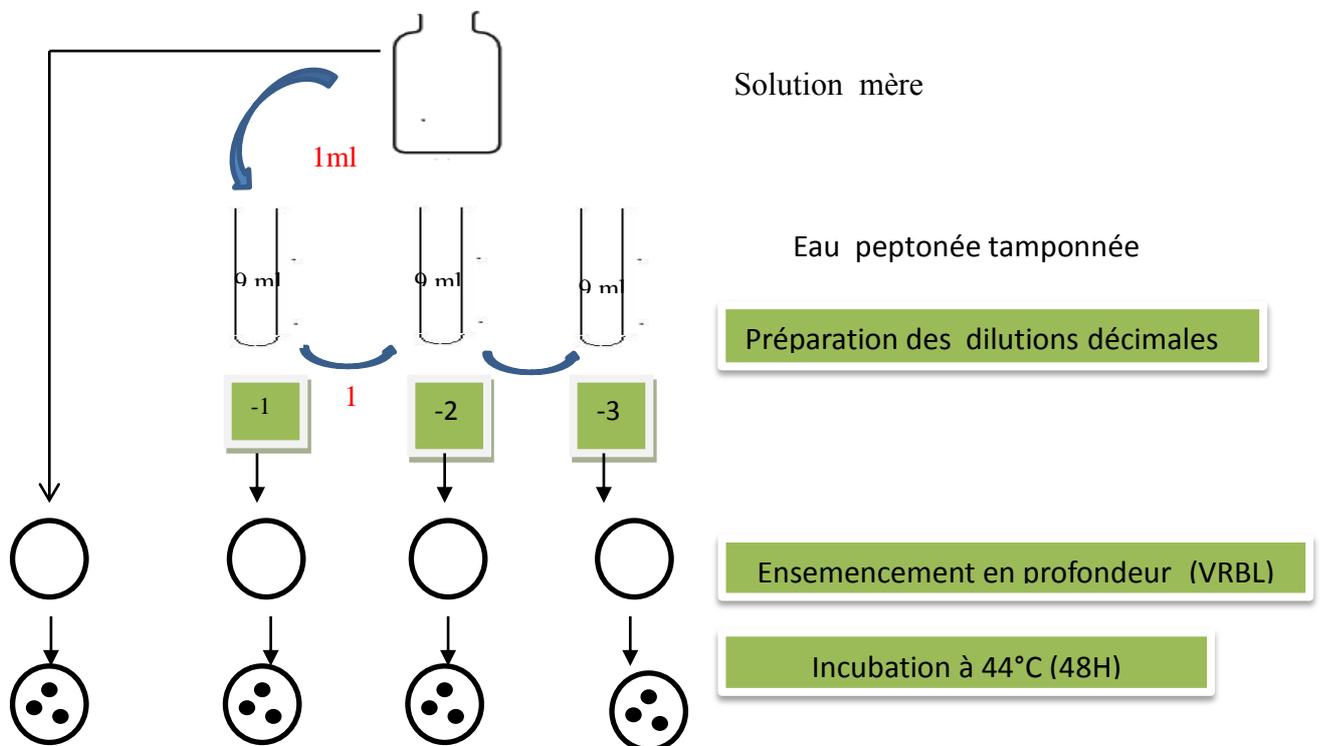
### I.2.1. Ecouvillonnage :

Les surfaces internes et externes des robinets des citernes ont été soigneusement frottées avec deux écouvillons humidifiés au TSE. Les écouvillons ont été remis de manière aseptique dans leurs supports contenant un diluant (TSE). Tous les échantillons ont été identifiés, stockés à 4 °C et traités dans les 4 h après le prélèvement, dans le laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV.

### I.2.2. Recherche des coliformes thermotolérants (CTT) :

La recherche des CTT a été réalisée après avoir préparé des dilutions décimales à partir de la solution mère. Un ensemencement en profondeur a été réalisé avec de la gélose VRBL, suivi d'une incubation pendant 48H à 44°C.

Le mode opératoire est résumé par le logigramme de la figure N°01 :



**Figure N°01 : Logigramme du protocole de recherche des coliformes thermotolérants (figure personnel).**

### **I.2.3. Identification des *Escherichia.coli* :**

Pour chaque échantillon positif aux coliformes thermotolérants, nous avons ré-isolé sur de la sur gélose VRBL, deux colonies présomptives (lenticulaires et rosâtres). Après une incubation de 24h à 44°C, nous avons obtenu des colonies fraîches pour effectuer les tests biochimiques.

#### **I.2.3.1. Test d'indole :**

Des tubes contenant de l'eau peptonée tamponnée exempte d'indole ont étéensemencés par les colonies bactériennes et incubés à une température de 37°C pendant 24h. Après incubation, une goutte du réactif « Kovacs » est rajoutée dans chaque tube, dans le but de mettre en évidence la production d'indole résultat de la dégradation du tryptophane. La formation d'un anneau rouge signe une réaction positive. Ce test nous permet d'identifier *E.coli* et de la différencier des autres coliformes thermotolérants.

#### **I.2.3.2. Galerie biochimique miniaturisée (API20E) :**

Ce test a été effectué selon les recommandations du fabricant et n'a concerné que les colonies positives au test d'indole.

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

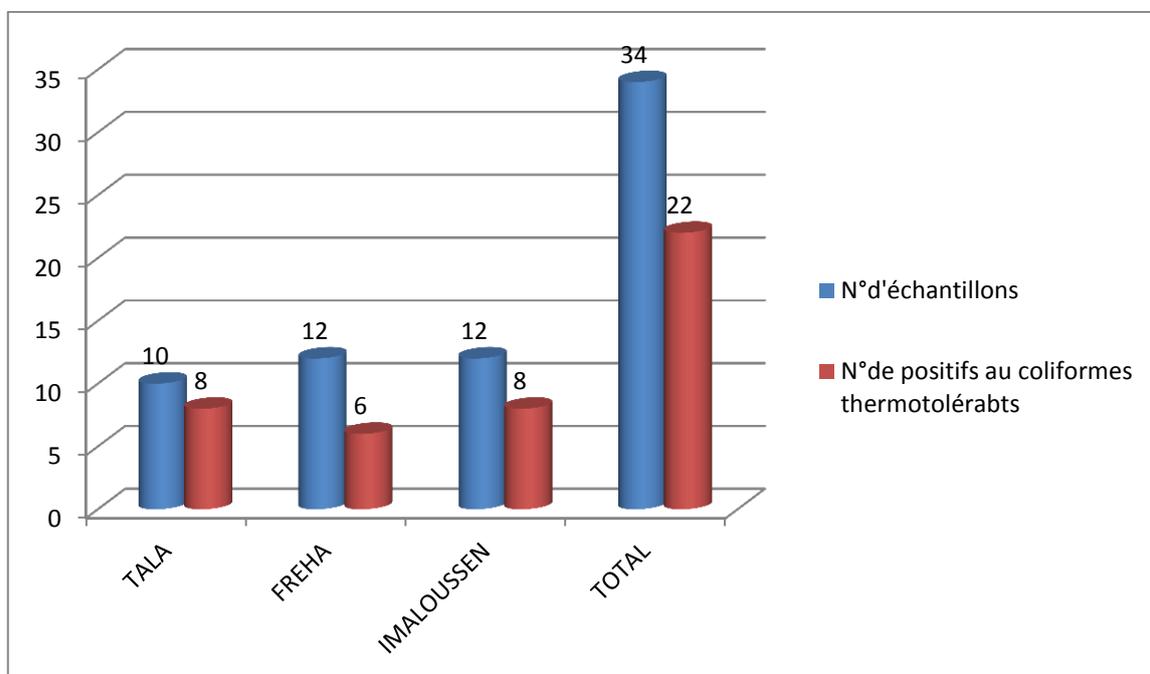
## II. Résultats:

### II.1. Résultats globaux de la recherche des coliformes thermotolérants (CTT) :

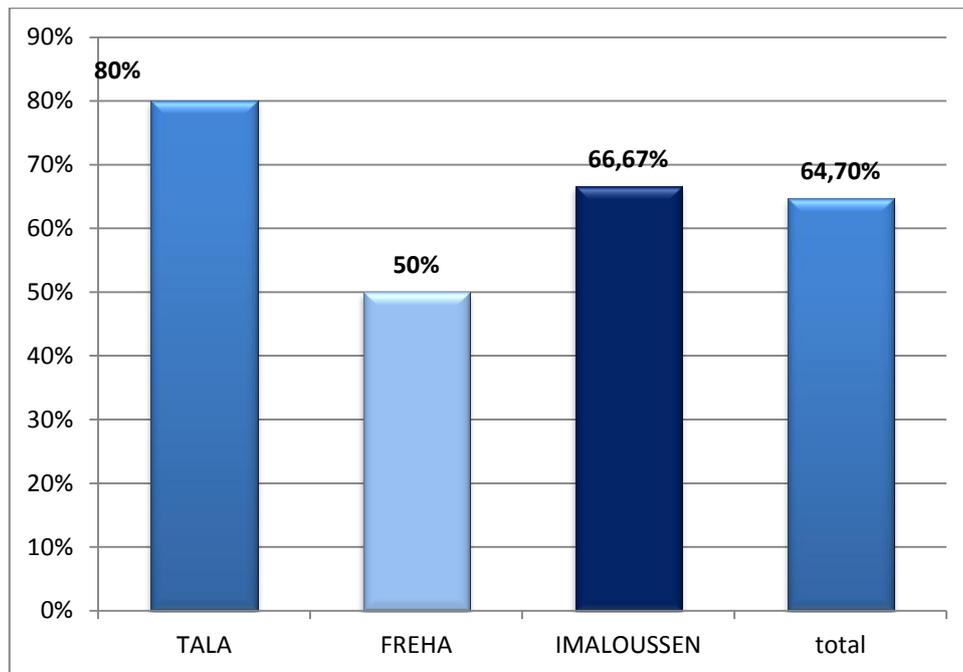
La recherche des CCT dans les échantillons de surfaces nous a permis d'obtenir les résultats rapportés dans le tableau N° 13 et la figure N°02 et N°03.

**Tableau N°13** : Prévalence globale de la contamination des surfaces par les CTT dans les centres de collecte.

Centres de collecte	Nombres d'échantillons	Nombre d'échantillons positifs aux coliformes thermotolérants	Prévalence %
TALA	10	08	80
FREHA	12	06	50
IMALLOUSSEN	12	08	66,67
TOTAL	34	22	64,70



**Figure N° 02** : Nombre d'échantillons positifs aux CTT par centre de collecte.



**Figure 03: Prévalence de contamination par les CTT dans chaque centre.**

La figure N°02 et N°03 montrent que sur un total de 34 échantillons prélevés dans les trois centres, 22 sont positifs aux CTT, ce qui nous donne la prévalence élevée de 64,70%.

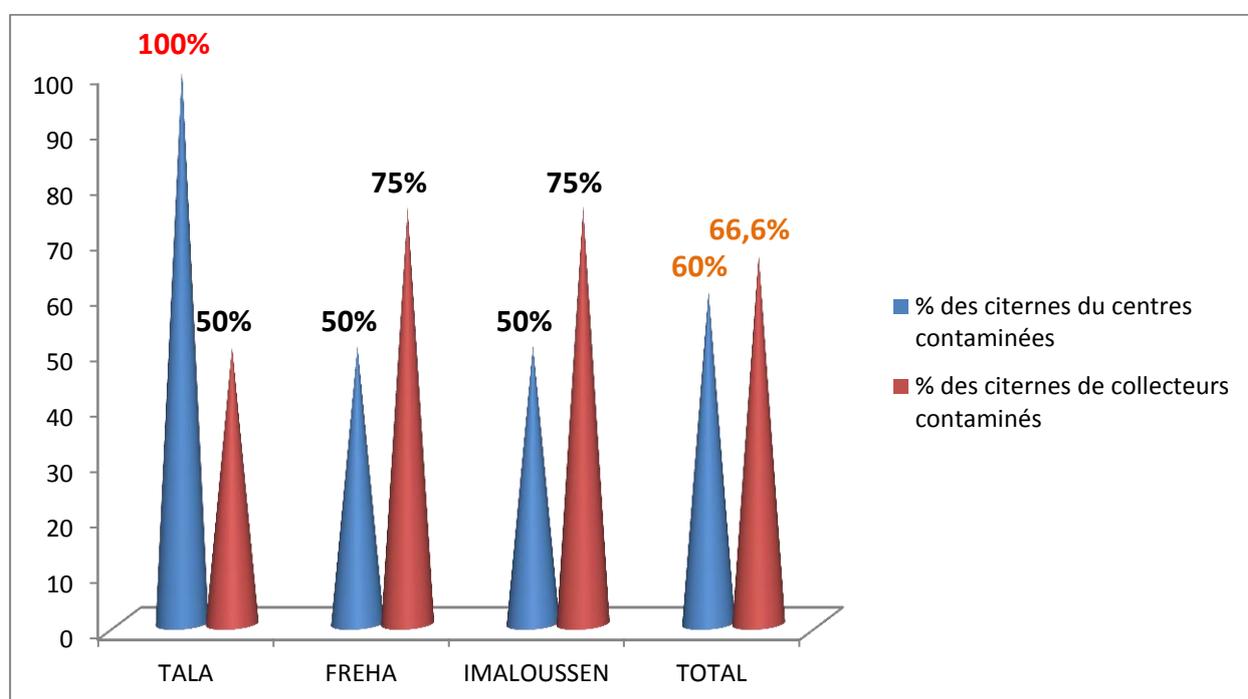
Le centre de TALA a enregistré le taux d'échantillons contaminés le plus élevé (80%), alors qu'au centre de FREHA la moitié des prélèvements (50%) étaient contaminés par les CTT.

### **II.1.1. Répartition de la contamination aux CTT dans les différentes citernes des centres :**

Dans chaque centre, deux types de citernes ont été écouvillonnées, les citernes propres aux centres et les citernes des collecteurs. La distribution de la contamination par les CTT par type de citerne est rapportée dans le tableau N°14 et la figure N°04.

**Tableau N°14 : Répartition des contaminations par type de citerne.**

Centre de collecte	Nbre de citernes du centre écouvillonnées	Nbre d'échantillons positifs au CTT et (%)	Nbre de citernes de collecteurs écouvillonnées	Nbre d'échantillons positifs au CTT CTT et (%)
TALA	02	02 (100%)	08	04 (50%)
FREHA	04	02 (50%)	08	06 (75%)
IMALOUSSEN	04	02 (50%)	08	06 (75%)
TOTAL	10	06 (60%)	24	16 (66.6%)



**Figure N° 04: Répartition de la contamination par les CTT par type de citerne.**

Le tableau N°14 et la figure N°04, montrent que 60% des (10) citernes des centres de collecte sont contaminées par les CTT, ainsi que 66,6% des (24) citernes des collecteurs.

Les citernes de collectes dans les centres ont montré des taux de contamination variables. A Tala les deux citernes qui y existent sont contaminées (100%), à FREHA et à IMALOUSSEN, c'est la moitié des citernes (50%) qui le sont.

Les citernes de collecteurs qui approvisionnent les centres de collectes ont enregistré des contaminations à raison de 50% à TALA et de 75% à FREHA et IMALOUSSEN.

## II.2. Identification des *d'Escherichia coli* :

Nous avons recherché la présence *d'E.coli* dans les échantillons positifs aux CTT par l'utilisation du test de l'indole et des galeries Api20E. La recherche de l'organisme indicateur *E.coli*, nous a permis également de détecter la présence de l'espèce *Salmonella* dans les échantillons.

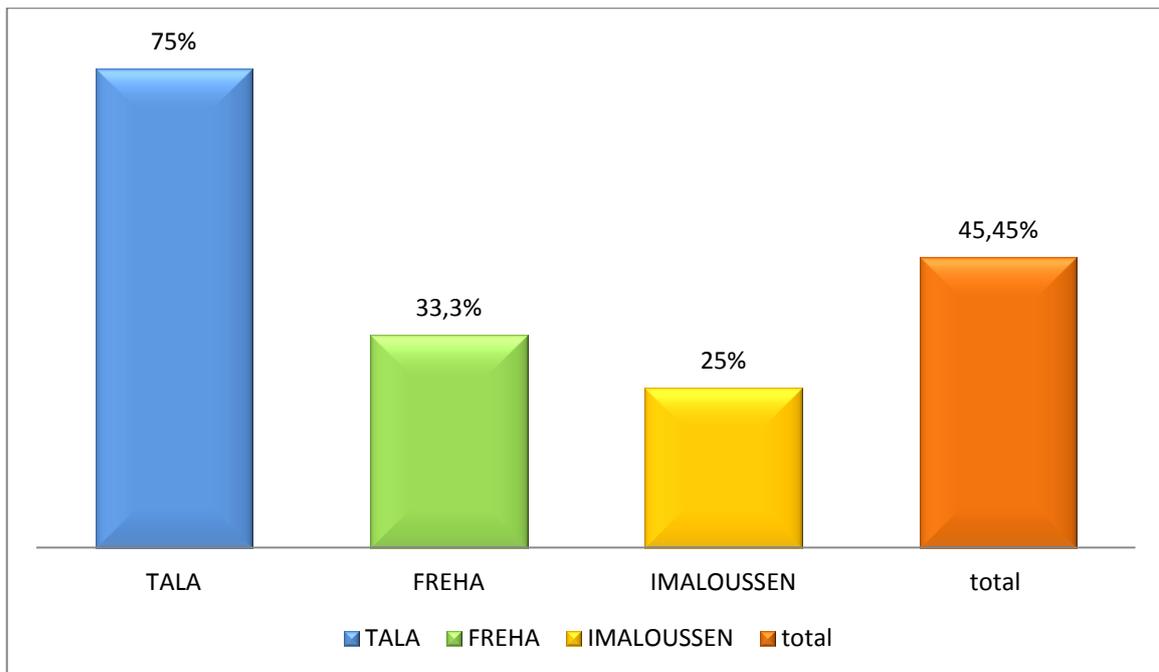
Les résultats obtenus pour *E.coli* sont répertoriés dans le tableau N°15 et la figure N°05 (les prévalences ont été calculées par rapports aux échantillons positifs aux CTT).

**Tableau N°15: Prévalence d'*E.coli* dans les échantillons positifs aux CTT.**

Nombres d'échantillons positifs aux CTT	Prévalence globale à <i>E.coli</i>		Prévalence d' <i>E.coli</i> par centre de collecte (N)		
	N	%	TALA (08)	FREHA (06)	IMALOUSSEN (08)
22	10	45,45%	N	N	N
	06	75%	02	33,33%	02 25 %

N : Nombre d'échantillons positifs

% : Prévalence



**Figure N° 05 : Prévalence d'*E.coli* dans les échantillons positifs aux CTT par centre.**

La figure N°05 et le tableau N°15 montrent que sur les échantillons positifs aux CTT, le centre de collecte de TALA enregistre les taux de contamination à *E.coli*, le plus élevé (75%), suivi de celui de FREHA (33%) et enfin de celui d'IMALOUSSEN où le quart des échantillons était contaminé par *E.coli*.

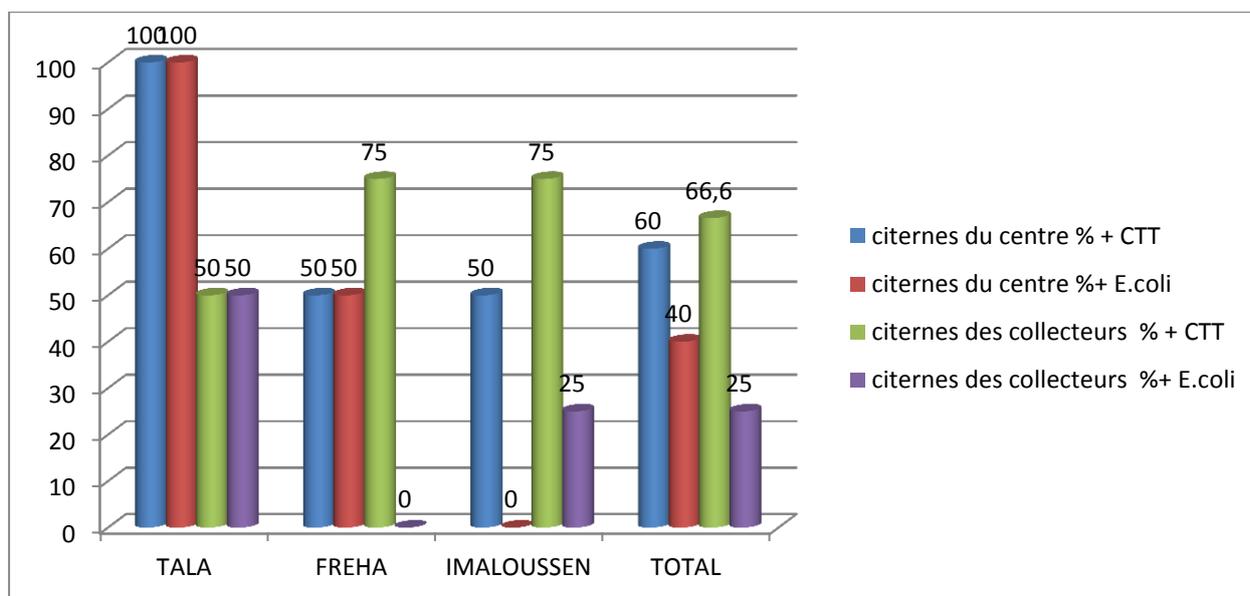
Nous avons réparti les prévalences d'*E.coli* par centre de collectes en prenant en considération même les échantillons négatifs, pour pouvoir estimer sa présence par centre de collecte. Les résultats obtenus sont répertoriés dans le tableau N°15.

### **II.2.1. Répartition de la contamination par *E.coli* dans les différentes citernes des centres :**

La présence des *Escherichia coli* a été répartie pour chaque type de citerne dans les centres comme indiqué dans le tableau N°16 et la figure N°06 :

**Tableau N°16 : Prévalence des *E.coli* dans les échantillons positifs aux CTT selon le type de citernes.**

Centre	Citernes des centres			Citernes de collecteurs		
	Nbre écouvillonnés	(%) +aux CTT	(%) +à <i>E.coli</i>	Nbre écouvillonnés	(%) +aux CTT	(%) +à <i>E.coli</i>
<b>TALA</b>	<b>02</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>08</b>	<b>50%</b>	<b>50%</b>
<b>FREHA</b>	<b>04</b>	<b>50%</b>	<b>50%</b>	<b>08</b>	<b>75%</b>	<b>00%</b>
<b>IMALOUSSEN</b>	<b>04</b>	<b>50%</b>	<b>00%</b>	<b>08</b>	<b>75%</b>	<b>25%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>60%</b>	<b>40%</b>	<b>24</b>	<b>66,6%</b>	<b>25%</b>



**Figure N°06 : La prévalence des *E.coli* dans les échantillons positifs aux CTT selon le type de citernes.**

La figure N°06 et le tableau N°16 montrent que sur un total de 10 citernes de collectes dans les centres 60% sont contaminées par les CTT dont 40 % à *E.coli*. Dans le centre de FREHA, la contamination à *E.coli* n'a été détectée que dans les citernes du centre de collecte à un taux de 50%, alors qu'à IMALOUSSEN, elle n'a été détectée que dans les citernes des collecteurs (25%).

### II.3. Identification des salmonelles :

L'utilisation des galerie Api 20E pour l'identification des *E.coli* a permis aussi d'identifier l'espèce *Salmonella* dans nos échantillons. Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau N°17.

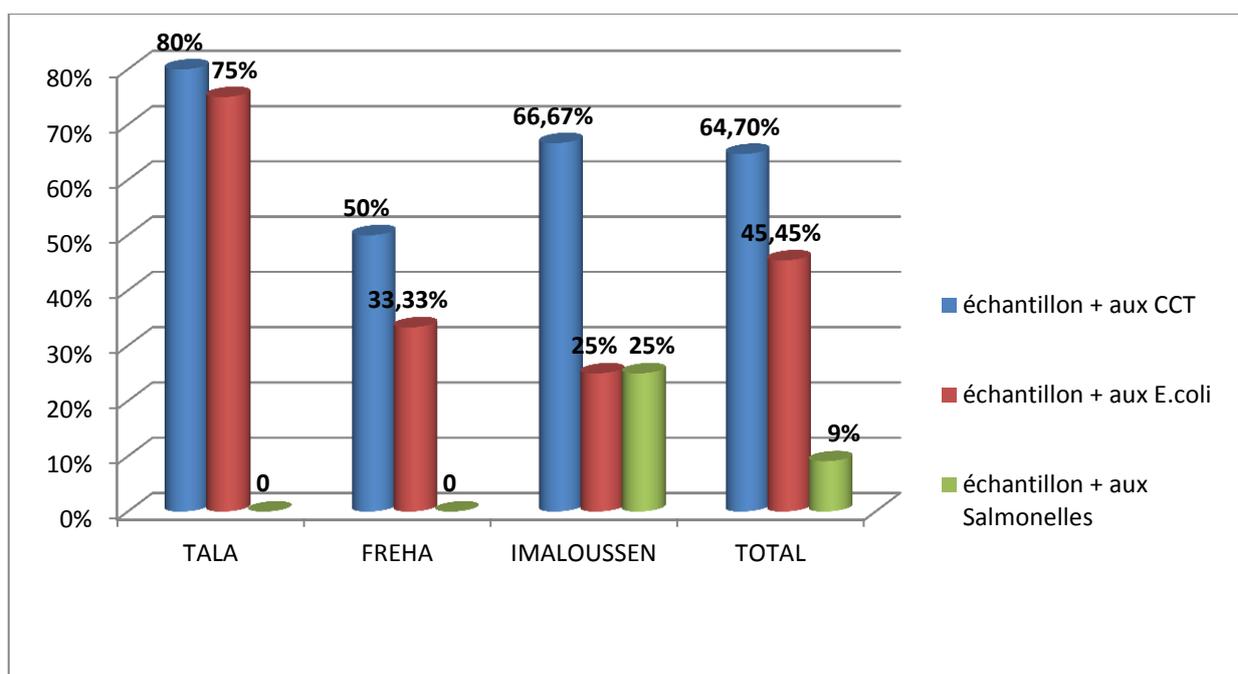
**Tableau N°17 : Prévalence des salmonelles dans les échantillons environnementaux.**

Nombres d'échantillons + aux CTT	Prévalence globale à <i>Salmonella</i>		Prévalence de <i>Salmonella</i> par centre de collecte			
	N	%	TALA	FREHA	IMALOUSSEN	
22	02	9,1%	N	00	N	00
			%	00	%	00
					N	02
					%	25%

Nous avons enregistré la présence des salmonelles avec une prévalence de 25% seulement au niveau du centre de collecte d'IMALOUSSEN. Cette contamination a été observée chez les collecteurs et non dans les citernes du centre.

### II.4. Résultats globaux des différents germes recherchés :

Les différents germes recherchés, les résultats obtenus figurent dans la figure N°07 :



**Figure N°07 : Répartition des différentes contaminations.**

La figure N°07 montre que les CTT ont été enregistrés dans les trois centres à des taux assez élevés, puisqu'ils dépassent les 50%. *E.coli* a été également identifiée dans les trois centres, le centre D'IMALOUSSEN a enregistré le taux le plus bas (25%) mais c'est dans ce centre que *Salmonella* a été identifiée.

### **III. Discussion :**

#### **III.1. Résultats globaux de la recherche des coliformes thermotolérants (CTT) :**

Sur les 34 échantillons de surfaces effectués dans trois centres de collecte de lait cru, 64,70% étaient contaminés par des CTT. Les trois centres de collecte ont enregistré cette contamination à des taux supérieurs à 50%.

Les CTT ne sont généralement pas pathogènes, la recherche des coliformes est utilisée pour refléter les BPF dans les industries agro-alimentaires pour évaluer l'efficacité des opérations de nettoyage-désinfection (McCrary *et al.*, 1932 ; Jay *et al.*, 2005).

Ces résultats montrent une défaillance dans les opérations de nettoyage –désinfection qui peut être à l'origine de la contamination du lait cru collecté dans ces centres. Une étude précédente réalisée dans les mêmes centres de collecte, avec objectif d'évaluer la contamination du lait cru par les coliformes thermotolérants, a montré que 32% du lait analysé étaient contaminés à des taux supérieurs au seuil de l'acceptabilité rapporté par la législation algérienne qui est de  $10^{-3}$ .

Le taux de contamination du lait cru le plus important a été enregistré au centre de collecte de TALA (54,5% sur un total de 15 d'échantillons) et c'est ce centre qui a enregistré la contamination de surface la plus importante (80%) (Ameur *et al.*, 2017).

##### **III.1.1. Répartition de la contamination aux CTT dans les différentes citernes des centres :**

La répartition des contaminations par type de citernes (du centre ou des collecteurs) a montré que 60% et 66,6% des citernes des centres de collecte et celles des collecteurs sont contaminées par les CTT, respectivement.

Nous observons qu'environ 66% des citernes des collecteurs qui ramassent le lait auprès des fermes de la région sont contaminées par des CTT. Ce qui suggère que ce sont ces tanks qui sont à l'origine de la contamination des citernes des centres de collecte.

Les tanks peuvent être contaminés par un lait cru contaminé qu'ils transportent et par la suite devenir eux même source de contamination. Si les opérations de nettoyage-désinfection sont insuffisantes ou incomplètes, il en résulte la persistance des germes dans les tanks sous forme de biofilms qui pérennisent la libération des germes dans le lait. Les biofilms, une fois formés, fournissent aux bactéries un environnement favorable à leur survie tout en les protégeant des flux

de liquides, des changements de pH ou de température ainsi que des agents de nettoyage et d'assainissement chimiques (**Anonyme 05 ,2017**). Un biofilm, lorsqu'il s'est installé, est extrêmement difficile à éliminer. Son élimination nécessite souvent l'utilisation de nettoyeurs perfectionnés contenant des agents oxydants. La meilleure façon de prévenir la formation de biofilms consiste à nettoyer et à assainir rapidement, régulièrement et complètement toutes les surfaces de production des aliments (**Anonyme 05 ,2017**).

### **III.2. Identification des *d'Escherichia coli* :**

Dans les échantillons positifs aux CTT, nous avons identifié *E.coli*. Nous avons réparti la contamination par type de citerne dans les centres.

Nous avons observé qu'au centre de Freha, la contamination par *E.coli* n'a été détecté que dans les citernes du centre et pas chez les collecteurs, ceci suggère que ce germe a été introduit précédemment dans ces citernes et qu'à cause des opérations de nettoyage-désinfection incomplète, ce germe a formé des biofilms et continue à contaminer le lait. Dans une étude menée en même temps pour évaluer la contamination du lait cru dans ce centre, il a été noté que le lait était contaminé par *E.coli* à un taux de (33%) (**Ameur et al., 2017**).

Nous avons également observé qu'à IMALOUSSEN, *E.coli* n'a été détecté que chez les collecteurs, ceci suggère que lait est contaminé dans les fermes ou dans ces tanks. Ces derniers peuvent être une source potentielle de contamination des citernes des centres et faire disséminer cette contamination à d'autres laits.

Nous avons noté également qu'*E.coli* a été identifiée dans les mêmes endroits, dans les prélèvements effectués à 15 jours d'intervalle, ce qui confirme la défaillance des pratiques de nettoyage-désinfection des trois centres et aussi chez les collecteurs durant cette période.

La plupart des souches *d'E.coli* sont inoffensives, seules certaines sont pathogènes et peuvent provoquer des toxi-infections alimentaires (**OMS, 2016**), nous n'avons pas effectué de sérotypage pour voir si les souches retrouvées sont pathogène ou pas, mais nous ne pouvons pas écarter le danger que peuvent représenter ces germes sur la santé du consommateur du lait cru.

En termes d'hygiène alimentaire la présence d'*E.coli* indique une contamination d'origine fécale (**Jay et al. 2005**). Cette contamination proviendrait de l'environnement des fermes laitières (**Hanzen, 2010**). Elle serait liée à une mauvaise hygiène lors de la traite, ustensiles non

désinfectés ou encore aux biofilms que forment ces germes sur les surfaces (**Roux et Ghigo, 2006**) (seaux, machines à traire, citernes de collectes...etc.) se qui contamine le lait cru.

### **III.3. Identification des salmonelles :**

Nous avons enregistré la présence des salmonelles avec une prévalence de 25% seulement au niveau du centre de collecte d'IMALOUSSEN. Cette contamination a été observée chez les collecteurs et non dans les citernes du centre.

*Salmonella* est un germe pathogène qui en fonction de son sérotype peut provoquer des infections et des TIAC graves lorsqu'il contamine le lait cru (**CDC, 2010**). Les laits cru non-pasteurisé et ceux pasteurisés ont été liés à des épidémies de salmonellose (**Rayan et al., 1987**). La contamination a lieu plus fréquemment à partir du milieu extérieur, de l'environnement ou par contact avec les animaux infectés au moment de la traite que par voie intra mammaire (**Brisabois et al., 1997**).

La recherche de l'organisme indicateur *E.coli* comme indicateur de salubrité a permis de juger qu'une contamination d'origine fécale a lieu dans les trois centres (**Jay et al., 2005**) et d'y identifier des défaillances dans les BPF en particulier pour le nettoyage-désinfection. Nous avons également identifié des salmonelles dans les échantillons contaminés par *E.coli*. Ceci confirme leurs associations même dans les échantillons environnementaux. Des études précédentes ont rapporté que la présence d'*E.coli* indiquait la présence probable du pathogène *Salmonella*, ce qui fait d'elle un bon organisme indicateurs de salubrité et de sécurité (**Jay et al., 2005**).

## **Conclusion :**

Notre travail a été réalisé auprès de trois centres de collectes de lait cru dans lesquels nous avons constaté une contamination par les coliformes thermotolérants avec une prévalence très élevée dans le centre de TALA (80%). Nous avons également identifié la présence des *Escherichia coli*, avec une prévalence élevée également dans le centre de collecte de TALA (75%).

La recherche des *E.coli* a permis d'isoler des salmonelles dans les échantillons positifs aux *E.coli* dans le centre d'IMALOUSSEN avec une prévalence de 25%.

Utiliser le germe *E.coli* comme indicateur des BPF et de sécurité a permis de juger des pratiques de fabrication dans le secteur de la collecte du lait, il nous a permis de constater des faiblesses dans les opérations de nettoyage-désinfection et de suggérer que des biofilms à *E.coli* existent et dans les citernes des centres et même chez les collecteurs . La présence de *E.coli* a permis aussi de détecter la présence de *Salmonella* ; agent pathogène à l'origine d'infections graves. Ce qui fait de lui un bon indicateur de sécurité.

## **Recommandations :**

Pour prévenir les différentes sources de contamination, il faut agir à différentes étapes :

### **➤ Hygiène de l'étable :**

Un nettoyage régulier est obligatoire, avec un changement de litière.

Une évacuation adéquate des eaux usées et les urines.

Un nettoyage après chaque opération de traire pour éliminer les jets qui forment une source de contamination et aux mammites.

Séparation des locaux de stabilisation et celle de stockage d'alimentation.

### **➤ Hygiène de la traite :**

Un lavage et nettoyage complet de la mamelle avant la traite.

Élimination des premiers jets.

Séparer le lait des vaches atteintes de maladies, des saines.

Nettoyage des machines à traire.

Stockage du lait dans des conditions convenables.

### **➤ Hygiène du transport et les centres de collectes :**

Les citernes des collecteurs doivent être bien nettoyées à chaque utilisation.

Respect du temps nécessaire pour transporter le lait cru des fermes aux centres pour éviter toute introduction de contaminants.

Au niveau des centres, il faut avoir une bonne application des bonnes pratiques d'hygiène, soit pour le personnel, matériel, ou l'environnement.

Utilisation d'un matériel facile au nettoyage et évitant toute contamination pour le lait collecté.

## Références :

1. **Abdennebi A., 2011.** Evaluation bactériologique de la contamination du lait au cours des étapes de transfert de la ferme à la laiterie. Thèse de Magistère en science vétérinaire, ENSV, Alger.
2. **Ameur H., Ait Saoui Y. et Tiguercha M., 2017.** Contribution à la recherche d'*Escherichia coli* dans le lait cru de collecte dans la Wilaya de Tizi-Ouzou. Projet de fin d'étude, ENSV.
3. **Amgar et Coord. , 1998.** Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires. Asept, Laval, Paris, 238p.
4. **Amrouche, 2010.** Nettoyage et désinfection : les plan de nettoyage [en ligne], Génie Alimentaire. <http://www.genie-alimentaire.com/spip.php?article23> consulté le : 14/11/17.
5. **Anonyme 02, 2012.** Guides de bonnes pratiques d'hygiène collectent de lait cru et fabrication de produits laitiers, les éditions des journaux officiels page 132 consulté le : 29/01/2017.
6. **Anonyme 03, 2014.** Recherche et identification d'*Escherichia coli* dans Leben marocain <https://fr.slideshare.net/mazoudH/recherche-et-identification-descherichia-coli-dans-leben-marocain> téléchargé le: 07/06/17.
7. **Anonyme 04, 2005.** Maitrise de la qualité dans la transformation laitière. Guide de bonnes pratiques d'hygiène. Pp 64-65-66-67-68-71.
8. **Anonyme 05, 2017.** Guide de nettoyage et d'assainissement pour la préparation des aliments d'origine végétale, ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaire rurale, [http://www.omafra.gov.on.ca/french/food/inspection/fruitveg/sanitation\\_guide/cs-guidebook.htm](http://www.omafra.gov.on.ca/french/food/inspection/fruitveg/sanitation_guide/cs-guidebook.htm) , consulté le 16/11/17.
9. **Anonyme01, 2003.** Le lait cru de la ferme. [http://biosol.free.fr/liens/fromage\\_2003/agri.htm](http://biosol.free.fr/liens/fromage_2003/agri.htm) téléchargé le : 08/06/17.
10. **Bensalah et Korib, 2010.** Contribution à l'évaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique de lait cru et diagnostique de brucellose et mammites dans la région de Tlemcen en Algérie. Thèse d'ingénieur d'état en agronomie.
11. **Beuvier et Feutry, 1997.** Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage, INRA, 2005 1-6.
12. **Blancharde, 2012.** Les bonnes pratiques de fabrication pharmaceutique. 2<sup>ème</sup> édition, PYC.

13. **Bonfoh, Roth, Traore, Fane, Simbe, Alfaroukh, Nicolet, Farah et Zinsstag, 2006.** Effect of washing and disinfecting containers on the microbiological quality of fresh milk sold in Bamako (Mali). Food control. 17, P 153-161.
14. **Bouichou, 2009.** Contribution à l'évaluation des pratiques frauduleuses dans le lait à la réception. Thèse en ingénieur zootechnicien.
15. **Boukhalfa B., 2010 .**Contribution à l'étude de la qualité bactériologique du lait cru au niveau de quelques élevages de la wilaya d'Alger, projet de fin d'étude à l'Ecole National Supérieure Vétérinaire 2009/2010.
16. **Bourgeois, Mescle et Zucca, 1998.** Microbiologie alimentaire- aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1. Ed. Lavoisier Tec & Doc. Pp 201-405.
17. **Bourion, 1998.** Etude de la formation et de la désinfection de biofilms mono et bimicrobiens de Pseudomonas aerogensa et Listeria inocua, In Amgar, A. Coord. (Nettoyage et désinfection dans les entreprises alimentaires). Laval : ASEPT,pp 67-72.
18. **Brisabois, Lafarge, Brouillaud, M.-L. de Buyser, Collette, Garin-Bastuji, 1997.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. . <https://www.oie.int/doc/ged/D9153.PDF> Consulté le 06/01/17.
19. **CAC/RCP 57, 2004.** Code d'usages en matière d'hygiène pour le lait et les produits laitiers.
20. **CAU, 1993.** Au fil du lait. 229-254 Centre régional de documentation pédagogique de Bourgogne(CRDP) Dijon.RéfMéd.véto 229-273.
21. **CDC, 2010.** Notes from the Field: Salmonella Newport Infections Associated with Consumption of Unpasteurized Milk --- Utah, April--June 2010. MMWR, **59(26); 817-818,** <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5723a2.htm>, téléchargé le 09/05/17.
22. **CEAEQ, 2000 :** Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24 p.
23. **CELC, 1998.** La microbiologie de lait, centre d'enseignement laitier par correspondance. In : BOUTAKHEDMIT M, BELKACEMI T ,2004 : Analyses microbiologique du lait cru, thèse Ecole Nationale Vétérinaire, page 11.
24. **Choisy et Lenor, 1984.** La réfrigération du lait et ses incidences sur la qualité bactériologique. In : la composition chimique du lait et les incidences technologiques, Compte rendu de journée de Rennes, INRA, ENSA, JNPG, 82p.

25. **Clinique Vétérinaire Des Saulnier, 2000.** <http://www.clinique-veterinaire-des-saulnier.fr/les-services> , consulté : 14/11/17.
26. **Codex Stan 206-1999.** Norme générale codex pour l'utilisation de termes de laiterie.
27. Congrès International de Répression des fraudes tenu à GENEVE EN 1909.
28. **Dellagio, Roissart, Tonini, Curk, Janssens, 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: bactéries lactiques. Ed Loriga. Vol 1, 25-116.
29. **Edberg, SC, EW Rice, RJ Karlin et MJ Allen, 2000.** *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88: 106S-116S.
30. **FAO, 1995.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, Archives de la FAO, téléchargé le 5/4/17. URL: <http://www.fao.org/docrep/t4280f/T4280F01.htm>
31. **FAO, 1995.** Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports, [En ligne] disponible sur : <http://www.Faorg/docrep/003/x6550F04.htm> consulté le 08/11/2017.
32. **FAO/OMS, 2009.** CAC/RCP 57-2004 code d'usages en matière d'hygiène pour le lait et produit laitiers, production animale, 2<sup>ème</sup> édition 2009, P 87.
33. **Fauchere J-L et Avril J-L. 2002.** Bactériologie générale et médicale édition Marketing S.A. p 239.
34. **Faye et Loiseau, 2002.** Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité, Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD) France.
35. **Florand, 1988.** La flore totale du lait. Bull. G.T.V, pp 04-13.
36. **George H., Yoakum et Lawrence Grossman, 1981.** Identification of *E. coli* *uvrC* protein Department of Biochemistry, School of Hygiene and Public Health, The Johns Hopkins University, 615 North Wolfe Street, Baltimore, Maryland 21205, USA.
37. **Gill et Newtonk, 1977.** The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperature. J.Appl. Bacteriol. 43, 189-195.
38. **Gilliand, 1985.** Role of starter culture bacteria in food preservation-In Bacterial starter cultures for food, CRC-Inc., Ed. Boca Raton, USA, 175-185.
39. **Guillaume pierre-Yves, 2004.** Milieu de culture en microbiologie. [http://py.guillaume1.free.fr/pierreyves/site%20microbiologie/page%20les%20milieux%20de%20culture/milieu\\_en\\_boite/desoxycholate.htm](http://py.guillaume1.free.fr/pierreyves/site%20microbiologie/page%20les%20milieux%20de%20culture/milieu_en_boite/desoxycholate.htm) Téléchargé le : 20 MARS 2017.
40. **Guiraud, 1998.** Microbiologie et Alimentation. Tome I, Edition Dunod, Paris. Pages 136-137.

41. **Hamiroune M, 2009.** Contribution à l'étude de la contamination du lait par les staphylocoques et son impact sur la santé humaine p1 mémoire de magistère. Ecole nationale supérieure vétérinaire.
42. **Hanzen, 2010.** La pathologie infectieuse de la glande mammaire, Etiopathogénie et traitements Approche individuelle et de troupeau Année 2009-2010. [http://www.therioruminant.ulg.ac.be/notes/200910/R22\\_Mammites\\_etiopathogenie\\_traitement\\_2010.pdf](http://www.therioruminant.ulg.ac.be/notes/200910/R22_Mammites_etiopathogenie_traitement_2010.pdf). Téléchargé le 09/05/17.
43. **Hart et Shears, 2006** .Atlas de poche –microbiologie 4<sup>ème</sup> édition. p 117.
44. **Hermier, Lenoir et Webel, 1992.** Origine des espèces présentes dans le lait. Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Ed. Tee et Doc Lavoisier, Paris, 300-303.
45. **Jacquet et Thevenot, 1961.** Le lait et froid, édition balliere et file.
46. **James, Jay, Martin, Loessner, et David, 2005.** Modern Food Microbiology. Seventh Edition.
47. **Jay, Loessener et Golden, 2005** .Indicator of food microbial quality and food safety in Modern FOOD microbiology, seventh edition, Springer. pp 473-495.
48. **Jay. J.M; Loessener.M.J et Golden.D.A, 2005** .Indicator of food microbial quality and food safety in Modern FOOD microbiology, seventh edition, Springer. pp 473-495.
49. **Jeuzier et Cohen, 1986.** Manuelle de Réf qualité du lait. FNPL, Paris, 199p.
50. **Kouamé-Sina, Bassa, Dadié, Makita, Grace, Dje et Bonfoh, 2010.** Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire). Revue Africaine de Santé et de Productions Animale. E.I.S.M.V. de Dakar.
51. **Larpent, 1997.** Microbiologie alimentaire, technique de laboratoire, Collection Lavoisier et doc, Pp : 706-759.
52. **Le page, 1999.** Les cellules du lait et de la mamelle, journées nationales GTV-INRA, Nantes, 7,11.
53. **Leefrileux, 2004.** Le Mens, Evaluation du pouvoir contaminant d'une machine à traire : comparaison de 4 méthodes, PEP, Rhône Alpes, caprins, P 26.
54. **Marasco WA SH Phan, Krutzsch H, Showell HJ, 1984.** Journal of Biological-ASBMB Purification and identification of formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine as the major peptide neutrophil chemotactic factor produced by Escherichia coli.
55. **McCrary, M.H., and E.M. Langevin, 1932.** The coliaerogenes determination in pasteurization control. *J. Dairy Sci.* 15:321–329.
56. **Michel et Wattiaux, 2000.** Lactation et récolte du lait. Institut Babcock pour la recherche et le développement international du secteur laitier. UW. Madison, wisconsin pp3-30, 60-72.

57. **Millet L, Melcion D et Devoyod JJ, 1974.** Lait.dairy-journal.org applied and Environmental Microbiology “méthode rapide et sensible pour la détection de la toxine shiga-like production d’Escherichia coli dans le boeufs haché à l’aide de la réaction en chaine par polymérase. La flore microbienne du fromage de Cantal fabriqué à partir de lait cru. I.-Techniques d’études et résultats préliminaires.
58. **Murphy et Boor, 2008.** Source and causes of high bacteria counts in raw milk, an abbreviated review, Cornell University, Ithaca, NY.
59. **OMS, 1994.** Directives de qualité pour l’eau de boisson; volume 1 – recommandations. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 202 p.
60. **OMS, 2000.** Directives de qualité pour l’eau de boisson; volume 2 – critères d’hygiène et documentation à l’appui. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 1050p. Accessible à : [www.who.int/water\\_sanitation\\_health/GDWQ/Summary\\_tables/](http://www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables/)
61. **OMS, 2016.** Escherichia coli (E. coli), Aide-mémoire N°125, Octobre 2016 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/fr/>, téléchargé le 08/05/17.
62. **Perrin Jean-François, 2004.** Systématique en microbiologie. Notion d'espèce. Classification mixte consensuelle en bactériologie (d'après la nomenclature du Bergey's Taxonomic Outline).
63. **Rahal, 2009.** Amélioration de la production laitière en Algérie. De l’hygiène de la traite au contrôle laitier. Revue Magvet. 62. P 19-23. [Machine/cleaning/03%20IDF%20CIP%20Bulletin.pdf](http://www.machinerepair.com/cleaning/03%20IDF%20CIP%20Bulletin.pdf), consulté le: 05/11/2017.
64. **Rayan , Nickels, Hargrett-Bean , Potter , Endo, Mayer , Langkop , Gibson , McDonald , Kenney, 1987.** Massive outbreak of antimicrobial-resistant salmonellosis traced to pasteurized milk. JAMA.258(22):3269-74.
65. **Règlement (CE) n°853, 2004.** Du parlement Européen et du conseil de 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d’hygiène applicable aux denrées alimentaires d’origine animale.
66. **Richard et Braquehaye, 1985.** Les bactéries coliformes du lait cru. Sei.Aliments, Ed Lavoisier (5), 21-24.
67. **Roux et Ghigo, 2006.** Les biofilms bactériens, communications 261, Bull. Acad. Vêt. France — 2006 - Tome 159 - N°3. <http://www.academie-veterinaire-defrance.org>
68. **Schardinger, F. 1892.** Uber das Vorkommen Gahrung erregender Spaltpilze im Trinkwasser und ihre Bedeutung fur die hygienische Beurtheilung desselben. *Wien, Klin. Wachr.* 5:403–405, 421–423.

69. **Siousarran V., 2003.** Hygiène du lait cru en zone urbaine et périurbaine de Niamey, Neiger, Diplôme de spécialisée production animale en région chaude.
70. **Srairi et Hamama, 2006.** Qualité globale du lait cru de vache au Maroc, Transfert de technologie en agriculture, MADRPM/DERD, n°137,2006. 1-4.
71. **Stephanie, 2003.** Hygiène et entretien des locaux, des équipements, des matériels, des revêtements et des textiles. Entretien : nettoyage et désinfection [en ligne]. <http://www.mas.stephanie.free.fr> consulté le 15/11/17.

## Résumé :

Le lait cru constitue un milieu favorable à la croissance de plusieurs espèces de microorganismes provenant de différentes sources de contaminations essentiellement la défaillance des BPF.

Notre étude expérimentale a porté sur la recherche et l'identification des *Escherichia coli* suite à une étude ultérieure ; à partir de 34 prélèvements de surface dans trois centres de collecte dans la région de Tizi-Ouzou. Sur les 34 prélèvements de surface analysés 75% étaient positifs à *Escherichia coli* au niveau du centre de TALA. La recherche d'*E.coli* a permis également d'identifier *Salmonella spp* avec une prévalence de 25% à Imaloussen. L'utilisation d'*E.coli* comme indicateurs des BPF et de sécurité a permis de juger des pratiques de fabrication dans le secteur de la collecte du lait, il nous a permis de constater des faiblesses dans les opérations de nettoyage-désinfection.

La présence d'*E.coli* a permis de détecter la présence de *Salmonella*. Ce qui fait de lui un bon indicateur de sécurité.

**Mots clés :** lait cru ; *Escherichia coli* ; *Salmonella spp.* ; BPF.

## Abstract:

Raw milk is a favorable environment for the growth of several species of microorganisms from different sources of contamination mainly the failure of GMP.

Our experimental study focused on research and identification of *E.coli* following a subsequent study, from 34 surface samples in three collection centers in the region of Tizi-Ouzou. Out of 34 surface samples analyzed, 75% were positive at the center of TALA. The search of *E.coli* also helped to identify *salmonella spp* with a prevalence of 25% in Imaloussen. The use of *E.coli* as an indicator of GMP and safety made it possible to judge manufacturing practices in the milk collection sector; it allowed us to note weaknesses in the cleaning-disinfection operations.

The presence of *E.coli* detected the presence of *Salmonella*, which makes him a good indicator of security.

**Key words:** Raw milk, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, GMP.

## ملخص

يعتبر الحليب الطازج وسطا ملائما لتكاثر البكتيريا

ركزت دراستنا التجريبية على البحث و التعرف على ايشيريشيا كولي بعد دراسة سابقة من اربعة و ثلاثون عينة سطحية تم تحليلها في ثلاثة مراكز تجميع الحليب في منطقة تيزي وزو حيث نسبة كبيرة وجدت في تالا كما ساعد البحث على اوكولي في تحديد سالمونيلا بالنسبة الكبرى في امالوسن استخدام اوكولي كمؤشر لممارسات التصنيع الجيدة والامان اهله الى الحكم على عملية التصنيع في قطاع جمع الحليب و ضعف عمليات التنظيف و التطهير

كلمات مفتاح: الحليب الطازج, ايشيريشيا كولي, سالمونيلا, مؤشر النظافة .