

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
ÉΠΩæ
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

—
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE - EL HARRACH
ALGER

Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme de Magistère en Sciences Vétérinaires
Option : Hygiène et Sécurité Alimentaire

Thème

QUALITE MICROBIOLOGIQUE, PHYSICO-
CHIMIQUE ET TOXICOLOGIQUE DES LAITS
INFANTILES DANS LA WILAYA D'ALGER

Présente Par : Dr. Zenad. Wahiba

Devant le Jury :

Président	: BOUKHORS. K.T	Maître de Conférences classe A	ENSV. Alger
Promoteur	: TEMIM.S	Maître de Conférences classe A	ENSV. Alger
Co-Promoteur	: HAMDJ.M.T	Maître de Conférences classe A	ENSV. Alger
Examineur	: BENDEDOUCHE.B	Maître de Conférences classe A	ENSV. Alger
Examineur	: BENOUDAHA.A.	Maître de Conférences classe A	UBBA.
Examineur	: CHAHED.A	Maitre assistante classe A	ENSV. Alger

Année Universitaire : 2009/ 2010

Remerciements

Au terme de ce travail, mes vifs remerciement et mes sincères reconnaissances s'adressent à Mr L.GUEZLANE, Professeur, Directeur des l'ENSV pour m'avoir permis de progresser dans ma carrière.

Je suis particulièrement honorée de pouvoir compter parmi les membres de mon jury :

- Docteur K.BOUKHORS, maître de conférences à l'Ecole Nationale supérieur Vétérinaire d'el Harrach pour avoir accepte de présider le jury.
- Docteur B.BENDEDOUCHE, directeur des études et Maître de Conférences à l'Ecole Nationale supérieur Vétérinaire d'El Harrach.
- Docteur A.CHAHED, maître assistance à l'Ecole Nationale supérieur Vétérinaire d'el Harrach.
- Docteur A.BENOUADAH, Maître de Conférences.

Je les remercie infiniment pour l'intérêt qu'ils ont voulu me porter en acceptant de participer à mon jury.

Mes remerciement les plus sincères et respectueux à mon co-promoteur, Docteur M.T. HAMDI, pour sa disponibilité, son soutien et d'avoir toujours apporté des réponses à mes questions et préoccupations, malgré son emploi du temps chargé.

Je tiens à remercier fortement ma promotrice S.TEMIM, pour ces précieuses orientations.

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements au Mr FERAGH du laboratoire central de police scientifique et technique, pour avoir bien voulu m'accueillir au sein de son service.

Je remercie Mr Zadi responsable du laboratoire de physico-chimie et toxicologie d'avoir mis à ma disposition les moyens matériels et humains pour réaliser mon travail dans de bonnes conditions.

Je remercie très respectueusement Mme AZZAG responsable du laboratoire microbiologie à ENSV pour son aide précieuse et les conditions de travail si agréables.

Enfin je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à Mme R. BOUABDALLAH, M.REBOUH et à S.ZENIA pour tout l'aide qu'ils m'ont fournie.

Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste mémoire :

A mes très chers parents, qui grâce à eux j'ai pu atteindre ce niveau et ceux à qui je dois beaucoup de respect. Aujourd'hui, c'est autant un plaisir qu'un devoir pour moi de vous remercier pour votre amour, votre grande patience et vos sacrifices.

A mon époux qui a su être patient, compréhensif et disponible. Je n'oublierai jamais son soutien et ses encouragements et pour ma petite fille SABRINE que dieu la protège.

A mes très chères frères et sœurs que dieu vous bénisse.

A mon beau père que dieu le protège

A mes belles sœurs et beaux-frères qui sont très chers à mon cœur

A toute personnes ayant contribué à réaliser ce travail et à ceux qui me portent dans leur cœur.

A tout mes condisciples d'Ecole National Veterinaire d' El Harrach.

Liste des figures

Figure 1 : Processus de fabrication des préparations en poudre pour nourrissons	Page n°6
Figure2 : Sources de contamination du lait en éléments toxiques	Page n°42
Figure 3: Le protocole d'échantillonnage	Page n° 45
Figure 4 : Spectrophotomètre d'absorption atomique	Page n°47
Figure 5 : lampe à cathode creuse (plomb).	Page n° 47
Figure 6 : lampe à cathode creuse (cadmium).	Page n° 47
Figure 7: Colonies de coliformes fécaux (Photo personnelle)	Page n° 50
Figure8: Test Indole + (Photo personnelle)	Page n° 51
Figure 9: Test de fermentation du glucose	Page n° 54
Figure 10: Colonies caractéristique des anaérobies sulfito-réducteurs (Photo personnelle).	Page n° 55
Figure 11: Méthode d'acido-butyrometriquee (photo personnelle)	Page n° 62
Figure 12: Détermination de la teneur en matière grasse	Page n° 63
Figure 13: Méthode de DUMAS (rapide NIII) (photo personnelle)	Page n° 64
Figure 14: Taux de contamination des échantillons par la FAMT(%)	Page n° 67
Figure 15: Taux de contamination des échantillons par les coliformes totaux (%)	Page n° 68
Figure 16: Taux de contamination des échantillons par les coliformes fécaux (%)	Page n° 69
Figure 17: Taux de contamination des échantillons par les Clostridium sulfito-réducteur (%)	Page n° 70
Figure 18: Taux de contamination par les Staphylococcus aureus	Page n° 71
Figure 19: Taux de contamination des échantillons par les levures et moisissures	Page n° 72
Figure 20: Les valeurs moyennes de pH des échantillons testés	Page n° 73
Figure 21: Les valeurs moyennes des taux d'Humidité des échantillons analysés	Page n° 74
Figure 22: Les valeurs moyennes de la MS des échantillons analysés	Page n° 76
Figure 23: Les valeurs moyennes de taux d'acidité des échantillons testés	Page n° 75
Figure 24: Les valeurs moyennes de Chlorure des échantillons testés	Page n° 76
Figure 25: Les valeurs moyennes de la matière grasse des échantillons analysés	Page n° 77
Figure 26: Les valeurs moyennes des protéines des échantillons analysés	Page n° 78

Figure 27 : Les teneurs en plomb des différents types de lait selon la source Page n° 81

Figure 28: Les teneurs en cadmium des différents types de lait selon la source Page n° 82

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition chimique du lait de vache.....	Page n° 7
Tableau 2: Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache.....	Page n° 8
Tableau 3 : Comparaison des compositions de lait femme et du lait de vache.	Page n° 11
Tableau 4: Normes codex pour la composition des préparations lactées.....	Page n° 17
Tableau 5: les différents types de préparations lactées pour nourrissons.....	Page n° 18
Tableau 6 : Traitements thermiques des préparations lactées.....	Page n° 23
Tableau 7: Dénaturation complète par la chaleur des diverses fractions ... protéiques	Page n° 24
Tableau 8: Effets de divers traitements thermiques sur la perte..... vitaminique	Page n° 25
Tableau 9 : Effet des contaminations microbiennes.....	Page n° 28
Tableau 10: les caractéristiques chimiques du plomb et du cadmium.....	Page n° 31
Tableau 11: Récapitulatif des valeurs toxicologiques de référence proposées par différents organismes	Page n° 32
Tableau 12: Principales sources de métaux lourds dans l'alimentation (Mode de contamination de l'élément)	Page n°41
Tableau 13: présentation et répartition des quatre marques de lait en poudre analysées	Page n° 46
Tableau 14 : Taux de contamination des échantillons par la FAMT	Page n° 67
Tableau 15 : Taux de contamination des échantillons par les coliformes.	Page n° 68
Tableau 16 : Taux de contamination des échantillons par E-coli.	Page n° 69
Tableau 17 : Taux de contamination des échantillons par Clostridium sulfito- réducteur.	Page n° 70
Tableau 18: Taux de contamination des échantillons par Staphylococcus aureus	Page n° 71
Tableau 19 : Taux de contamination des échantillons par les levures et moisissures	Page n° 72
Tableau 20 : les paramètres physicochimique	Page n° 79
Tableau 21 les teneurs en plomb des différents types du lait (mg/l) chez les détaillants et les grossistes	Page n° 80

Tableau 22: les teneurs en cadmium des différents types du lait (mg/l)
chez les détaillants et les grossistes

Liste des abréviations

TP : Le taux protéique.

AFSSA : L'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

FAO: Food and Agriculture Organisation

AFNOR : Association Française de Normalisation

OMS: Organisation mondiale de la santé.

EWRS: Early Warning and Reponse System.

Pb: Plomb

Cd: Cadmium

IARC : Centre International de Recherche sur le Cancer.

DJT : Dose Journalière Tolérable.

VTR : Valeurs Toxicologiques de Référence.

JECFA: Joint FAO/OMS Expert Committee on Food Additives.

DHTP: Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire

IPCS: International Programme on Chemical Safety

ATSDR: Agency for Toxic Substance and Disease Registry

IRIS: Integrated Risk Information System

EPA: Agence de Protection de l'environnement

FDA: Food and Drug Administration

INVS: Institut de veille sanitaire

CSHPPF : Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France

PCA: Plate Count Agar

OGA: Gélose Oxytetracycline Agar)

VRBL: Gélose Lactose Biliée au Cristal Violet et au rouge neutre

VF: Gélose Viande Foie.

BHIB: Milieu Cerveau-Cœur.

TSE: Tryptone Sel Eau.

EPT: Eau peptonée tamponnée

Aw: Activity of Water

Les unités de mesure

g: Gramme

ug: Microgramme

mg: Milligramme

l: Litre

1g= 10^3 mg

1mg= 10^3 ug

1ppm (partie par million)=1mg/kg

1ppb (partie par billion)=1ug/kg

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux, figures

Liste des abréviations.

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

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I Le lait.....	4
--------------------------------	----------

I. Définition... ..	4
---------------------	---

II. Les types de lait commercialisés	4
--	---

II.1.Le lait cru	4
------------------------	---

II.2. Le lait concentré	5
-------------------------------	---

II.3. Le lait pasteurisé	5
--------------------------------	---

II.4. Le lait stérilisé	5
-------------------------------	---

II.5. Le lait UHT (ultra-haute température).....	5
--	---

III. Composition	6
------------------------	---

III.1. L'eau	8
--------------------	---

III.2. Glucides	8
-----------------------	---

III.3. Composés azotés	8
------------------------------	---

III.4. Matières minérales et salines	8
--	---

III.5. Vitamines	8
------------------------	---

Chapitre II. Lait maternel et lait de vache : étude comparative.....	9
---	----------

I. Etude comparative du lait de femme et du lait de vache.....	9
---	----------

I.1. protéines et substances azotées.....	10
---	----

I.2.lipides.....	10
------------------	----

I.3.Glucides.....	10
-------------------	----

I.4. Matières minérales	11
-------------------------------	----

I.5. Vitamines	12
----------------------	----

I.6.Energie	12
-------------------	----

II. Lait de vache et formulations infantiles	12
---	-----------

II.1. Modifications apportées aux lipides	12
---	----

II.2. Modification apportées aux protéines	13
II.3. modifications apportées aux sels minéraux	13
II.4. modification apportées aux glucides.....	13
III. préparations lactées pour nourrissons.....	14
III.1.Définition	14
III.2.Composition	14
III.3. Différents types de préparations	15
III.4. Procédé de fabrication de préparation du lait en poudre pour nourrisson.....	17
III.5. Valeur nutritive	18
III.5.1.Conséquences nutritionnelles des traitements thermiques des préparations lactées	21
III.5.1.1.Traitements thermiques des préparations lactées	21
III.5.1.2 Effets des traitements thermiques	22
III.5.1.2.1. Effets sur les protéines du lait	22
III.5.1.2.2.Effets sur les glucides	23
III.5.1.2.3.Effets sur les constituants lipidiques	23
III.5.1.2.4.Effets sur du traitement thermique sur les minéraux	24
III.5.1.2.5. Effet de la chaleur sur les vitamines	24
III.5.2.Homogénéisation	24
III.5.3. Effets de stockage	25
III.5.3.1.Effet de l'humidité	25
III.5.3.2.Effet de l'oxygène	25
III.5.3.3. Conséquences des rayonnements	26
III.5.4. Influence des contaminations sur la santé du nourrisson	26
III.5.4.1.contamination microbienne	26
III.5.4.2. contamination par les métaux lourds	28
Chapitre III. Contamination par les métaux lourds de la filière laitière.....	29
III.1.Définition	30
III.2.les métaux lourds toxiques.....	31
III.2-1-Plomb.....	31
III.2.1.1.Propriétés	31
III.2.1.2.usages du plomb	31
III.2.1.3. Sources d'exposition au plomb.....	32

III.2.1.3.1.Contaminations environnementale.....	32
III.2.1.3.2.Concentrations dans l'eau.....	32
III.2.1.4. Exposition	32
III.2.1.5.Toxicocinétique.....	32
III.2.1.6. Effets sur la santé.....	33
III.2.1.6.1.Toxicité aiguë	33
III.2.1.6.2.Toxicité chronique	33
III.2.1.7.Valeurs de référence.....	35
III.2.2.cadmium.....	37
III.2.2.1.Généralités	37
III.2.2.2.Présence dans l'environnement	37
III.2.2.3.Pharmacocinétique et le métabolisme.....	38
III.2.2.4.Effets sur la santé.....	39
III.2. 2.5 .Recommandations de l'OMS.....	39
III.3. Contamination des aliments par les métaux lourds.....	40
III.3.1.Présentation générale.....	40
III.3.2. La contamination au niveau de la filière laitière.....	41
III.3.3. Recommandations.....	41

ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre IV Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes.....	43
I.1. Matériels.....	43
I.1.1. Echantillonnage	43
I.1.1.1. Présentation de l'échantillon du produit analysé.....	43
I.1.1.2. Echantillonnage.....	43
I.1.2. Matériels	45
I.1.2.1. Analyses microbiologiques	45
I.1.2.2. Analyses physico-chimiques	45
I.1.2.3. Analyses toxicologiques.....	46
I.2. Méthodes	46
I.2.1.Analyses microbiologiques	46

I.2.1.1. Préparation de la solution mère	47
I.2.1.2. Préparation des dilutions décimales	47
I.2.1.3. Recherche et dénombrement de différents microorganismes.....	47
I.2.1.3.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale à 30°C ..	47
I.2.1.3.2. Recherche et dénombrement les coliformes totaux et fécaux	48
I.2.1.3.3. Recherche d'Escherichia coli.....	49
I.2.1.3.4. Staphylococcus aureus.....	50
I.2.1.3.5. Anaérobies sulfito-réducteurs.....	53
I.2.1.3.6. Recherche et Dénombrement des levures et moisissures.....	54
I.2.1.3.7. Recherche des Salmonelles	55
I.2.2. Analyses physico-chimiques.....	56
I.2.2.1. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)	56
I.2.2.2. Détermination de la matière sèche	56
I.2.2.3. Détermination du taux d'humidité	57
I.2.2.4. Mesure de l'acidité titrable.....	58
I.2.2.5. Dosage des chlorures	58
I.2.2.6. Détermination de la teneur en matière grasse	60
I.2.2.7. Détermination de la teneur en protéines	62
I.2.3. Analyses toxicologiques	64
I.2.3.1. Principe	64
I.2.3.2. Préparation des nacelles et de la verrerie	64
I.2.3.3. Solutions étalons	64
I.2.3.3.1. Cadmium.....	64
I.2.3.3.2. Plomb	65
I.2.3.4. Mode opératoire	65
I.2.3.5. Paramètres d'analyses	66
I.2.3.5.1. Cadmium	66
I.2.3.5.2. plomb	66
I.2.3.6. Calculs	66
1.2.4. Analyses statistiques.....	67

Chapitre V .Résultats

I. résultats des analyses microbiologiques	68
I.1.Flore aérobie mésophile totale (FAMT).....	68
I.2.Coliformes totaux.....	69
I.3.Coliformes fécaux.....	70
I.4. Clostridium sulfito-réducteur.....	70
I.5.Staphylococcus aureus.....	71
I.6. levures et moisissures.....	72
I.7.salmonelle.....	73
II. Les paramètres physicochimiques dans différents types de lait et selon la source	73
• p H	74
• L'humidité	74
• Matières sèches	75
• Acidité.....	76
• La teneur chlorures	77
• Teneur en matières grasses.....	77
• Teneur en protéines	78
III. Teneurs en métaux analysées dans différents types de lait et selon la source.....	78
III.1. Le plomb.....	78
III.2. Le cadmium	79
Chapitre VI. Discussion.....	81

Conclusion et Recommandations

Références bibliographiques

Annexes

L'allaitement maternel a constitué depuis toujours le mode alimentaire naturel et, jusqu'à récemment, quasi exclusif des nouveau-nés et nourrissons. Le XXe siècle a marqué un tournant dans l'histoire de l'allaitement de ces derniers, avec le développement de l'alimentation artificielle, basée essentiellement mais non exclusivement sur l'emploi du lait de vache.

Ces dernières années, nous avons pu noter un développement de l'offre en matière de lait infantile avec pour but de rapprocher les laits industriels le plus possible du lait maternel.

Il faut cependant signaler que les préparations en poudre pour nourrissons qui satisfont aux normes actuelles ne sont pas stériles et qu'elles peuvent contenir de faibles concentrations d'agents pathogènes. Les technologies de fabrication actuelles ne permettent pas d'éliminer complètement les risques de contamination microbienne ou autre (OMS, 2004).

Les laits de substitution fabriqués à partir de produits variables suivant les marques, ont tous en commun le fait de ne pas être d'origine humaine. L'histoire des laits de substitution est une longue suite de découvertes des déficiences de sa composition (Minchin, 1993).

D'autre part, les laits de substitution sont un produit industriel, et en tant que tel, ils sont soumis à des erreurs de fabrication parmi lesquelles nous citerons:

- Un taux trop bas d'acide folique et de vit C pouvant provoquer des anémies mégaloblastiques ;
- Une teneur trop élevée en protéines cause des déshydratations, avec urémie et lésions cérébrales ;
- Des marques de lait de substitution déficientes en chlorure ont provoqué de graves désordres métaboliques. Le cerveau est particulièrement sensible à une déficience en chlorure.

Depuis les années 80, ce genre de problème est devenu rare : la réglementation est devenue beaucoup plus stricte, et les contrôles plus rigoureux. Cependant, des erreurs restent toujours possibles, qui pourront provoquer de graves troubles de santé chez les enfants qui auront consommé ces laits (Minchin, 1993).

La contamination non microbienne des aliments est aussi une source non négligeable, notamment des résidus des métaux lourds tels que le plomb, l'aluminium, le cadmium et le mercure, des résidus chimiques provenant de pesticides et d'engrais divers ont tous été détectés dans les aliments commerciaux pour bébés (Renner, 1989).

Il peut y avoir d'autres agents contaminants dans les aliments artificiellement produits, y compris dans les laits artificiels, dans l'eau avec laquelle les produits sont mélangés, les boîtes dans lesquelles les produits sont stockés et souvent dans les biberons utilisés pour nourrir les bébés.

L'utilisation d'ingrédients génétiquement modifiés (tels que le soja dans les laits en poudre à base de soja), et l'adjonction au lait en poudre de composants créés par modification génétique, représentent de nouveaux risques. De la mélamine a plusieurs fois été volontairement introduite dans des aliments pour faire croire qu'ils étaient plus riches en protéines. En mai, en juillet et en septembre 2008, quatre bébés chinois sont morts et des dizaines de milliers sont tombés malades après avoir absorbé du lait artificiel pour nourrisson contaminé : on y avait ajouté de la mélamine (Klaudia Lee, 2008).

Bien qu'ils ne soient pas des agents contaminants chimiques, le risque qu'ils posent souligne l'importance de l'allaitement comme choix le plus sain.

Le lait maternel est la première et seule nourriture du nouveau-né ; son rôle dans la maturation du système nerveux central et des fonctions immunitaires est fondamental. Après le sevrage, la consommation de lait non maternel par l'enfant pose le problème des éventuelles conséquences digestives, neurologiques et immunitaires. Des efforts d'information de la part des praticiens sont essentiels pour enrayer le déclin de l'allaitement maternel observé dans les pays industrialisés (Massol, 1998).

En Algérie la production laitière infantile étant nulle, l'état algérien à recours à l'importation de ces laits.

L'état algérien, procède au contrôle systématique organoleptique et microbiologique de tous les laits importés

Notre objectifs est d'encourager et protéger l'allaitement au sein et d'autre part à contrôler les pratiques de commercialisation des produits pour l'allaitement artificiel.

Ce travail a été réalisé dans différents laboratoires (ENSV, ITELV et Laboratoire scientifique) sur une période de 1ans : décembres 2007-2008

Notre étude a porté non seulement sur les analyses microbiologiques, mais également sur les aspects physico-chimiques et toxicologiques (plomb, cadmium) de ces laits infantiles importés.

Notre travail se compose de deux parties:

- v L'une bibliographique ou seront développés :
 - § Des généralités.
 - § L'allaitement maternel et le lait de vache.
 - § Et les métaux lourd et expositions alimentaire.

- v La seconde partie comprend :
 - § Les matériels et méthodes utilisées.
 - § Les résultats et leur discussion.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

I. Définitions

La dénomination « lait » est définie par la réglementation européenne (règlement C.E.E. n°1898/87 du Conseil du 2 juillet 1987) précisant que ce terme **«est réservé exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction»**.

IL est riche en substances nutritives: glucides (dont le lactose), protides (dont les caséines), lipides, sels minéraux, vitamine. Il assure la couverture de tous les besoins alimentaires des nouveau-nés (Massol, 1998).

Selon le premier congrès international de la répression des fraudes alimentaires tenu à Genève en 1908, le lait est définit comme suit: « Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (Bourgeois et al. 1996).

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 désigner par la dénomination « lait » suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient (Décret du 25 mars 1924, modifié, portant application de la loi du 1^{er} août 1905 en ce qui concerne le lait et les produits de la laiterie).

II. Les types de lait commercialisés

Dans le marché local, différents types de présentation de lait sont commercialisées, à savoir:

II.1. Le lait cru

Ce type de lait présent un Aw (activity of water) élevée, rendant possible le développement de micro-organismes. Différentes bactéries peuvent alors être présentes: *streptocoques*, *staphylocoques*, *salmonelles*, *Listeria*....).

La définition réglementaire du lait cru a été établie en 1909, elle est donnée par l'article 2 de la directive CEE 92/46, il s'agit d'un lait non chauffé au-delà de 40 °C et n'ayant subi aucun traitement d'effet équivalent.

II.2. Le lait concentré

Il est obtenu à partir de lait entier ou de lait écrémé, dont 60% de l'eau a été évaporée sous vide.

Selon la norme n° A-3 (1971) du Code des principes FAO/OMS, le lait concentré a une teneur minimum en matière grasse laitière de 7,5% et une teneur minimum en extraits secs laitiers de 25 %, Le lait écrémé concentré a une teneur minimum en extraits secs laitiers de 20% (Lupien, 1987).

II.3. Le lait pasteurisé

Le lait pasteurisé est le lait soumis à un traitement thermique à moins de 100 °C (entre 72 et 85°C) aboutissant à la destruction de la presque totalité de la microflore banale et de la totalité de la microflore pathogène, en s'efforçant de ne pas affecter notamment la structure physique du lait, son équilibre chimique, ses enzymes et ses vitamines (Lupien, 1987).

II.4. Le lait stérilisé

La stérilisation simple est un procédé de longue conservation. Préalablement conditionné dans un emballage hermétique, le lait est chauffé à 115°C pendant 15 à 20 minutes, puis rapidement refroidi (Lupien, 1987).

II.5. Le lait UHT (ultra-haute température)

Il s'agit de lait soumis à un traitement thermique à des températures élevées (140°C à 150°C) aboutissant à la destruction ou à l'inhibition totale des enzymes, des micro-organismes et de leurs toxines dont la présence ou la prolifération pourrait altérer le lait ou le rendre impropre à la consommation(Lupien, 1987).

II.6. Le lait déshydraté

Ce type de lait est obtenu par élimination de l'eau du lait, à partir de laits préalablement pasteurisés

Plusieurs types de produits déshydratés sont mis sur le marché local :

Ø- Laits en poudre spray

Ø- Laits en poudre pour alimentation infantile. Les laits infantiles

Ce sont des laits en poudre spécialement conçus pour s'adapter aux besoins des

nourrissons. Leur dénomination légale est: "aliment lacté diététique pour nourrisson".

Ø -Laits en poudre instantanés.

La déshydratation des laits engendre une augmentation de leur stabilité. Malgré cette stabilisation, ce ne sont pas des produits stériles. En effet, des bactéries sporulées ou non, aérobies ou anaérobies, mésophiles ou thermophiles, des salmonelles et des staphylocoques peuvent subsister après déshydratation de ces poudres de lait. Les laits déshydratés restent donc des aliments sensibles (Lupien, 1987).

III. Composition

Le lait est un substrat très riche fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet où des protides, des glucides, des lipides, des sels minéraux et des vitamines sont présents à des concentrations tout à fait satisfaisantes pour la croissance (Bourgeois et al. 1996).

Le lait se compose de quatre phases (Adrian et al. 1995) :

- **Une phase gazeuse**, composée essentiellement du CO_2 au moment de la traite.
- **Une phase grasse**, composée des globules gras (2 à 5 μm de diamètre) qui renferment les lipides et les éléments liposolubles. Les globules gras sont entourés de phospholipides et d'une membrane protidique.
- **Une phase colloïdale**, comportant les micelles de caséine associées à des phosphates et citrates de calcium et de magnésium.
- **Une phase aqueuse**, qui contient les protéines solubles (protéines du lactosérum), du lactose et des minéraux (électrolytes)

Les caractéristiques physico-chimiques du lait sont regroupées dans les tableaux 1 et 2.

Tableau 1 : Composition chimique du lait de vache (Adrian et al. 1995).

Composition	Valeur moyenne	Composition	Valeur moyenne
Matière sèche (g)	12,50	Vitamines Vit A retinol (UI) Carotènes Vit D AC calciférol (UI) Vit C AC ascorbique (mg) Vit B• thiamine (mg) Vit B• Riboflavine (ug) Vit pp nicotinamide (ug) Vit BŠ pyridoxine (mg) Vit B• AC folique (ug) Vit B•• cyanocobalamine (mg)	1500 0,25 40 20 0,4 175 90 0,6 0,2 0,006
Matière énergétique (kcal)	67,00		
Eau	90,5		
Protéines (g)			
Totaux	3,50		
Caséine	2,80		
Lactosérum	0,70		
Alpha-lactoglobulines	0,20		
Beta- lactoglobulines	0,35		
Immunoglobulines	0,05		
Glucides (g)		Enzymes : UI Alpha amylase Catalase Lipase Peroxydase Phosphatase alcaline Phosphatase acide	18.10² 0 110 21.10 ³ 160 70
Totaux	4,90		
Lactose	3,00		
Oligosaccharides	Traces		
Lipides			
Totaux (g)	3,60		
Acide linoléique	3,00		
Cholestérol (mg)	13,00		
Minéraux			
Totaux(g)	0,70		
Calcium (mg)	125,00		
Phosphore (mg)	100,00		
Rapport Ca/P (mg)	1,25		
Magnésium (mg)	12,00		
Sodium	50,00		
Potassium (mg)	125,00		
Fer (mg)	0,03		

Tableau 2: Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache (F.A.O, 1995)

Constantes	Moyenne	Valeurs extrêmes
Energie (kcal/litre)	701	587 - 876
Densité du lait	1,031	1,028 – 1,033
pH	6,6	6,6 – 6,8
Acidité titrable (D° dornic)	16	15 – 17
Point de congélation (°C)	–	-0,520 -0,550
Point d'ébullition (°C)	–	100,17 – 100,15
Point de fusion de graisses (°C)	36	26 - 42

III.1. L'eau

C'est l'élément quantitativement le plus important. Elle représente environ 81 à 87 % du volume du lait (Veisseyre, 1976).

III.2. Glucides

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose (45 à 50g/l des glucides), c'est le constituant le plus abondant après l'eau.

IL intervient non seulement dans la fermentation mais également, il joue un rôle nutritionnel non négligeable (Luquet, 1986).

III.3. Composés azotés

Les composés azotés comportent une fraction azotée non protéique qui est de 5% et une fraction protéique représentant 95% de l'azote total du lait, soit 32,7% de protéine par litre (le taux protéique, TP). La répartition en pourcentage des diverses protéines est de 80% de caséines, 19% de protéines solubles (albumines et globulines) et 1% de diverses protéines (enzymes). La caséine qui représente 80% des protéines du lait est sous forme micellaire. Les protéines de lactosérum représentent 20% des protéines du lait, les plus représentatives sont la • - lactoglobulines et l'alpha-lactalbumine. Le lactosérum renferme de très nombreuses autres protéines: immunoglobuline, enzymes (phosphatase, lipase, peroxydase etc...) (Luquet, 1986)

III.4.Matières minérales et salines

La fraction minérale bien que mineure dans la composition du lait est considérée très importante du point de vue nutritionnelle par son apport en calcium et phosphore. Le lait contient également du cuivre, du fer, du molybdène et du zinc (Adrian, 1973).

III.5.Vitamines

Les vitamines sont classées en vitamines liposolubles et hydrosolubles, selon leur solubilité dans le corps gras ou dans l'eau.

Dans le lait, les vitamines liposolubles se localisent dans la phase grasse où l'on distingue les vitamines A, D, E, K, dont les teneurs dépendent essentiellement du taux de matière grasses. Les vitamines hydrosolubles sont fixées sur les micelles de caséines ou dispersées dans la phase aqueuse. On peut citer les vitamines du groupe B (B1, B2, B6, B12), l'acide pantothénique ainsi que la vitamine C (Luquet, 1986)

CHAPITRE II

Le lait maternel est depuis longtemps reconnu comme l'aliment de choix recommandé pour le nourrisson. Pour le nourrisson né à terme et en bonne santé qui ne reçoit pas de lait maternel ou qui est partiellement allaité, les préparations lactées régulières commerciales constituent les meilleurs laits de remplacement jusqu'à l'âge de 9 à 12 mois.

I-Etude comparative du lait de femme et du lait de vache

Dans le tableau 3, la composition du lait maternel est comparée à celle du lait de vache, pour les principaux constituants (protéiques, glucidiques, lipidiques, vitamines et minéraux) d'après (Bernier et al, 1988). Le lait humain contient de l'eau, des graisses (triglycérides et phospholipides) et des composés liposolubles (stérols, caroténoïdes, vitamines lipophiles), des substances non grasses, lactose et composés protéiques (caséine, albumine, enzymes, globulines).

Tableau 3: Comparaison des compositions de lait femme et du lait de vache (Bernier et al; 1988).

Constituants	Femme	Vache	Constituants	Femme	Vache
Matière sèche (g)	12,00	12,50	Minéraux		
Valeur énergétique (kcal)	67	67	Totaux (g)	0,2	0,7
Protéines			Calcium (mg)	30	125
Totales (g)	1,55	3,50	Phosphore (mg)	20	100
Caséine	0,85	2,80	Magnésium (mg)	5	12
Lactosérum	0,70	0,70	Sodium (mg)	10	50
Alpha lactalbumines	0,35	0,20	potassium (mg)	45	125
Beta lactoglobulines	0,00	0,35	Fer (mg)	0,1	0,03
Immunoglobulines	0,15	0,05	Vitamines		
Glucides			vit. A (UI)	170	25
Totaux (g)	7,5	4,5	carotènes (µg)	50	150
Lactose	6,5	4,5	vit. D (UI)	2	4
Oligosaccharides	1,0	Traces	vit. E (mg)	0,5	0,15
Lipides			vit. C (mg)	4	2
Totaux	3,5	3,6	vit. B1 (mg)	15	40
Ac. Linoléique (% lipides)	10	3	vit. B2 (mg)	40	175
Cholestérols (mg)	20	13	vit. B5 (mg)	160	90
			vit. B6 (mg)	5	60
			ac. folique (µg)	0,2	0,2
			Vit. B12 (mg)	0,03	0,6

I.1. protéines et substances azotées

Le lait de vache contient trois fois plus de protéides que le lait maternel, c'est dire que le nourrisson nourri avec du lait de vache non modifié devra éliminer les deux tiers des protéines qu'il reçoit. Le foie fabrique de l'urée, des sulfates et des phosphates que le rein devra éliminer, d'où un surcroît de travail pour ces organes.

La teneur en phénylalanine, en tyrosine et en méthionine, est faible, par contre celle en taurine et en cystéine est plus forte ce qui est adapté aux immaturités enzymatique du nouveau né. Le lait de vache contient moins d'acides aminés indispensables notamment la cystéine (Liepke, 2002).

Des écarts très importants apparaissent dans les teneurs en protéines solubles: l'alpha-lactalbumine est présente à raison respectivement de 1,5 g/litre et de 2,6 g/litre dans le lait de vache et le lait de femme, la β -lactoglobuline est présente dans le lait de vache (2,7 g/litre) et absente dans le lait de femme.

Les caséines du lait de femme forment des micelles plus petites que celles du lait de vache, il s'agit surtout de la caséine α_1 (Debry, 2001).

I.2.lipides

Si la richesse en graisses des deux laits est sensiblement identique, il n'en est pas de même pour la proportion en acides gras insaturés. Un litre de lait de femme apporte deux à neuf fois plus d'acides gras insaturés (acides linoléique) qu'un litre de lait de vache (Liepke, 2002). Ces acides gras insaturés sont essentiels pour les synthèses cérébrales et l'organisme humain ne sait pas les fabriquer.

Enfin, le lait de femme est riche en cholestérol (150 à 200mg/l), le lait de vache en apporte moins (50 à 100mg/l).il faut rappeler le rôle du cholestérol dans la structure des membranes, comme précurseur hormonal et dans le développement cérébral (Liepke, 2002).

I.3.Glucides

Principal sucre du lait maternel est le lactose 63g/l. Le lait de vache contient moins de lactose que le lait maternel.

Le lait de femme comprend en outre de nombreux oligosaccharides (12g/l) dont certains sont connus qu'ils favorisent le développement intestinal d'une flore microbienne

(*Lactobacillus bifidus*) qui protège la muqueuse intestinale contre les agressions bactériennes.

Ce microorganisme réalise la synthèse de la vitamine K et des vitamines du groupe B. Par ailleurs, il améliore la digestion des lipides induisant une meilleure absorption de la vitamine D et il augmente l'absorption duodénale du calcium ionisé (Liepke, 2002).

Alors que le lait de vache n'en comporte que du lactose; ce qui induit plusieurs inconvénients:

- Ø Le déséquilibre lipides/lactose perturbe le développement des lactobacilles producteurs d'acide lactique qui favorise l'absorption des matières minérales.
- Ø Le déséquilibre protéines/lactose qui est de 15/65 dans le lait de femme et de 35/45 dans le lait de vache, se qui explique la perturbation de la flore intestinale lors de l'utilisation de lait de vache, avec prolifération de microorganismes notamment des Gram-.

Des oligosaccharides interviennent dans la mise en place de l'écosystème bactérien colique chez le nourrisson, sont absents dans le lait de vache entraînent des infections digestives chez les nourrissons nourris par ce type de lait (Cinquin, 2005).

I.4. Matières minérales

Le lait de vache est pratiquement 3 à 4 fois plus riche que le lait de femme pour la plupart des ions à l'exception de sa teneur en fer qui est du même ordre et du cuivre qui est remarquablement plus faible (Courpottin et al, 1993).

Le principal syndrome biologique de la consommation du lait de vache par le nourrisson est la mauvaise absorption du calcium, le lait de vache contient trois fois plus de calcium que le lait de femme, il est très mal métabolisé par le nourrisson pour des raisons biochimiques diverses, pour la quelle des hypothèses ont été avancées à savoir l'excès de phosphore ainsi que la liaison du calcium avec la caséine (Craplet et al, 1971).

Le lait de vache apporte trois fois plus de sodium que le lait de femme et l'on sait les risques d'hypertension artérielle que cela peut entraîner chez l'adulte.

Le lait de vache apporte deux fois moins de fer que le lait maternel, ce dernier étant déjà à la limite inférieure des besoins.

Les teneurs en zinc des deux laits sont identiques mais ce métal est présent dans le lait humain sous une forme spécifique qui explique le rôle exclusif du lait de femme dans la prévention et le traitement de l'acrodermatitis enteropathica (maladie héréditaire consécutive à une carence en zinc et dont les manifestations sont essentiellement digestives et cutanées).

Chrome, manganèse, cuivre, sélénium et iode sont en quantités à peu près égales dans les deux laits.

I.5. Vitamines

Par rapport au lait de vache, les teneurs en vitamines sont à des taux plus élevés dans le lait maternel, sauf pour l'acide folique (identique) et pour la vitamine K (plus faible dans le lait maternel) (Luquet, 1990).

Le lait de femme est par ailleurs très riche en vitamine E, puissant agent antioxydant.

I.6. Energie

Les deux laits ont la même valeur énergétique 67Kcal/100ml, leur origine est différente ; pour le lait de femme, 7% proviennent des protides, 50% des lipides, et 43% des glucides. Par contre, le lait de vache, 20% sont issues des protides, 50% des lipides et 30% des glucides (Craplet et al, 1971).

II - Lait de vache et formulations infantiles

Le Principe de base de l'alimentation "artificielle" de l'enfant est le respect des besoins en tous les nutriments essentiels, y compris l'eau. La distribution calorique doit être répartie sur les protéines, les graisses et les sucres; le lait doit être aisément digestible.

Des modifications simples par des méthodes assez rudimentaire se limitant à des opérations de sucrage, de coupage et éventuellement d'écémage partiel, ont été utilisées pendant plusieurs décennies, à pour objectif l'amélioration de la digestibilité du lait de vache en modifiant les proportions respectives des protides, lipides et glucides (Luquet, 1990).

II.1. Modifications apportées aux lipides

La composition globale est proche 3,6g/100ml pour le lait de vache contre 3,5g/100ml pour le lait de femme. Il convient d'enrichir le lait de vache en acide gras insaturés et plus particulièrement en acide linoléique. On utilise l'huile de maïs et l'huile de tournesol (Luquet, 1990).

II.2. Modification apportées aux protéines

La complexité de la composition protidique du lait de femme rend très difficile sa reconstitution à partir de celui de vache.

Le lait de vache non modifié est trop riche en protéines et en caséines pour les capacités digestives (formation d'un caillé peu digeste) et métaboliques (élimination d'une charge azotée excédant les possibilités rénales) du nourrissons. Et demande à être réduite pour éviter de solliciter trop la fonction rénale d'épuration.

L'adaptation du lait de vache pour en faire un substitut acceptable du lait humain consiste donc à réduire la teneur de caséine en restant à des niveaux d'apports sensiblement supérieurs à ceux du lait humain (Tsang et Nichols, 1988).

II.3. modifications apportées aux sels minéraux

Le lait de vache est 3 à 4 fois plus riche en sels que le lait maternel (3 fois plus de sodium ou de potassium, 4 fois plus de calcium et 6 fois plus de phosphore. par contre, sa teneur en fer est du même ordre et sa teneur en cuivre est plus faible (Luquet, 1990).

Le rapport calcium/phosphore doit idéalement être situé entre 1,5 et 2 afin de favoriser l'absorption calcique. Après cette opération de diminution globale du taux de sels minéraux une correction devra être réalisée pour certains cations (en particulier le fer et le cuivre).

II.4. modification apportées aux glucides

Le lait de vache contient 4,8g/100ml de glucides alors qu'il y en a 7,0g dans le lait maternel. Ces glucides sont, dans le lait de vache, constitués en quasi-totalité par du lactose alors que 13 à 15% de ceux du lait maternel sont des oligosides (Luquet, 1990).

Un enrichissement en glucides est nécessaire et souvent obtenu grâce à l'adjonction de dextrines-maltose.

III- préparations lactées pour nourrissons**III.1. Définition**

Les préparations pour nourrissons sont définies comme étant des denrées alimentaires destinées exclusivement des nourrissons jusqu'à l'âge de 4 à 6 mois de leur vie

.Elles remplacent au titre de la directive européenne du 14 mars 1991 (arrête du 11 janvier 1994) ; l'appellation d'aliments lactés diététiques première âge.

Les préparations pour nourrisson, sont des substituts du lait maternel spécialement fabriqué pour satisfaire à lui seul les besoins nutritionnels des nourrissons pendant les premiers mois de leur vie, jusqu'à l'introduction d'une alimentation complémentaire appropriée (Code Stan 72 ,1981).

Les produits doivent être traités uniquement par des procédés physiques et doivent être conditionnés de manière à prévenir toute dégradation et contamination dans toutes les conditions normales de manipulation, d'entreposage et de distribution dans le pays où ils sont vendus (Codex Stan 72, 1981).

III.2.Composition

Les préparations pour nourrissons présentées sous une forme prête à la consommation doivent contenir les quantités minimales et maximales ou les limites maximales suivantes de vitamines et sels minéraux sous formes assimilable, de choline, de protéines, de lipides et d'acides gras, de glucides et de calories par kilocalories (Codex Stan 72, 1981).

La composition en moyen est très proche de celle du lait de femme, le tableau4 donne les proportions à respecter

Tableau4 : Normes codex pour la composition des préparations lactées

(Codex STAN, 1981)

Ingrédients	Proportion pour 100 calories assimilables	
	Minimale	Maximale
Protéines	- 1.8g	- 4g
Lipides	- 3.3	- 6g
-Acide linoléique	- 300mg	- NS (non spécifié)
Sels minéraux		
-Sodium	- 20mg	- 60mg
-Potassium	- 60mg	- 145mg
-Chlore	- 50mg	- 125mg
-Calcium	- 50mg	- NS
-Phosphore	- 25mg	- 90mg
-Magnésium	- 5mg	- 15mg
-Fer	- 1mg	- 2mg
-Iode	- 5mg	- NS
-Cuivre	- 20mg	- 80mg
-Zinc	- 0,5mg	- NS
-Manganèse	- 5mg	- NS
Vitamines		
-A	- 60µg	- 180µg
-D	- 40UI	- 100UI
-C	- 8mg	- NS
-B1	- 40µg	- NS
-B2	- 60µg	- NS
-B6	- 15µg	- NS
-B12	- 0,15µg	- NS
-Acide folique	- 4µg	- NS
-E	- 0,5mg	- NS
-K1	- 60mg	- NS

III.3. Différents types de préparations

Il faut savoir que, quels que soient ces laits, ils répondent tous à la directive de la Commission européenne de 1996, les industriels ne peuvent en effet que varier la proportion de quelques constituants selon ce qu'ils veulent privilégier (Tounian et F. Sarrio, 2001).

C'est ainsi qu'ils conseillent les laits selon leurs constituants pour certains troubles digestifs, rénale et de ses éventuels antécédents atopiques (Eustache, 2005). Une

classification de ces différents types de préparations disponibles, ainsi que leurs indications

Tableau 5: les différents types de préparations lactées pour nourrissons (Vidailhet et al, 2002).

Types de preparations	Ingrédients spécifiques	Indications
Préparation à base de protéine du lait de vache.	La teneur en protéine va de 1,8 à 3g. L'apport lipidique peut être à 100% d'origine végétale.	Indique dans le cas de nourrissons en bonne santé.
Préparations à base de protéines de soja.	Ces préparations ne contiennent pas de PLV (Protéine de lait de vache) ni de lactose.	Indiqué dans le cas d'allergie aux protéines du lait de vache.
Laits hypoallergéniques (laits HA).	Les protéines contenues dans ces laits sont partiellement hydrolysées, ce qui diminue le risque de sensibilisation.	La seule indication est l'existence d'un terrain allergique familial chez l'un des deux parents.
Laits pauvres en lactose.	Exemptes du lactose.	Ces laits sont indiqués au cours des diarrhées aiguës sévères.
Lait avec probiotique.	Ils contiennent un microorganisme vivant qui permet un effet bénéfique sur la santé d'hôte en s'implantant dans le tube digestif.	Ceci permet de prévenir les diarrhées aiguës.
Laits avec prébiotique.	Ils contiennent une substance non digestible qui stimule la croissance ou l'activité de la flore colique.	Ce qui aurait un effet préventif sur la survenue des diarrhées aiguës et améliorerait les selles des nourrissons constipés.
Lait avec des ferments lactiques	Ceux-ci induisent une fermentation et donc permettent une digestion partielle du lactose.	Ce qui pourrait permettre une diminution des coliques.

III.4. Procédé de fabrication de préparation du lait en poudre pour nourrisson

Il existe trois types de procédé pour la fabrication des préparations déshydratées pour nourrisson (FAO, 2005).

a- Mélange d'ingrédients liquides: tous les ingrédients sont traités à l'état liquide puis thermiquement (pasteurisés ou stérilisés, et enfin déshydratés).

b- Mélange d'ingrédients secs: les ingrédients sont préparés individuellement, traités thermiquement s'il y a lieu, déshydratés et enfin mélangés à sec.

c - Procédé mixte: Une partie des ingrédients font l'objet du procédé (a), afin d'obtenir une poudre de base à laquelle le reste des ingrédients est ensuite ajouté conformément au procédé(b),ce dernier est plus utilisé est celui représenté dans la figure1

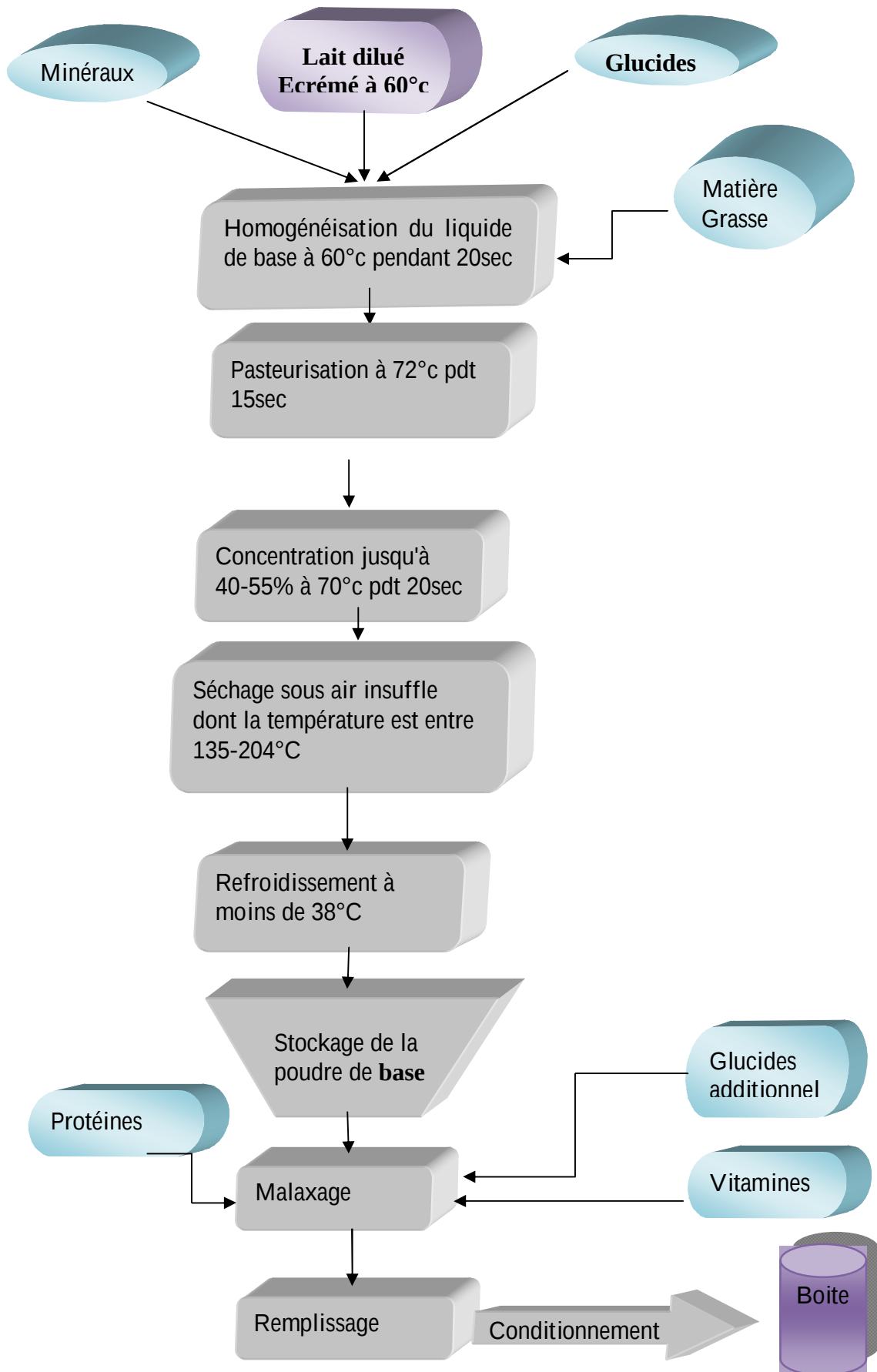


Figure 1 : processus de fabrication des préparations en poudre pour nourrissons (Institut de veille sanitaire en France 2006).

Les fabricants produisent les préparations en poudre pour nourrissons en procédant tout d'abord à la dessiccation d'un mélange humide des principaux ingrédients (protéines, matières grasses et glucides). Le mélange liquide est chauffé (pasteurisé à 71,6°C pendant 15 secondes)

Pendant l'opération de séchage, le mélange liquide est chauffé à environ 82°C, puis pompé sous forte pression vers des buses de pulvérisation ou un atomiseur installé dans une vaste chambre à dessiccation dans laquelle on insuffle de l'air filtré, à haute température. La température de l'air insufflé oscille entre 135° et 204°C.

La poudre passe alors de la chambre à dessiccation à un sécheur à lit fluidisé où elle est refroidie rapidement à moins de 38°C à l'aide d'air froid sur filtre à très haute efficacité.

Ils obtiennent ainsi ce que l'on appelle **la poudre de base**. Les ingrédients mineurs, tels que les vitamines, les minéraux et les glucides additionnels, sont ensuite incorporés à la poudre de base dans de grands mélangeurs ou malaxeurs afin d'obtenir la composition finale du produit.

Cette méthode permet des périodes de dessiccation prolongées et réduit la fréquence des changements dans la composition des produits.

Dans le processus de mélange à sec, il est essentiel que les ingrédients secs répondent aux mêmes normes microbiologiques que le produit final, puisqu'ils ne font pas l'objet d'un traitement thermique additionnel (Edelson-Mammel et al, 2004)

Au terme des étapes de la dessiccation ou du mélange, le produit final passe des silos de stockage ou des mélangeurs, à des machines de remplissage, pour être placé dans des boîtes ou dans des récipients souples.

III.5. Valeur nutritive

Les traitements technologiques peuvent modifier la composition du lait et, ce faisant, sa valeur nutritive. Certains changements sont par nature évidents: l'écémage prive le lait de sa matière grasse et des acides gras essentiels et entraîne des pertes élevées en vitamines liposolubles A et E.

D'autres techniques ont des effets plus insidieux, comme le chauffage ou la conservation (Hermier et Cert, 1987).

En fait, il est difficile de prévoir la teneur en nutriments de laits obtenus par une combinaison de divers procédés technologiques.

III.5.1.Conséquences nutritionnelles des traitements thermiques des préparations lactées

L'animal producteur n'étant pas élevé en conditions aseptiques, le lait produit ne peut être stérile et, sauf dans le cas de l'allaitement direct, le lait doit subir des traitements technologiques pour assurer à celui qui le consomme une sécurité d'hygiène maximale.

Tous ces traitements technologiques (chauffage, refroidissement, séparation centrifuge, concentration, déshydratation) modifient peu ou prou les équilibres physico-chimiques du lait tels qu'ils existent à 37°C.

Ils peuvent aussi avoir des effets dommageables sur l'activité biologique de nombreux composants par l'intermédiaire de changements structuraux (Rigo et al, 2005).

III.5.1.1.Traitements thermiques des préparations lactées

Trois types de laits sont théoriquement disponibles pour l'alimentation, des nouveau-nés et des nourrissons: le lait en poudre, le lait liquide UHT pour lequel le traitement thermique stérilisateur est appliqué en fin de processus de fabrication, juste avant le remplissage aseptique du récipient le lait liquide autoclavé pour lequel le traitement thermique stérilisateur est appliqué après le remplissage et la fermeture du récipient (Rigo et al, 2005).

Les principales étapes des traitements thermiques des préparations lactées sont résumées dans le Tableau 6 ci-dessous.

Tableau 6: Traitements thermiques des préparations lactées (Rigo et al, 2005).

Traitements thermiques communs • Ecrémage et standardisation en matière grasse à 60°C de durée variable, • Homogénéisation du lait de 60 à 75°C pendant 20 secondes, • 1ère pasteurisation à une température d'au minimum 72°C pendant au moins 15 secondes
Laits en poudre • Préchauffage le plus souvent à 95° C pendant 60 secondes, • Concentration par évaporation (de 58 à 70°C pendant 60 secondes), • Séchage à 65-70°C pendant un temps variable.
Laits liquides UHT (Ultra Haute Température) • Préchauffage à 90°C pendant 60 secondes, • Chauffage à 138-145°C pendant 4 à 8 secondes avant le remplissage aseptique du récipient.
Laits liquides autoclavé (post-stérilisation) • Préchauffage à 90°C pendant 60 secondes ou traitement UHT avant le remplissage du récipient, • Autoclavage à 115-120°C pendant 10 à 15 minutes du récipient fermé (post-stérilisation).

III.5.1.2 Effets des traitements thermiques

III.5.1.2.1. Effets sur les protéines du lait

La chaleur modifie la configuration spatiale des protéines, Cette dénaturation débute à des températures de 80°C.

Les immunoglobulines (Ig) du lait constituent le groupe de protéines le plus sensible aux traitements thermiques.

La pasteurisation (62,5°C-30 minutes ou 72°C-15 secondes) inactive 30% des IgA, 100% des IgM et 33% des IgG. Cette sensibilité thermique des IgA, IgM et IgG rend hautement probable qu'elles soient totalement inactivées dans les préparations lactées (Debry, 2001).

Le chauffage du lait à une température supérieure à 37°C initie la réaction de Maillard de la protéine la plus réactive qui est la α -lactoglobuline, protéine majeure du lactosérum de lait de vache, cette protéine est absente du lait humain, qui avec l'ensemble des résidus lysine et arginine forment des liaisons covalentes avec le lactose entraînant ainsi une perte de leur biodisponibilité et une modification de l'antigénicité de la protéine (Bernard et Carlierh, 1992).

Tout traitement thermique du lait induit la formation de liaisons covalentes de type disulfure (S-S) entre la caséine • et la •-lactoglobuline. L'aptitude à la coagulation par la chymosine de l'estomac s'en trouve diminuée (Leclerc et al, 2002).

La caséine résiste aux effets thermiques elle coagule seulement après un chauffage d'une heure à 125°C.

Les protéines solubles sont très altérées par la chaleur voir (**tableau 7**).

Tableau 7: Dénaturation complète par la chaleur des diverses fractions protéiques (Hermier et Cert, 1987).

Protéines	Dénaturation	
	Températures °(C)	Durée
Immunoglobulines	74	15 secondes
Sérum-albumine	84	15 secondes
•-lactoglobuline	86	15 secondes
-lactalbume	100	5 minutes
Caséine	125	>60 minutes

III.5.1.2.2.Effets sur les glucides

Le principal effet antinutritionnel impliquant le lactose est la réaction de Maillard, Cette réaction (dite de Maillard) intervient principalement entre le lactose et la •-lactoglobuline, mais aussi avec les caséines. Les produits de Maillard peuvent prendre une teinte brune (Leclerc et al, 2002).

La plupart des auteurs estiment les produits de la réaction de Maillard inoffensifs pour le fœtus et le nouveau-né, mais certains d'entre eux ont évoqué un risque néphrotoxique (Adrian et Lepen, 1987).

III.5.1.2.3.Effets sur les constituants lipidiques

Le chauffage ne semble pas modifier la qualité des graisses, La pasteurisation n'altère pas les graisses polyinsaturées et donc les acides gras essentiels; l'acide linoléique est stable à haute température et sa décomposition ne survient qu'après un chauffage d'une heure à 180°C (Renner, 1989).

III.5.1.2.4. Effets sur du traitement thermique sur les minéraux

Le traitement thermique du lait à une température supérieure à 75°C a pour conséquence une co-précipitation du citrate tricalcique et du phosphate tricalcique du lait (Rigo et al, 2005).

Selon une étude réalisée chez des singes rhésus nouveau-nés, un traitement des préparations lactées liquides à 120°C-130°C pendant 5 à 10 minutes aurait un effet délétère important sur la biodisponibilité du cuivre.

Une étude menée chez des rats nouveau-nés aboutit à la même conclusion quant à la biodisponibilité du fer (L. nnerda et al; 2001).

III.5.1.2.5. Effet de la chaleur sur les vitamines

La pasteurisation (72°C-20 secondes) induirait une perte inférieure à 10% pour la thiamine, les vitamines B6 et B12 et l'acide folique, mais cette perte atteindrait 25% pour La vitamine C.

Un traitement de stérilisation (120°C-10 minutes) induirait pour ces mêmes vitamines des pertes variant entre 15 et 100%. Quant au traitement UHT (145°C-3 secondes), les pertes constatées seraient inférieures à 30%.

Seuls la thiamine, la cyano cobalamine et l'acide ascorbique sont très thermosensibles voir (tableau 7) (Renner, 1989).

Tableau 8 : Effets de divers traitements thermiques sur la perte vitaminique (Renner, 1989).

Procédés	Pertes (%)		
	Thiamine	Cobalamine	Acide ascorbique
Pasteurisation	10	10	10-25
Stérilisation	20-50	20-100	3-100

III.5.2. Homogénéisation

L'homogénéisation a pour but de réduire la dimension des globules gras de 3 à 6 µm à 1 µm environ. Elle provoque la formation de complexes lipides-protéines.

Ces modifications présentent un intérêt nutritionnel: elle facilite la digestion des lipides. La digestion protéique est aussi améliorée: l'acidification gastrique permet d'obtenir un caillé plus doux et plus finement dispersé (Berthier et Vala, 2004).

L'homogénéisation présente également un intérêt technologique: elle évite l'écémage spontané.

III.5.3. Effets de stockage

Le lait en poudre est un produit déshydraté dont l'activité de l'eau est très basse pour permettre un développement microbien.

Cependant de mauvaises conditions d'entreposage (locaux humides, exposition à des variations de température) redent possible le moisissement (Berthier et Vala, 2004).

III.5.3.1.Effet de l'humidité

Au cours de la conservation le lactose amorphe, très hygroscopique, fixe progressivement de l'eau, ce qui provoque sa cristallisation sous forme monohydrate. Cette cristallisation se produit de manière intense lorsque l'humidité relative dans la poudre atteint ou dépasse 40% (soit une teneur absolue en eau de l'ordre de 5 g/ 100 g de poudre) (Vierling, 2004).

Les conséquences nutritionnelles de cette humidification sont importantes car l'eau absorbée sur le lactose amorphe excède la quantité nécessaire à la cristallisation. Lorsque celle-ci se produit, il apparaît dans le milieu une eau métaboliquement très active qui déclenche notamment la réaction de Maillard (Adrian et Lepen 1987).

A 37°C et un degré d'humidité de 4%, la teneur des vitamines décroît aussi progressivement. Après 30 jours, les folates ont baissé de 72%, l'ascorbate de 91 %; après 60 jours, la vitamine B 1 n'a plus que 12% de sa teneur initiale. Lorsque le degré d'humidité atteint 10 pour cent, après 15 jours, les folates et la vitamine C ne sont plus dosables alors que la thiamine maintient 40% de son taux initial après un mois dans ces conditions (Vierling, 2004).

III.5.3.2.Effet de l'oxygène

Le principal effet exercé par la présence de l'oxygène dans de tels produits est l'oxydation de la matière grasse, parmi les fractions lipidiques selon ce sont les acides gras insaturés qui représentent les principaux substrats de cette oxydation. L'enrichissement des préparations pour nourrisson en acide gras essentiels, rend donc la réaction plus importante, provoquant ainsi une diminution de la valeur nutritionnelle du produit (Graille, 2003)

Les folates et la vitamine C sont particulièrement oxygénosensibles; les vitamines B12, A, E et la choline le sont moins; les vitamines B1, B6 et D le sont modérément; les autres ne le sont pas (Hirsch, 2002).

III.5.3.3. Conséquences des rayonnements

La lumière solaire et le rayonnement UV provoquent la destruction partielle ou totale des vitamines A, B₂, B₆ et C.

Les taux de riboflavine et d'acide folique diminuent de 10 à 30% par heure d'exposition au soleil.

La présence d'oxygène ambiant accélère certaines réactions, comme la destruction de l'acide ascorbique. Les autres substances, notamment vitaminiques, ne sont pas sensibles aux rayonnements (Graille, 2003).

III.5.4. Influence des contaminations sur la santé du nourrisson

III.5.4.1.contamination microbienne

Il faut signaler que les préparations en poudre pour nourrissons qui satisfont aux normes actuelles ne sont pas stériles et qu'elles peuvent contenir de faibles concentrations d'agents pathogènes (OMS/FAO, 2005).

Les technologies de fabrication actuelles ne permettent pas d'éliminer complètement les risques de contamination microbienne (OMS/FAO, 2005).

Les principaux aspects microbiologiques constituant actuellement un problème de santé publique, associés aux préparations en poudre pour nourrissons, sont liés à la présence de Salmonella et d'autres entérobactéries (coliformes), y compris *E. sakazakii* (Courpotin et al, 1993).

La présence de ces microorganismes peut être déterminée par:

- Une contamination par le biais d'ingrédients non soumis à un traitement thermique au cours du processus de fabrication des préparations en poudre pour nourrissons (cela concerne les procédés par voie sèche et mixte).
- Une contamination à partir du milieu de fabrication aux étapes sèches du processus, c'est-à-dire une contamination postérieure au traitement thermique, provenant sans doute du milieu de fabrication au moment de la déshydratation ou du

conditionnement (cela concerne les procédés par voie humide, par voie sèche et mixte).

En revanche, d'après le rapport d'investigation de l'INVS 2006 plusieurs cas d'infections graves à **Enterobacter sakazakii** chez des nourrissons ayant consommés des préparations pour nourrissons, ont été rapportés en France (Claude, 2006).

D'après ce rapport un lien entre ces infections et la consommation de ces préparations a été établi dans plusieurs pays, et le retrait de plusieurs lots exclusivement distribués en France et en Algérie en été diffusés sur le réseau d'alerte, early warning and reponse system(EWRS) décembre 2004.

Par ailleurs, l'INVS a signalé la survenue d'un nombre inhabituel de cas de salmonelloses à **Salmonella agona**, chez des nourrissons depuis le début de l'année 2005. L'enquête épidémiologique a établi une corrélation entre ces infections et la consommation de poudre de lait infantile. Dès cette annonce, les laits infantiles en provenance de l'usine de production des laits en cause ont été retirés du marché.

En mai, en juillet et enfin en septembre 2008, quatre bébés chinois sont morts et des dizaines de milliers sont tombés malades après avoir absorbé du lait artificiel pour nourrisson contaminé: on y avait ajouté de la **mélamine**, afin de le faire apparaître plus riche en protéines (Klaudia Lee, 2008).

Les contrôles effectués par l'Organisme national chinois d'inspection ont établi la présence de mélamine dans certains produits laitiers chez au moins 22 fabricants dans tous le pays (Avec des teneurs variant entre 0, 09 mg/kg et 2,560 mg/kg)

Deux sociétés ont exporté leurs produits au Bangladesh, au Burundi, au Myanmar, au Gabon et au Yémen, alors que la contamination de ces produits exportés n'a pas encore été confirmée (Aridj et Puel, 2008).

Les effets néfastes dus aux contaminations microbiennes sont résumés dans le tableau9.

Tableau 9 : Effet des contaminations microbiennes.

Micro-organisme	Effets sur le nourrisson
Coliformes	-Ils sont responsables de troubles gastriques avec diarrhées et vomissements (Bourgeois et al ,1996)
Anaérobies sulfito-réducteurs	-Ils provoquent l'entérococolite nécrosante, infection redoutable d'évolution rapide (Vignola, 2002).
salmonelles	-elles provoquent les toxi-infections alimentaires, responsables d'infections entérales invasives qui peuvent avoir la capacité de léser la muqueuse intestinale et de produire une enterotoxine (Leyral et al, 2001).
Levure et moisissures	-les levures ne sont pas pathogènes, à l'exception de deux souches : Candida albicans qui est responsable du muguet buccal. Cryptococcus neoformans responsable des mycoses (Moll, 2000).
Staphylocoques	-Ils produisent une enterotoxine qui agit sur les viscères en provoquant des nausées, des crampes des diarrhées et des vomissements (Leveau, 1991).
Enterobacter sakazakii	Elles responsables de plusieurs types d'infections graves, parfois mortelles, entérocolites nécrosant, septicémies et méningites (INVS ,2006).

III.5.4.2. contamination par les métaux lourds

Le problème de la contamination du lait humain a été largement soulevé dans les médias. Mais le lait de substitution est très souvent contaminé par du plomb (Shannon, Graf , 1989), de l'aluminium, du cuivre ou d'autres métaux, ainsi que par de l'iode. Le taux d'aluminium est jusqu'à 60 fois plus élevé dans le lait de substitution que dans le lait humain, avec possibilité de dépôt au niveau des os et du cerveau (Freundlich et al.1985). L'aluminium perturbe aussi le métabolisme du calcium et du phosphore (Steichen , Tsang , 1987).

CHAPITRE

III

Le problème de la contamination du lait humain par des métaux lourds a été largement soulevé dans les médias. Mais le lait de substitution est très souvent contaminé par du plomb, de l'aluminium, du cuivre ou d'autres métaux, ainsi que par de l'iode (Shannon et Graf, 1989).

Le taux d'aluminium est jusqu'à 60 fois plus élevé dans le lait de substitution que dans le lait humain, avec possibilité de dépôt au niveau des os et du cerveau (Freundlich et al. 1985). L'aluminium perturbe aussi le métabolisme du calcium et du phosphore (Steichen et Tsang, 1987).

Dans cette étude nous nous intéresserons uniquement aux métaux lourds étudiés dans notre partie expérimentale c'est-à-dire le plomb et le cadmium.

III.1.Définition

On appelle en général métaux lourds les éléments métalliques naturels. Ils se retrouvent dans l'air, l'eau, les sols, les sédiments, et par conséquent les plantes, les animaux et les poissons, tous éléments de l'alimentation humaine (Picot, 1996).

La toxicité des métaux lourds a conduit les pouvoirs publics à réglementer les émissions en fixant des teneurs limites (Picot, 1996).

C'est le cas du plomb et du cadmium, qui au-delà d'une certaine dose journalière, peuvent présenter un risque pour la santé humaine (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999).

Plomb, cadmium, mercure sont classés parmi les métaux lourds toxiques, leurs caractéristiques chimiques sont présentées dans le tableau 10 :

Tableau 10 : les caractéristiques chimiques du plomb et du cadmium (Miquel, 2001).

	Plomb	Cadmium	Mercure
Masse atomique	270	112	200
Masses volumiques	11,35 g/cm³	8,6 g/cm³	13,6 g/cm³
Température de fusion	327°	320,9°	- 38°
Températures d'ébullition	1.740°	765°	357°
Symbole chimique	Pb	Cd	Hg

III.2.les métaux lourds toxiques

III.2-1-Plomb

III.2.1.1.Propriétés

Le plomb élémentaire est un métal lourd que l'on trouve à l'état naturel dans toutes les parties de la croûte terrestre. Parmi les dérivés du plomb, les oxydes de plomb et certains sels présentent un intérêt dans le cadre des sources d'intoxication:

- La litharge, ou monoxyde de plomb (PbO), très peu soluble dans l'eau
- Le dioxyde de plomb, ou oxyde puce (PbO_2), se décompose lentement sous l'effet de la lumière. Il est insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'acide chlorhydrique et l'acide oxalique.
- Le sulfure de plomb, ou galène (PbS), est une forme naturelle du plomb qui constitue le minerai principal. Il est très peu soluble dans l'eau.
- Acétates de plomb: le plus courant, est préparé en attaquant le plomb métallique par l'acide acétique en présence d'air (Miquel, 2001).

III.2.1.2.Usages du plomb

Le plomb est exploité et transformé depuis des milliers d'années, mais son utilisation s'est considérablement accrue avec le développement de l'industrie moderne. La demande industrielle pour le plomb a augmenté de 25 % entre 1970 et 1990 (Kaing et Cutzach, 2004).

Le plomb est utilisé dans la fabrication d'accumulateurs au plomb, de brasure, d'écrans de protection radiologique, de tuyaux, de câbles de téléphone et de télévision ainsi que d'éléments de remplissage dans l'industrie automobile (Kaing et Cutzach, 2004).

Les sels de plomb, comme le chromate de plomb, sont utilisés dans la fabrication de peintures et de pigments résistant à l'usure.

Le plomb dans les produits de consommation se trouve généralement à l'état élémentaire ou sous forme de composés inorganiques comme le monoxyde de plomb, le bioxyde de plomb, le tétraoxyde de plomb et le chromate de plomb (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999)

III.2.1.3. Sources d'exposition au plomb

III.2.1.3.1. Contaminations environnementales

On le retrouve de façon naturelle dans l'environnement, la présence du plomb dans l'eau de consommation est habituellement attribuable au phénomène de corrosion qui survient dans les composants structurales des réseaux et dans la tuyauterie domestique qui contiennent du plomb (Viraraghavan et al., 1999; Schock, 1990; Gardels et Sorg, 1989).

La corrosion du plomb survient en milieu acide lorsque le plomb métallique de la tuyauterie ou des soudures entre en contact avec un agent oxydant (ex : oxygène dissous ou chlore).

III.2.1.3.2. Concentrations dans l'eau.

Parmi les facteurs qui influencent les niveaux de plomb dans l'eau, il ya les caractéristiques de l'eau (pH, alcalinité, quantité d'oxygène dissous et présence de chlore) (Churchil et al., 2000; Schock, 1990; Gardels et Storg, 1989).

III.2.1.4. Exposition

Les hommes sont exposés par inhalation des polluants aériens, la consommation d'eau contaminée, l'exposition à des sols contaminés de déchets industriels. Ils s'accumulent dans les organismes vivants et perturbent les équilibres et mécanismes biologiques, provoquant des effets toxiques à court et/ou à long terme. Ils peuvent affecter le système nerveux, les fonctions rénales, hépatiques, respiratoires, Les effets engendrés par ces polluants sont variés et dépendent également de l'état chimique sous lequel on les rencontre (métal, oxyde, sel, organométallique).

L'absorption par voie gastro-intestinale est estimée à 10 % de la quantité ingérée chez l'adulte, 30 à 50 % chez l'enfant. En cas de jeûne, l'absorption peut atteindre 60 à 80 % (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999)

III.2.1.5. Toxicocinétique

Le métabolisme du plomb est important, à connaître pour comprendre certains l'aspect de l'intoxication et plus particulièrement les différences existant entre enfants

et adultes, ou encore chez la femme enceinte et le fœtus (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999).

Le plomb pénètre essentiellement dans l'organisme par voie digestive et pulmonaire. La voie pulmonaire est surtout importante pour les personnes exposées en milieu professionnel, ou qui vivent sous les rejets atmosphériques, qui inhalent le plomb sous forme particulière (Friberg et al., 1986).

En population générale, le plomb peut être ingéré avec les aliments contaminés, le lait, les boissons et l'eau de boisson émanant de canalisations contenant du plomb.

Une fois ingéré, le plomb est absorbé dans le sang par le tractus gastro-intestinal, où il se lie à hémoglobine, l'absorption sera plus importante si elle survient au moment où les rapports en fer, calcium et phosphore sont faibles (Bruening et al., 1999) et à la suite d'un jeûne ou encore selon qu'il s'agisse d'un enfant (40 à 50%) du plomb ingéré est absorbé (Ziegler et al., 1978) ou d'un adulte (5 à 10%) est absorbé (Watson et al., 1986).

Une fois dans le sang il s'accumule dans les os ou les tissus mous (foie, les reins, les poumons et le cerveau (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999).

La demi-vie biologique du plomb dans le sang est d'environ 36j (Rabinowitz et al., 1976, Chamberlain et al., 1975) alors qu'elle serait d'environ 27 ans dans les os (Rabinowitz et al., 1976).

Différentes études ont montré que pendant la grossesse le plomb traverse la barrière placentaire et atteint le fœtus dont le niveau plombémie est proche de celui de la mère (Lagerkvist et al., 1996; Goyer, 1996).

D'après des études cinétiques effectuées chez la souris, suggèrent qu'environ le tiers de la charge corporelle en plomb de la mère peut être excrété dans le lait maternel durant l'allaitement (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999).

III.2.1.6. Effets sur la santé

Caractéristique toxicologique: **Toxique cumulatif** à effets généralisés.

Les effets chez les humains sont récapitulés ci-après.

III.2.1.6.1.Toxicité aiguë

L'intoxication aiguë se manifeste selon quelle survient chez l'enfant ou chez adulte. Ces symptômes se manifestent généralement lorsque la plombémie atteint 30 à 50µg/dl (California Environmental Protection Agency, 1997).

- Troubles digestifs : coliques associée à des crampes abdominales (douleurs épigastriques) et des vomissements.
- Troubles rénaux : tubulopathie proximale, exceptionnellement une insuffisance rénale, Oligoanurique.
- Troubles hématologiques: anémie.
- Troubles neurologiques: l'encéphalopathie saturnine précédée de céphalées, d'un ralentissement idéo moteur, d'ataxie.

Les premières études réalisées ont mis en évidence une augmentation des cas d'infertilité, d'avortement et de mort chez les femmes ayant eu une exposition importante au plomb pendant leur grossesse (National Research Council, 1993)

Des effets sur la reproduction des hommes ont aussi été observés, une atteinte de la morbidité et de la morphologie des spermatozoïdes, dès 40µg/dl (National Research Council, 1993).

III.2.1.6.2.Toxicité chronique

L'exposition prolongée à des concentrations de plomb est susceptible d'affecter plusieurs organes :

- **Troubles neurologiques** (effet critique)

Chez l'enfant (population cible) à partir de 100-300 µg/L de plomb sanguin: troubles comportementaux, stagnation ou régression du développement intellectuel; chez l'adulte à partir de 400-700 µg/L de plomb sanguin: fatigue, maladresse, irritabilité

- **Troubles rénaux**

Insuffisance rénale chronique.

- **Troubles hématologiques**

Inhibition de l'activité enzymatique de la synthèse de l'hème expliquant l'anémie en général peu sévère.

- **Cancérogénicité**

Le plomb et ses dérivés inorganiques étaient classés en 1987 par le centre international de recherche sur le cancer (l'IARC) dans le groupe 2B (potentiellement cancérogènes chez l'homme) et par l'EPA en 1993 (groupe B2) (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999).

Sa cancérogénicité a été démontrée chez l'animal mais insuffisamment démontrée chez l'homme.

La seule étude réalisée à ce jour est celle de Jemal et ses collaborateurs (Jemal et al., 2002) et elle n'a pas observé d'augmentation du risque de mortalité par cancer pour une concentration dans le sang de l'ordre de 13µg/dl.

Certains sous-groupes de la population sont plus vulnérables aux effets toxiques du plomb, c'est le cas pour nourrissons, les enfants âgés de moins de six ans (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999).

Les nourrissons ont une sensibilité accrue aux effets toxiques du plomb. Ils peuvent être exposés notamment par le biberon de lait maternel.

Le plomb interagit avec le calcium, le phosphore, le fer et le zinc. L'absorption gastro-intestinale du plomb peut être réduite de façon importante avec le régime riche en calcium, en phosphore et en fer (Bruening et al., 1999 ; Hammad et al., 1996 ; Blake et Mann, 1983 ; Heard et Chamberlain, 1982).

III.2.1.7. Valeurs de référence

La valeur fixée par (OMS, 2000b) est de 10µg/l, l'IARC a convenu de classer le plomb dans le groupe 2B (le groupe des substances possiblement cancérogènes pour l'homme).

Plusieurs études ayant démontré que le plomb, même à des niveaux très faibles, pouvait avoir des effets néfastes sur la santé, la valeur a été calculée à partir de l'estimation de la dose journalière tolérable (DJT).

Différents organismes internationaux proposent des valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour le plomb. Ces valeurs sont présentées dans le tableau 9 et le mode de construction retenu par l'OMS.

Le JECFA a établi en 1987 une dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) de 25 µg/kg de poids corporel par semaine pour les nourrissons et les enfants en considérant que le plomb a des effets toxiques cumulatifs et qu'il faut éviter qu'il ne s'accumule dans l'organisme. Cette valeur est issue de divers travaux qui semblent montrer chez l'enfant qu'en deçà de 4 µg/kg/j, on ne note pas d'augmentation de la plombémie, qu'une augmentation peut intervenir à partir de 5 µg/kg/j (Ziegler et al., 1978; Rye et al., 1983).

Initialement attribuée aux nourrissons et aux jeunes enfants (1987), cette valeur a depuis été appliquée à la population générale (1993), et maintenue lors de la dernière réévaluation de 1999 (IPCS, 2000).

Tableau 11: Récapitulatif des valeurs toxicologiques de référence proposées par différents organismes (Rye et al., 1983).

Source	VTR	Valeur	Etude	Effet
OMS, 1996	DHTP dose hebdomadaire tolérable provisoire	25 • g/kg p.c./sem	1987	Effet neurotoxique chez l'enfant
EPA	RfD référence dose	non définie	-	-
ATSDR	MRL minimal risk level	non définie	-	-
Santé Canada 1992	AQA apport quotidien acceptable	3,5 • g/kg p.c. /j	OMS	
RIVM (2001)	MPR maximum permissible risk	25 • g/kg p.c./sem	OMS	

Le groupe de travail de l'EPA a étudié la possibilité de définir une RfD pour le plomb inorganique (et ses composés) et a considéré qu'il n'était pas approprié de définir une RfD (IRIS EPA, 2003).

Aucun MRL n'a été défini pour le plomb en raison de l'absence de seuil clairement identifié pour certains des effets les plus sensibles chez l'Homme (ATSDR, 1999).

III.2.2.cadmium

III.2.2.1.Généralités

Est un élément naturel, présent dans certains minerais (notamment le zinc) sous forme d'impuretés. Ce métal était inconnu jusqu'au XIX^{ème} siècle, jusqu'à ce que ses caractéristiques physico-chimiques soient mises en évidence et utilisées notamment dans les batteries (Fleischer, M. et al., 1974). Il est également obtenu comme sous produit de raffinage du plomb et du cuivre.

Le chlorure de cadmium est produit par réaction du cadmium fondu avec du chlorure gazeux.

Le sulfure de cadmium peut être obtenu par réaction entre le sulfure d'hydrogène et la vapeur de cadmium à 800°C (Miquel, 2001).

Le cadmium a été abondamment utilisé dans des utilisations diffuses pour protéger l'acier contre la corrosion (cadmiage), ou comme stabilisant pour les plastiques et les pigments.

III.2.2.2.Présence dans l'environnement

La concentration de cadmium dans l'eau douce non polluée est généralement inférieure à 0,001 mg/l (Hiatt et Huff, 1975) et celle de l'eau de mer d'environ 0,00015 mg/l (Fleischer, M. et al, 1974).

Les eaux superficielles contenant plus que quelques µg/l de cadmium sont probablement polluées par les rejets des usines métallurgiques, des ateliers d'électroplastie, des fabriques de pigments cadmiés, de textiles ou par les boues d'épuration (Fleischer, M. et al, 1974).

L'eau potable contient de faibles concentrations de cadmium (inférieures à 0,001 mg/L) lorsqu'elle provient de sources d'approvisionnement non polluées (Nordberg, 1974).

Dans les régions industrielles la concentration de cadmium dans l'air est très élevée notamment de celles qui ont des usines d'affinage et des fonderies ;(Hiatt et Huff, 1975).

Dans les régions non industrielles, la concentration de cadmium dans l'air se situe autour de 0,000001 mg/m³ (Lewis, G.P., Tusko et al, 1972).

La présence de cadmium dans les végétaux peut provenir du dépôt d'aérosols sur les feuilles et de l'absorption, par les racines, du cadmium du sol. Les plantes en accumulent diverses quantités par cette dernière voie (Page et Bingham, 1973).

Les données disponibles montrent que les Concentrations normales de cadmium dans les aliments son plus faibles que celles mesurées dans les plantes poussant dans des sols contaminés par ce métal (Page et Bingham, 1973).

Les concentrations de cadmium dans les produits alimentaires varient considérablement; elles tournent autour de 0, 05 mg/kg en poids humide. (Nordberg, 1974).

Les concentrations dans le foie et les rognons de bœuf peuvent s'élever à 0, 2, 1, 6 et 21, 0 mg/kg respectivement (Chau, 1970). Les reins et le foie des porcs, des moutons et des bovins peuvent également concentrer ce métal. Les viandes fraîches en contiennent généralement moins de 0, 05 mg/kg et le poisson moins de 0, 02 mg/kg (Friberg, et al, 1974).

III.2.2.3. Pharmacocinétique et le métabolisme

Plusieurs études effectuées sur l'homme ont montré que l'intestin absorbe de 4 à 7 % d'une dose unique de cadmium ingérée (Kitamura et al, 1970). Chez les êtres humains, on a constaté que les femmes souffrant d'une carence en fer absorbent jusqu'à 20 pour cent du cadmium ingéré (Flanagan, 1978).

Le cadmium absorbé s'accumule surtout dans le cortex du rein et dans le foie. Le pancréas, la thyroïde, la vésicule biliaire et les testicules peuvent aussi en contenir des concentrations assez élevées (Organisation mondiale de la santé, 1974).

Chez la femme enceinte, le placenta constitue une barrière efficace contre le cadmium, et on estime que la charge corporelle du nouveau-né est inférieure à 0,001 mg, alors que celle de l'adulte atteint de 15 à 30 mg (Ellis et al, 1979).

Seule une faible proportion du cadmium absorbé (moins de 10 pour cent selon certaines expériences effectuées sur les animaux) est excrétée, principalement

dans l'urine et les fèces (Piscator, 1974). Il est éliminé en quantités négligeables par les cheveux, les ongles et la sueur.

La quantité de cadmium excrétée quotidiennement par un adulte normal atteindrait 0,002 mg (Organisation mondiale de la santé, 1974). Chez les sujets exposés au cadmium dans leur travail, les concentrations de ce métal dans l'urine peuvent être quelques centaines de fois plus fortes (Piscator, 1974).

III.2.2.4.Effets sur la santé

La consommation de boissons contenant de 13 à 15 mg de cadmium par litre a entraîné des vomissements et des crampes gastro-intestinales chez l'homme (Fulkerson, W., Goeller et al, 1973).

L'exposition chronique aux poussières de cadmium en suspension dans l'air produit un certain nombre d'effets nocifs; les deux principaux sont l'emphysème pulmonaire et la protéinurie (Friberg ; 1951).

Le zinc est antagoniste du cadmium, et on a montré qu'il pouvait prévenir ou réduire divers effets de l'administration expérimentale de cadmium, comme l'hypertension, (Schroeder ; 1967) les anomalies fœtales (Ferm., et Carpenter, 1968) et les lésions ovariennes (Mukerji et al, 1960) et testiculaires (Webb ; 1975)

Au cours d'études effectuées sur des animaux de laboratoire, certains composés de cadmium ont produit un sarcome à leur point d'injection, ainsi que des tumeurs dans les cellules interstitielles des testicules des rats (Oldiges et al, 1985).

L'inhalation d'aérosols de chlorure de cadmium a produit une forte incidence de cancers primitifs du poumon chez des rats (Oldiges et al, 1985).

III.2. 2.5 .Recommandations de l'OMS

L'Organisation mondiale de la santé a recommandé que l'apport de cadmium admissible provisoirement n'excède pas 0,4 à 0,5 mg par semaine ou 0,057 à 0,071 mg/jour Organisation mondiale de la santé (OMS, 1972).

III.3. Contamination des aliments par les métaux lourds

III.3.1.Présentation générale

Certaines activités humaines peuvent générer des polluants, c'est le cas des métaux lourds qui après être émis dans la nature, peuvent se retrouver dans la chaîne

alimentaire. C'est le cas du plomb et du cadmium, qui au delà d'une certaine dose journalière, peuvent présenter un risque pour la santé humaine (Miquel, 2001).

Le risque alimentaire combine deux éléments:

- le danger qui tient compte de la voie d'exposition, de la relation dose absorbée.
- et l'exposition, qui tient compte de la quantité de produit assimilé.

Dans cette étude nous nous intéresserons uniquement aux métaux lourds étudiés dans notre partie expérimentale c'est-à-dire le plomb et le cadmium.

L'alimentation reste la source majeure d'exposition aux métaux lourds, si les métaux sont présents en traces, dans pratiquement toute alimentation, les risques sont évidemment variables selon les secteurs et selon les produits. Les sources d'exposition sont présentes comme suit: **tableau 12**

Tableau12: Principales sources de métaux lourds dans l'alimentation (Mode de contamination de l'élément) (Miquel, 2001)

Plomb	cadmium
Fruits et légumes (contamination aérienne)	Fruits et légumes (contamination aérienne et eaux polluées)
Boissons (réseaux de distribution au plomb)	Boissons
Abats - Crustacés (bioconcentration)	Crustacés (bioconcentration)

III.3.2. La contamination au niveau de la filière laitière

Le lait est un aliment qui provient d'un mammifère, terrestre qui par sa physiologie et son anatomie est un filtre naturel pour une éventuelle contamination du lait par des métaux lourds (Ducauze; 2003).

Les contaminations possibles du lait par les métaux celles qui concernent le cadmium, le plomb et le mercure. Une contamination par le mercure représente un phénomène extrêmement rare pour les mammifères terrestres (Ducauze, 2003).

La figure3 présente les différentes sources de contamination du lait. En ce qui concerne le plomb(Pb), les problèmes liés aux denrées alimentaires existent depuis longtemps et aujourd'hui, ils sont encore causés par les soudures des boîtes de conserve et des boîtes de lait concentré, les bouchons métalliques (Das et al., 1996 ; Demirozu-Erdine et al., 2000).

Le cadmium (Cd) , dans le cadre de l'inventaire National de la Qualité : les produits laitiers étaient considérés comme responsables de 18,5% de l'apport total en cadmium, en deuxième position après les fruits et les légumes qui représentaient 30%(CSHPF).

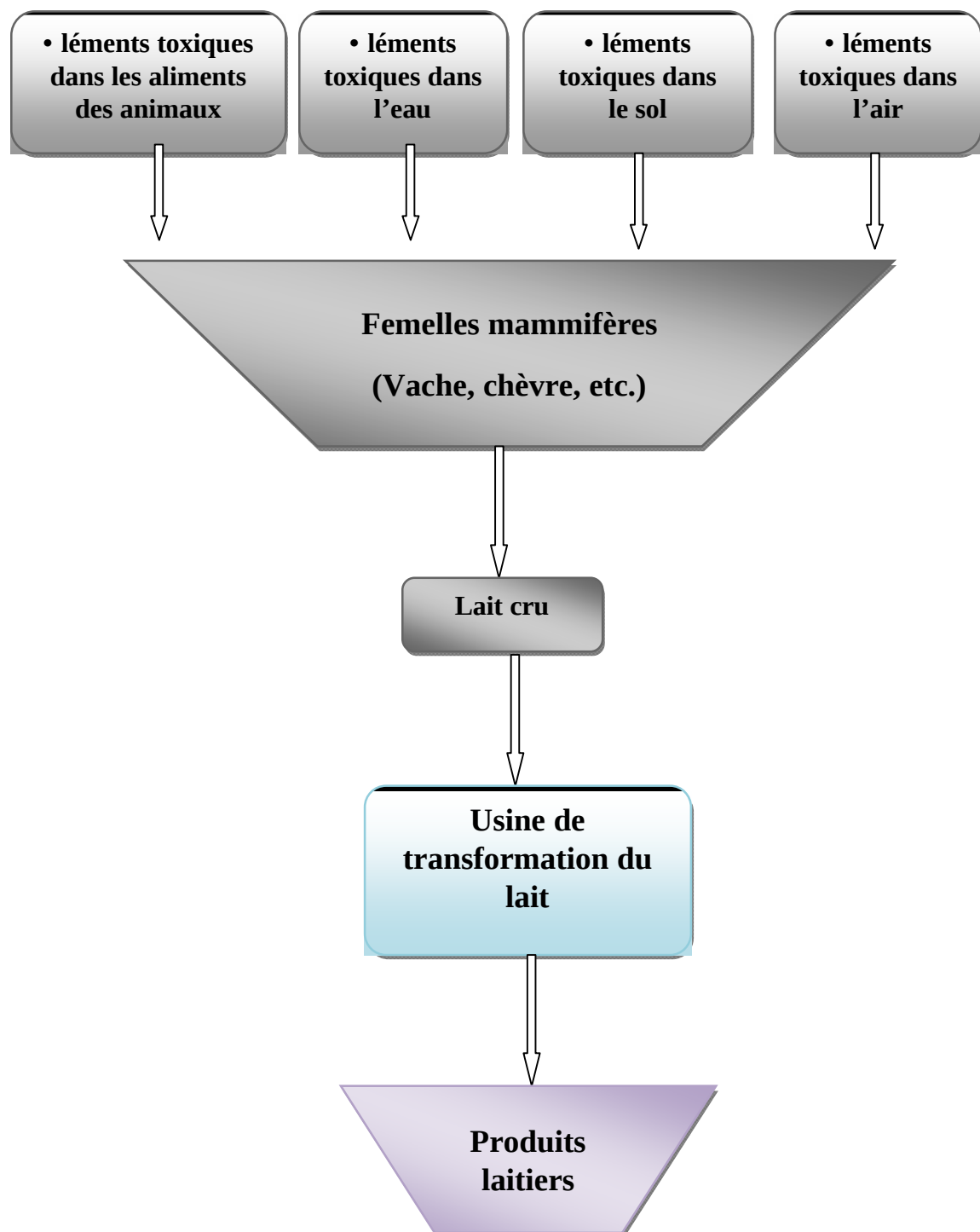


Figure2 : Sources de contamination du lait en éléments toxiques

Les risques de l'alimentation artificielle sont encore plus importants que ceux de l'allaitement. Il peut y avoir d'autres agents contaminants dans les aliments artificiellement produits, y compris dans les laits artificiels, dans l'eau avec laquelle les produits sont mélangés, les boîtes dans lesquelles les produits sont stockés (Shannon et al ; 1989).

Le problème de la contamination du lait humain a été largement soulevé dans les médias. Mais le lait de substitution est très souvent contaminé par du plomb (Shannon et al; 1989).

III.3.3. Recommandations

Il n'existe pas actuellement de norme donnant les teneurs limites en métaux lourds des lait est produit laitiers.

- Le conseil supérieur d'hygiène publique de France a émis une recommandation fixant à 0,050mg/kg la teneur maximale en plomb et absence de cadmium.
- Le codex alimentarius recommande une teneur maximale de 0,020mg/kg de plomb dans les produits laitiers.
- L'OMS recommande également des seuils à ne pas dépasser pour la consommation, en dose hebdomadaires tolérables provisoires (DHTP), de 25µg/kg pour le plomb et 7µg/kg pour le cadmium.

PARTIE
EXPERIMENTALE

***MATERIELS ET
METHODES***

L'objectif de notre travail est de contrôler les produits finis importés d'un lait en poudre, adapté aux nourrissons.

Pour cela, des analyses microbiologiques, physico-chimiques et toxicologiques ont été effectuées sur quatre marques de lait en poudre pour nourrissons provenant de différents fabricants.

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériels

I.1.1. Echantillonnage

I.1.1.1. Présentation de l'échantillon du produit analysé

Le lait étudié est conditionné dans des boîtes métalliques de 450g chacune, comportant une pellicule d'aluminium sous le couvercle.

La composition de ce lait se rapproche de celle du lait de femme, il provient du lait de vache auquel des modifications ont été apportées.

Pour des raisons de discrétion, les différentes marques utilisées au cours de notre étude seront désignées par des lettres : A, B, C et D.

I.1.1.2. Echantillonnage

Le choix de l'échantillonnage a été fait pour représenter le mieux possible les aliments lactés diététiques pour nourrissons les plus utilisés dans le commerce.

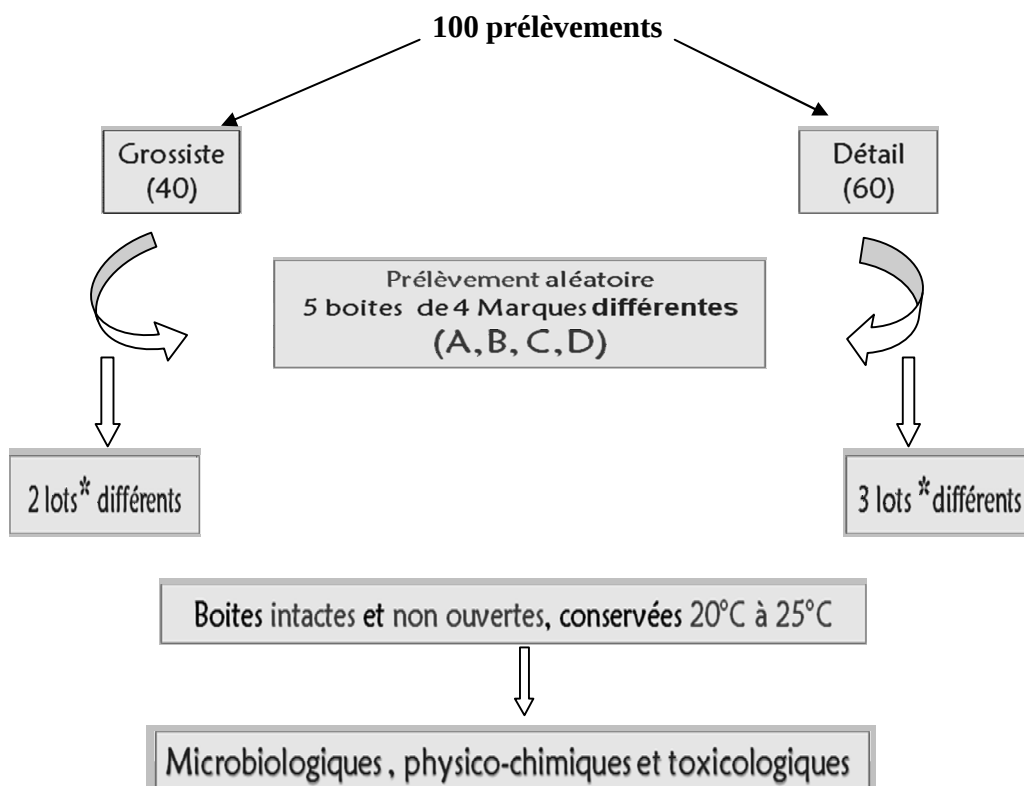
Il se compose de 100 boîtes de formules lactées du 2^{ème} âge provenant de différents commerces de détail (60 boîtes) et de grossistes (40 boîtes) de la wilaya d'Alger.

Chez les détaillants : pour chaque marque (A, B, C et D) nous avons prélevé aléatoirement 5 boîtes à trois dates différentes correspondant à 3 lots différents.

Chez les grossistes : nous avons prélevé de façon aléatoire 5 boîtes pour chaque marque (A, B, C, D) dans 2 lots différents.

Le contenu des boîtes intactes et non ouvertes, constitue l'échantillon. Les boîtes conservées à température ambiante (entre 20 à 25 °C), sont transportées vers le laboratoire en vue des examens microbiologiques en premier lieu, puis physico-chimiques et toxicologiques.

La répartition des échantillons est indiquée dans le **tableau13** et la figure 3.



Lots=Même date de fabrication mais avec un N° de lot •*

Figure 3 : Protocole d'échantillonnage

Tableau 13 : Présentation et répartition des quatre marques de lait en poudre analysées

Source	lots	marques	Pays d'origine	Poids net (g)	échantillons
détaillant	Lot n°1	A	France	450	5
		B	France		5
		C	France		5
		D	Jordanie		5
	Lots n°2	A	France	450	5
		B	France		5
		C	France		5
		D	Jordanie		5
	Lots n°3	A	France	450	5
		B	France		5
		C	France		5
		D	Jordanie		5
grossiste	Lots n° 4	A	France	450	5
		B	France		5
		C	France		5
		D	Jordanie		5
	Lots n° 5	A	France	450	5
		B	France		5
		C	France		5
		D	Jordanie		5

I.1.2. Matériels

I.1.2.1. Analyses microbiologiques

Nous avons utilisé du matériel usuel de laboratoire de microbiologie, les réactifs et les milieux de culture sont énumérés en annexe1.

I.1.2.2. Analyses physico-chimiques

En plus du matériel usuel de laboratoire de physico-chimie cité en Annexe 1, nous avons utilisé :

1. Appareillage

- Ø pH-mètre (HANNA instruments).
- Ø Butyromètre (GERBER) munis d'un bouchon approprié ;
- Ø Centrifugeuse électrique pour butyromètres à lait (FUNCE GERBER) ;
- Ø Dumas (rapide NIII).

I.1.2.3. Analyses toxicologiques

1- Appareillage

Ø Spectrophotomètre d'absorption atomique UNICAM 929 ;



Figure 4 : Spectrophotomètre d'absorption atomique

Ø Balance de précision (mettler PM 200) ;

Ø Four à moufle (température comprise entre 200°C à 1800°C) (HERAUS) ;

Ø Lampe à cathode creuse de solution : Plomb et Cadmium.



Figure 5 : Lampe à cathode creuse (Plomb). Figure 6 : Lampe à cathode creuse (Cadmium).

I.2. Méthodes

Nous développerons successivement les méthodes bactériologiques, physico-chimiques puis toxicologiques utilisées.

I.2.1. Analyses microbiologiques

Les analyses ont été effectuées au niveau de laboratoire de la microbiologie d'ENSV.

Dans cette partie nous nous intéresserons à la recherche et au dénombrement des espèces bactériennes fixées par l'Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1419 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet

1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (N° JORA 035 du 27-05-1998) à savoir :

- a- La flore aérobie mésophile totale.
- b- Coliformes totaux, E- Coli
- c- Anaérobies sulfito-réducteurs.
- d - Staphylococcus aureus
- e- Levures et moisissures.
- f- Salmonelles.

I.2.1.1. Préparation de la solution mère (Norme NF V 057 2)

Introduire aseptiquement 25g de lait en poudre, à l'aide d'une spatule métallique stérile, dans un sachet type « stomacher » contenant 225ml de TSE (Tryptone-Sel- Eau). Le tout est homogénéisé pendant 5 min. Cette suspension constitue la solution mère 10^{-1} (SM).

I.2.1.2. Préparation des dilutions décimales

- Ø Toutes les manipulations se font avec un maximum de précision et d'une manière aseptique.
- Ø Après homogénéisation convenable du produit à examiner, 1ml de la solution mère est prélevé à l'aide d'une pipette stérile et introduit aseptiquement dans un tube contenant 9 ml de (TSE) afin d'obtenir une dilution de 10^{-2} .
- Ø Le tube est agité manuellement pour rendre la dilution homogène,
- Ø En utilisant une nouvelle pipette stérile, 1 ml de la dilution 10^{-2} est prélevé puis ajouté à 9 ml de TSE donnant après homogénéisation une dilution de 10^{-3} .

I.2.1.3. Recherche et dénombrement de différents microorganismes

I.2.1.3.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale à 30°C (Norme NF V 08-51).

- **Principe**

Le principe consiste à ensemencer l'inoculum sur milieu gélose PCA et de l'incuber pendant 72 heures à 37°C.

- **Mode opératoire**

Mentionner chaque boîte de pétri : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .

- Introduire aseptiquement 1ml de chaque dilution dans des boîtes de pétri stériles puis faire couler 15ml de gélose PCA. L'inoculum est mélangé en suivant des mouvements rotatifs en forme de huit. Après solidification, 5ml de la gélose PCA sont encore versés sur la surface des boîtes.

- Après solidification, placer les boîtes retournées dans l'étuve à 30°C pendant 72 heures ;

- **Lecture**

Dénombrer uniquement les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.

Le résultat est exprimé en nombre de germes par ml ou g ; à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{C}{1,1 \times d}$$

Où :

- **C** : est la somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.
- d** : est le taux de dilution correspondant à la première dilution.

I.2.1.3.2 - Recherche et dénombrement les coliformes totaux et fécaux (Norme NF V 08-050)

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et coliformes thermotolérants (coliformes fécaux) par comptage des colonies obtenues à 37°C et à 44°C.

- **Mode opératoire**

- Le dénombrement est réalisé sur le milieu VRBL.

- Porter aseptiquement 1ml de chaque dilution (10^{-1} à 10^{-3}) dans une boîte de pétri vide et stérile (2 boîtes/dilution).

- couler environ 15ml de la gélose VRBL et faire des mouvements circulaires pour bien mélanger la gélose à l'inoculum.

- Couler de nouveau 4 ml de milieu de façon à former une deuxième couche puis incubé à 37°C pendant 24-48h

• **Lecture :**

Les coliformes apparaissent sous forme de petites colonies de couleur rouge ayant poussé en masse dans les boîtes.

- Seules les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies sont quantifiées.

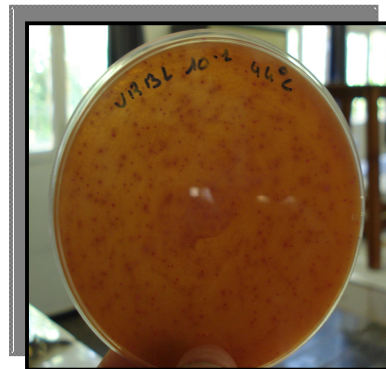


Figure 7 : Colonies de coliformes fécaux (Photo personnelle)

I.2.1.3.3. Recherche d'*Escherichia coli* (NF V 08-053)

La majorité des coliformes thermotolérants (fécaux), et spécifiquement *E. coli* sont des indicateurs d'une contamination fécale.

Les colonies suspectes obtenues à partir de la gélose VRBL incubée à 44°C, sont ensemencées sur gélose nutritive inclinée puis incubée à 37°C pendant 24h. Des tests biochimiques sont réalisés ensuite afin de définir l'espèce bactérienne.

• **Mode opératoire :**

- Devant le bec bunsen, introduire quelques colonies caractéristiques dans des tubes stériles contenant de l'eau peptonée exempte indole, puis incubé à 37°C pendant 24h.
- Rajouter quelques gouttes de réactif de kovacs pour la révélation de l'indole.

• **Lecture des résultats :**

L'apparition d'un anneau rouge en surface signifie une réaction Indole positive.

Le diméthyle-amino-4-benzaldéhyde contenu dans le réactif de Kovacs réagit avec l'indole, produit de la **tryptophanase**, et forme un composé coloré en rouge.

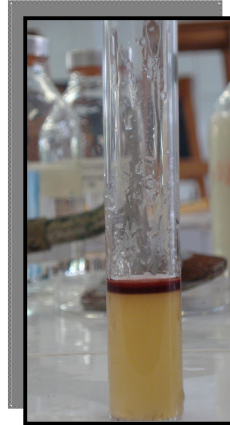


Figure 8 : Test Indole + (Photo personnelle)

I.2.1.3.4. Staphylococcus aureus (NF V 08-057)

Sa recherche est basée sur l'emploi de milieux gélosés Baird Parker additionnés de jaune d'œuf et de tellurite de potassium.

Le tellurite de potassium et le jaune d'œuf sont ajoutés à raison de 1 ml pour 20 ml de milieu de base.

A- Préparation de la gélose

- Devant le bec bunsen, 25ml d'émulsion de jaune d'œuf et de tellurite de potassium sont additionnés à de la gélose Baird Parker fondue au préalable.

NOTE : *1flacon de 100ml d'émulsion jaune d'œuf + tellurite dans 1L de gélose Baird Parker.*

- Après homogénéisation, le milieu est coulé dans les boîtes de pétri à raison de 15ml/ boîte.

B-Ensemencement

- à l'aide d'une pipette stérile, transférer 0,1 ml des dilutions 10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} , à la surface de la gélose Baird Parker.

- Etaler soigneusement l'inoculum à la surface de la gélose puis incubé les boîtes couvercle en haut à 37°C pendant 24h.

*** Lecture**

Après incubation, marquer sur le fond des boîtes les colonies typiques et atypiques. Les colonies typiques apparaissent de couleur noire avec un aspect brillant, convexe et entourées d'une zone transparente.

La couleur noire correspond à la réduction du tellurite en tellure de potassium, tandis que la zone claire correspond à la protéolyse des protéines de jaune d'œuf.

Les colonies atypiques sont des colonies noires et brillantes avec ou sans bord blanc étroit, la zone claire est absente et la réaction avec le jaune d'œuf est négative ou faiblement positive.

C-Dénombrement

Ne sont retenues que les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques, puis 3 colonies de chaque type sont prélevées en vue du test de confirmation.

D- Identification

La confirmation se réalise par la mise en évidence de caractères spécifiques, feront l'objet d'une mini galerie.

a- Epreuve à la catalase :

Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée à 10v, à l'aide d'une pipette pasteur, puis ajouter une culture bactérienne de la colonie suspecte.

L'apparition de bulles dégagement gazeux de dioxygène signe une réaction catalase+.

b- Epreuve à la coagulase :

A l'aide de l'anse de platine, prélever la surface de la colonie retenue et la transférer dans un tube de BHIB.

Incuber pendant 24 à 48h à 37°C.

A partir de cette pré-culture, on prélève 0,5ml, auxquels on ajoute 0,3ml de plasma de lapin.

Incuber dans une étuve à 37°C et en examinant la coagulation du plasma 2h, 6h puis 24h après.

Lecture :

La prise en masse du contenu du tube signe une souche staphylocoagulase +.

c - Autres caractères

- Mannitol-mobilité

Sur un milieu semi solide (mannitol-mobilité) ensemercer par pique centrale à l'aide d'un fil droit chargé d'une culture pure prélevée sur la gélose.

Incuber à 37°C pendant 24h.

Le virage de couleur en jaune signe une réaction mannitol +, la mobilité est appréciée sur le tube gélifié.

- Milieu M.E.V.A.G : milieu d'étude des voies d'attaque du glucose.

3 tubes de gélose semi solide M.E.V.A.G sont nécessaires.

- Le premier tube est ensemençé par pique centrale d'une culture pure prélevée sur la gélose Baird Parker.
- Le deuxième tube subit la même technique, en rajoutant de l'huile de paraffine stérile au dessus, d'une hauteur de 1 à 1,5cm.
- Le troisième tube, sert de tube témoin.

Lecture

Virage au couleur jaune, des 2 tubes : bactérie fermentative (**fermentation du glucose +**).



Figure 9 : Test de fermentation du glucose

I.2.1.3.5. Anaérobies sulfito-réducteurs. (Norme NF V 08-019)

Ils sont recherchés sur milieu gélose viande foie (VF) auquel on ajoute de l'alun de fer et du sulfite de potassium.

Technique :

- ◆ Prélever 1ml des dilutions 10^{-1} et 10^{-2} et les introduire aseptiquement dans deux tubes à essai vides et stériles.
- ◆ Incuber les tubes dans un bain-marie à 80°C pendant 10 min.
- ◆ Refroidir immédiatement après sous l'eau de robinet dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.
- ◆ Couler dessus environ 15ml de gélose VF additionnées de sulfite de sodium et d'alun de fer.

Note : 1 flacon de gélose VF fondue au préalable est additionné d'une ampoule de sulfite de sodium et d'une ampoule d'alun de fer.

- ◆ Laisser solidifier.
- ◆ Puis incuber à 37°C pendant 24h à 48h.

Lecture :

Les colonies apparaissent entourées d'un halo noir dues à la réduction des sulfites de sodium en sulfate de fer. La lecture est effectuée par comptage de colonies caractéristiques.



Figure 10 : Colonies caractéristique des anaérobies sulfito-réducteurs (Photo personnelle).

Identification biochimique

-Devant le bec bunsen, à l'aide d'une anse de platine prendre la colonie noire suspecte et l'ensemencer dans un bouillon TGY. Placer ce tube dans un agitateur puis incubé en anaérobiose pendant 24 à 48h.

Lecture

A partir de ce tube on réalise, la coloration de Gram.

I.2.1.3.6. Recherche et Dénombrement des levures et moisissures (Norme XP V08-059).

Ce sont des eucaryotes hétérotrophes qui sont en général acidophiles et mésophiles. Les levures se distinguent par une forme ovoïde, unicellulaire, de type respiratoire aérobie avec un métabolisme oxydatif.

Technique :

- Faire fondre le milieu OGA.
- Refroidir à 48° C.
- Couler en boîtes de pétri stériles.
- Laisse solidifier sur une surface froide.
- Porter aseptiquement 4gouttes des dilutions décimales 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .
- Ensemencer par étalement à la surface des boites de pétri contenant de la gélose OGA.
- Incuber à 25°C pendant 5 jours.

Lecture

Les colonies de levures sont rondes, brillantes et bombées, de couleur blanche et d'odeur désagréable. Les Champignons sont veloutés et plus grands.

Dénombrement

- Dans 1ml il y'a 20 gouttes, étant donné qu'on a pris 4 gouttes, il faut multiplier le nombre trouvé par 5.
- Multiplier le nombre trouvé par l'inverse de la dilution
- Faire la moyenne arithmétique.

I.2.1.3.7. Recherche des Salmonelles (Norme NF V 08-052)**• Technique****1ère étape : Pré enrichissement**

- Introduire aseptiquement 25g de lait en poudre dans 225ml de milieu EPT
- Homogénéiser puis incubé à 37°C pendant 24h.

2ème étape : Enrichissement

Réaliser dans du bouillon sélénite cystéine (SFB) et le bouillon Rappaport Vassiliadis(RP).

- Prélever 1ml du milieu de pré enrichissement et l'introduire aseptiquement dans un tube contenant environ 10ml de bouillon SFB, auquel on a rajouté un disque de SFB ; après homogénéisation incubé à 37°C pendant 24h
- D'autre part, 0,1ml de bouillon de pré-enrichissement sont mélangés à 10 ml de bouillon(RP), puis incubés à 42°C pendant 24h

3ème étape : Isolement

L'isolement est effectué sur les milieux gélosés Hektoen et VRBL.

Prélever à partir du bouillon d'enrichissement, 2 gouttes et les ensemercer par étalement à la surface des 2 boîtes de pétri avec une anse de platine contenant un milieu d'isolement sélectif solide (Hektoen et VRBL).

Incuber à 37°C pendant 24h.

- **Lecture** : après 24h d'incubation, examiner les boîtes afin de rechercher la présence des colonies typiques de salmonelles (les colonies sont bleu-vert avec un centre noir à partir du milieu Hektoen et incolores sur milieu VRBL).

I.2.2. Analyses physico-chimiques

Nos travaux ont été réalisés en partie à L'ITELV et au niveau du laboratoire central de la police scientifique

Objectifs

L'analyse physico-chimique du lait sec est très importante. Elle nous permet de connaître sa composition exacte ainsi que la nature et la concentration de ses différents constituants habituels. (Toutes les analyses ont été réalisées selon le manuel des normes A.F.N.O.R, 1986).

I.2.2.1. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) (NF .V04-206).

Le pH est le coefficient qui caractérise l'acidité ou la basicité d'un milieu (une solution est acide si son pH est inférieur à 7, et basique s'il est supérieur à 7).

Ø **Principe** : la mesure du pH est réalisée par un pH mètre.

Ø **Mode opératoire** :

- Introduire 10g de lait sec dans un bécher contenant 100ml d'eau distillée.
- Après dissolution complète, laisser reposer pendant 15 minutes.
- Tremper l'électrode du pH mètre dans le bécher.
- Laisser stabiliser un moment, puis noter la valeur du pH inscrite sur l'écran de l'appareil.

Ø **Expression des résultats** :

La valeur du pH est lue directement sur l'échelle graduée du pH mètre.

I.2.2.2. Détermination de la matière sèche (NV 04-207)**Principe**

L'extrait sec total est la masse restante après une dessiccation complète d'une quantité déterminée de l'échantillon.

Ø **Mode opératoire**

- Peser 3g de lait sec dans une capsule propre préalablement tarée.
- Placer la capsule dans l'étuve réglée à 105°C pendant 3h.
- Après évaporation d'eau et refroidissement, réaliser une 2^{ème} pesée.

Expression des résultats

L'extrait sec total est déterminé suivant la relation :

$$\text{EST}\% = \frac{m_1 - m_2}{m_3} * 100$$

Ou :

m₁ : masse en gr de la capsule et la prise d'essai après dessiccation.

m₂ : masse en gr de la capsule vide.

m₃ : masse en gr de la prise d'essai initiale.

I.2.2.3. Détermination du taux d'humidité (NF V 04-342)**Ø Principe**

La détermination de taux d'humidité repose sur l'estimation de la quantité d'eau contenue dans la poudre de lait après dessiccation. Elle est exprimée en %.

Ø Mode opératoire : il est le même que celui décrit précédemment.

Ø Expression des résultats

Le taux d'humidité (H%) est calculé selon la formule suivante :

$$\text{H}\% = 100 - \text{EST}$$

Ou :

H : taux d'humidité (%)

EST : extrait sec total (%)

I.2.2.4. Mesure de l'acidité titrable (NF V 04-349)

Ø **Objet** : Elle est exprimée par le pourcentage en masse d'acide lactique par rapport au lait sec.

Ø **Principe**

Elle est titrée par l'hydroxyde de sodium (NaOH) en présence de phénolphthaléine

Ø **Mode opératoire :**

- Dissoudre 2g de l'échantillon dans 20 ml d'eau distillée.
- Mélanger le contenu à l'aide d'un BARRO magnétique.
- Laisser reposer pendant 20minutes.
- Ajouter 4 à 5 gouttes de phénophtaléine et titrer avec la solution sodique jusqu'à l'apparition de la couleur rose qui doit persister au moins 10 secondes.

Ø **Expression des résultats**

Les résultats, exprimés en pourcentage massique, sont donnés par la formule suivante :

$$\text{Acidité\%} = 0,01g \times V \times (100/2) = V/2$$

V : volume de la chute de la burette (le volume en ml de solution sodique à 0,111mol/l)

I.2.2.5. Dosage des chlorures (NF N 04-212)

Ø **Principe**

Les chlorures sont dosés par une solution titrée de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium.

Le principe repose sur le titrage des ions $\text{Cl}^\bullet$ par les ions $\text{Ag}^\bullet$

Ø Mode opératoire**-Essai à blanc**

Titre, avec le nitrate d'argent (AgNO_3 , 0,1N), 100ml d'eau distillée additionnées de quelques gouttes de chromate de potassium (10%) jusqu'à obtenir une couleur rougeâtre.

Soit « V0 » le volume de chute de burette.

-Dosage des échantillons :

- Dissoudre 5g de l'échantillon dans 100 ml d'eau distillée puis agiter à l'aide d'un barreau magnétique.
- Ajouter quelques gouttes de solution de chromate de potassium (K_2CrO_4) à 10%.
- Titrer à l'aide d'une burette la solution de nitrate d'argent (AgNO_3) à 0,1N.
- Jusqu'à apparition d'une couleur rouge qui doit persister 1 à 3 minutes.

Soit « V » le volume de la chute de burette.

Ø Expression des résultats

$$\text{Chlorures (\%)} = (V - V_0) \cdot N \cdot F/m$$

V0 : volume d' AgNO_3 à blanc.

V : volume d' AgNO_3 de la prise d'essai.

N : la normalité de $\text{AgNO}_3 = 0,1$

F : 3,55 pour exprimer le pourcentage de Cl^- .

M : masse de la prise d'essai.

I.2.2.6. Détermination de la teneur en matière grasse (NF V 04-346)

Elle est réalisée par la méthode acido-butyrométrique dite de Gerber.

Ø Principe

Ø On réalise d'abord l'attaque du lait par l'acide sulfurique, puis la séparation des phases par centrifugation en présence d'alcool isoamylique. La matière grasse se sépare en une couche claire et transparente.

Ø Mode opératoire

- Mettre 10 ml de H_2SO_4 dans le butyromètre.
- Ajouter 8ml d'eau distillé à l'aide de la pipette, en se laissant se vider lentement afin d'éviter un mélange avec l'acide.
- Introduire 2,5g de lait en poudre dans le butyromètre.
- Ajouter 1ml d'alcool isoamylique à l'aide d'une pipette graduée sans mouiller le col du butyromètre.
- Boucher le butyromètre puis secouer horizontalement afin d'éviter une attaque trop brutale du lait par acide.
- Retourner ensuite et secouer à plusieurs reprises.
- Placer le butyromètre dans le bain-marie 65°C pendant 5min
- Centrifuger pendant 5min
- Ajuster le bouchon de manière à ce que le niveau du liquide soit situé dans la partie supérieure de l'échelle graduée.
- Plonger le butyromètre verticalement le bouchon en bas dans le bain-marie 65°C pendant 5min.

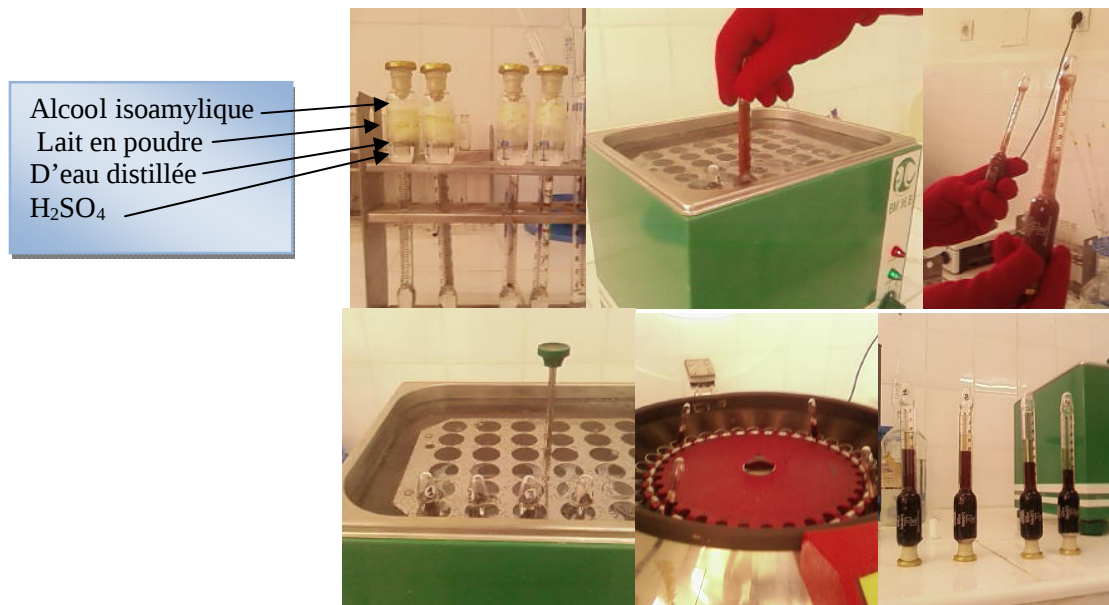


Figure 11 : Méthode d'acido-butyrométrique (photo personnelle)

Ø **Lecture**

- Faire la lecture directement sur le butyromètre.
- Le butyromètre étant maintenu verticalement.
- Lire la valeur (A) de la graduation correspondant au niveau inférieur de la colonne liquide, et lire aussi la valeur (B) de la graduation correspondant au niveau supérieur de la colonne liquide

Ø **Expression des résultats**

La teneur en matière grasse, exprimée en pourcentage masse.

- Soit B la valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse.
- Soit A la valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse.

$$MG = B - A$$

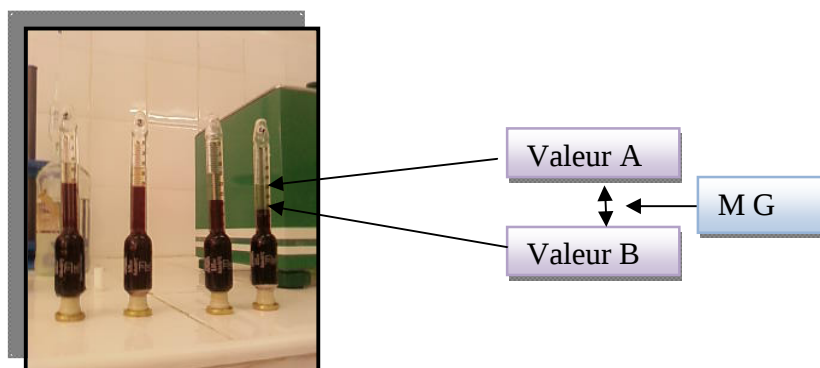


Figure 12: Détermination de la teneur en matière grasse

I.2.2.7. Détermination de la teneur en protéines.

Dosage de l'azote total et estimation de la teneur en protéines. Cette analyse est pratiquée par la méthode de DUMAS (rapide NIII).

Ø Principe :

Le rapide NIII consiste en la détermination de l'azote total par la combustion de l'échantillon.

En présence d'oxygène l'échantillon subit une combustion qui le transforme en azote.

L'azote est véhiculé par le gaz carbonique qui est le gaz de référence, qui est ensuite détecté par le détecteur type TCD (Détecteur de Conductivité Thermale).

Ø Mode opératoire :

Des pesées ne dépassant pas 3g sont réalisées, et placées dans des capsules spéciales pour être calcinées à 1200°C en présence d'oxygène.

Les produits de la combustion (dioxyde de carbone, sulfures et eau) sont absorbés sélectivement sur colonnes, tandis que les oxydes d'azote sont réduits en azote gazeux par présence de cuivre, qui est stocké dans une cellule de conductibilité pour déterminer sa concentration.

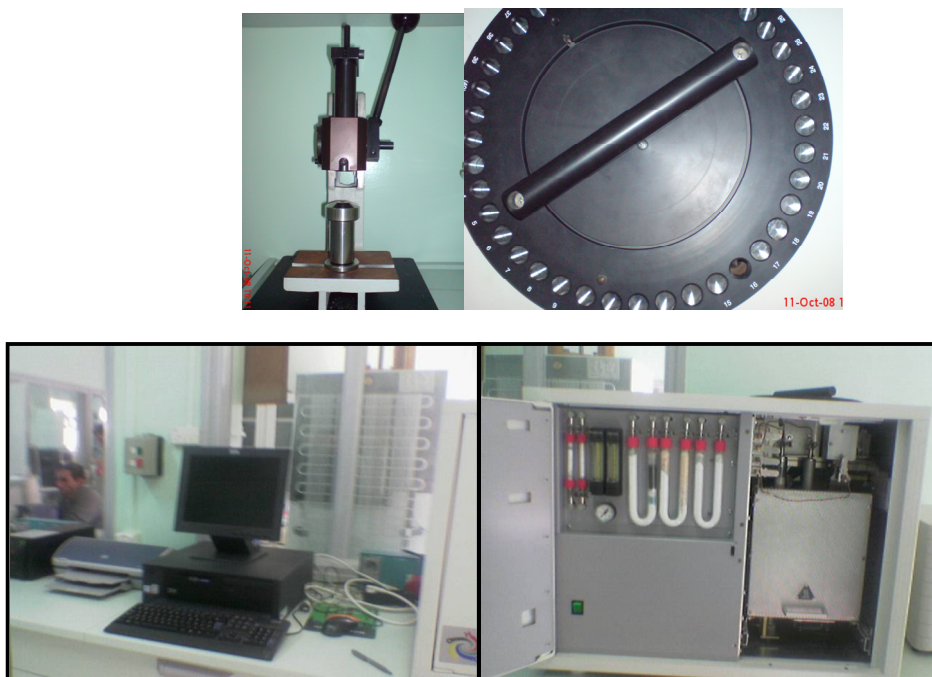


Figure 13 : Méthode de DUMAS (rapide NIII)(photo personnelle)

Ø Résultat :

La conversion de l'azote en protéines s'effectue à l'aide d'un coefficient de multiplication 6,38.

I.2.3. Analyses toxicologiques

I.2.3.1. Méthodes d'analyse

Il n'existe pas encore à l'heure actuelle, des méthodes officielles normalisées pour la mesure des teneurs en métaux lourds dans le lait et les produits laitiers.

Les méthodes utilisées actuellement tournent autour du même principe (mesure en spectrométrie d'absorption atomique), celle-ci est très bien adaptée à toutes les matrices environnementales et biologiques (Ducauze, 2003).

La recherche du plomb et du cadmium, est réalisée par spectrophotométrie d'absorption atomique. Toutes les analyses ont été effectuées au niveau du laboratoire central de la police scientifique.

I.2.3.2. Principe

Son principe est basé sur la mesure des concentrations en plomb et cadmium à partir de l'absorbance du spectre du plomb ou cadmium émis par une lampe par des atomes de plomb ou cadmium vaporisés dans le faisceau lumineux de la lampe (Delves, 1970).

Les échantillons sont soumis à l'hydrolyse acide par H_2SO_4 et HNO_3 , avec reprise des cendres en milieu nitrique à 10%.

Les échantillons sont analysés par injection dans le spectrophotomètre.

I.2.3.3. Préparation des nacelles et de la verrerie

Les nacelles et la verrerie nécessaires doivent subir obligatoirement un traitement avant toute nouvelle manipulation : lavage, rinçage à l'eau distillée, trempage dans un bain d'acide nitrique à 20% pendant 12h, rinçage à l'eau bidistillée.

I.2.3.4. Solutions étalons

I.2.3.4.1. Cadmium

La courbe d'étalonnage est construite par dilutions successives d'une solution mère 1g/l et de la solution fille 100mg/l ainsi que la solution étalon 10mg/l.

- Préparation de la courbe d'étalonnage (courbe 1) en annexe 2
 - Préparer 03 fioles jaugées de 100 ml préalablement nettoyées et rincées à l'eau bidistillée.
 - Mettre dans chaque fiole 50ml d'eau bidistillée.
 - Ajouter dans chacune des fioles respectivement 1ml, 5ml et 10ml de la solution étalon à 10 ppm, les solutions étalons contiennent respectivement : 1, 5, 10 mg/l de cadmium.
 - Les absorbances obtenues sont de 0,027, 0,137, 0,0274.

I.2.3.4.2. Plomb

- La courbe d'étalonnage est construite par dilutions successives d'une solution mère 1g/l et de la solution fille 100mg/l ainsi que la solution étalon 10mg/l.
- Préparation de la courbe d'étalonnage (courbe 2) en annexe 2

- Préparer 03 fioles jaugées de 100 ml préalablement nettoyées et rincées à l'eau bidistillée.
- Mettre dans chaque fiole 50ml d'eau bidistillée.
- Ajouter dans chacun des fioles respectivement 1ml, 5ml et 10ml de la solution étalon à 10 ppm, les solutions étalons contiennent respectivement : 1, 5, 10 mg/l de cadmium.
- Les solutions étalons contiennent 1/5/10 ppm de plomb et leur absorbances obtenues sont 0,004/0,016/0,033.

I.2.3.5. Mode opératoire

5 -1 –Minéralisation

- Peser 2g de lait en poudre dans un creuset.
- Ajouter 1ml d'acide sulfurique.
- Les échantillons sont placés dans un four à moufle et la température est élevée très progressivement pour éviter les pertes par projection. La température est maintenue à 500°C pendant 5h. Les cendres obtenues doivent être blanches.
- Après refroidissement introduire 2ml de HNO_3 (10%) dans les creusets, chauffer très légèrement afin de dissoudre les cendres sans évaporer l'acide nitrique.
- Transvaser quantitativement dans des fioles jaugées de 50ml, et ajuster avec de l'eau bidistillée.
- Les minéralisats obtenus contiennent 0,4% HNO_3 .
- L'échantillon est prêt pour l'analyse.

Un essai à blanc est préparé en même temps, et dans les mêmes conditions opératoires

I.2.3.6. Paramètres d'analyses

I.2.3.6.1. Cadmium : mode instrument : flamme

Longueur d'onde : 228.8nm

Type de flamme : air – C_2H_2

Unités de concentration mg/l.

I.2.3.6.2. plomb : mode instrument : flamme

Longueur d'onde : 217nm

Type de flamme : air –C₂H₂

Unités de concentration : mg/l.

I.2.3.7. Calculs :

à partir des mesures d'absorbances et des concentrations des solutions étalons on trace la courbe d'étalonnage qui servira pour la détermination de la teneur en cadmium et de plomb des échantillons à l'aide des courbes 1 et 2.

La concentration « C » de Cd et Pb des échantillons est donnée par la formule suivante :

$$C = \frac{A \times V \times 1000 \text{ ppm}}{B \times P}$$

A : absorbance

P : poids de l'échantillon.

B : facteur de dilution.

V : volume final du minéralisât(g).

1.2.4. Analyses statistiques

Les différents résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± déviation standard SD.

Les résultats sont analysés en utilisant test de Fisher. Le seuil de signification choisi est d'au moins de 5%.

Toutes ces analyses sont effectuées à l'aide du programme Stat View.

RESULTS

Nous développerons successivement les résultats des analyses Microbiologie, physico-chimique puis toxicologiques.

I. résultats des analyses microbiologiques.

I.1.Flore aérobie mésophile totale (FAMT)

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau N°14 et figures N°14.

Toutes les marques ont présenté des contaminations par la FAMT avec des taux de positivité compris entre 40 et 66%.

Le taux de contaminations pour le détaillant est de 50% à 70%, grossistes est de 40% à 60%.

Tableau 14: Taux de contamination des échantillons par la FAMT.

Marques	Source	Nombre d'échantillons	Echantillons positifs(+) (<norme)	Dénombrement
A	Grossiste	10	4 (40%)	40 10^2
	Détail	15(n=10)	7(70%)	80 10^2
B	Grossiste	10	5 (50%)	10 10^2
	Détail	15(n=10)	6 (60%)	20 10^2
C	Grossiste	10	6 (60%)	10 10^2
	Détail	15(n=10)	6 (60%)	10 10^2
D	Grossiste	10	5 (50%)	300
	détail	15(n=10)	5 (50%)	400

Note : convertir n=15 à n=10

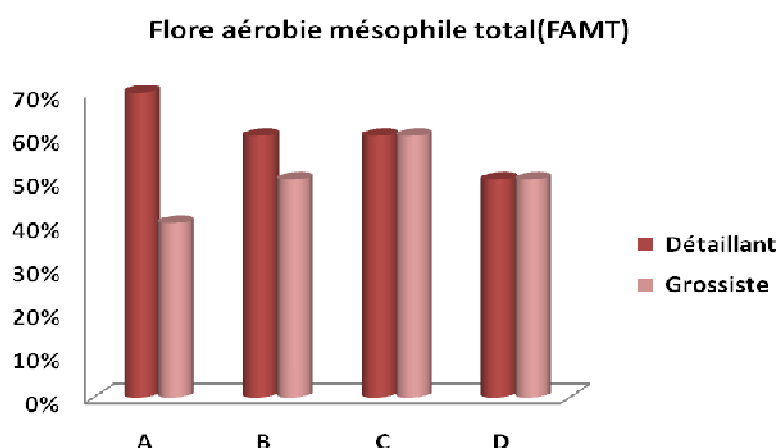


Figure 14:Taux de contamination des échantillons par la FAMT(%)

I.2.Coliformes totaux

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau N°15 et figures N°15

Tout les échantillons que nous avons analysés ont présenté une contamination comprise entre 20% et 50%, pour le détaillant est de 10% à 50% et le grossiste est de 20% à 40%.

Tableau 15 : Taux de contamination des échantillons par les coliformes.

Marques	Coliformes	Nombre d'échantillons	Echantillons positifs(+) (<norme)
A	Grossiste	10	3 (30%)
	Détail	15(n=10)	5(50%)
B	Grossiste	10	4 (40%)
	Détail	15(n=10)	4(40%)
C	Grossiste	10	2 (20%)
	Détail	15(n=10)	3(30%)
D	Grossiste	10	2 (20%)
	détail	15(n=10)	2 (20%)

Note : convertir n=15 à n=10

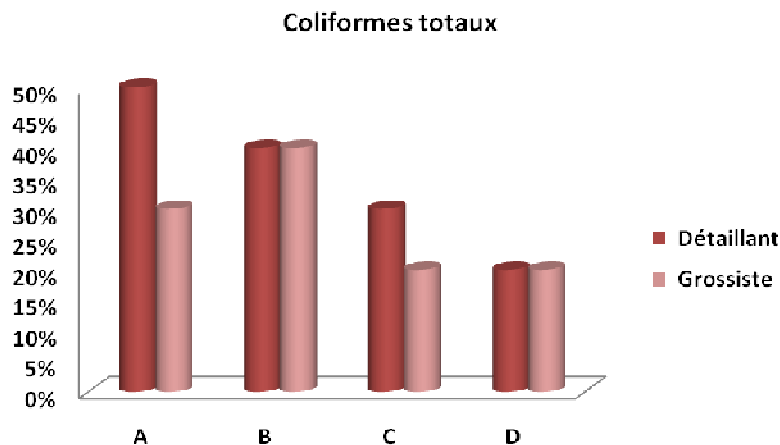


Figure 15: Taux de contamination des échantillons par les coliformes totaux (%)

I.3.Coliformes fécaux

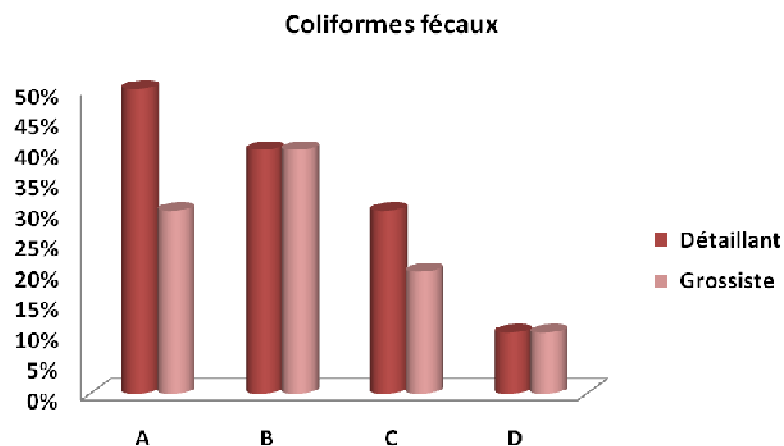
Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau N°16 et figures N°16.

Tout les échantillons que nous avons analysés ont présenté une contamination comprise entre 13% et 53%, pour le détaillant est de 10% à 50% et le grossiste est de 10% à 40%.

Tableau 16: Taux de contamination des échantillons par E-coli.

Marques	E-coli	Nombre d'échantillons	Echantillons positifs(+) (<norme)
A	Grossiste	10	3 (30%)
	Détail	15(n=5)	5(50%)
B	Grossiste	10	4 (40%)
	Détail	15(n=5)	4 (40%)
C	Grossiste	10	2 (20%)
	Détail	15(n=5)	3 (30%)
D	Grossiste	10	1 (10%)
	détail	15(n=5)	1 (10%)

Note : convertir n=15 à n=10

**Figure 16: Taux de contamination des échantillons par les coliformes fécaux (%)**

I.4. Clostridium sulfito-réducteur

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau N°17 et figures N°17.

Tout les échantillons que nous avons analysés ont présenté une contamination comprise entre 10% et 20%, pour le détaillant est de 10% à 20% et le grossiste est de 10%.

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

Marques	Clostridium sulfito-réducteur	Nombre d'échantillons	Echantillons positifs(+) (<norme)	Dénombrement
A	Grossiste	10	1(10%)	1germe/0,1g
	Détail	15(n=10)	2(20%)	1germe/0,1g
B	Grossiste	10	1(10%)	1germe/0,1g
	Détail	15(n=10)	1(10%)	1germe/0,1g
C	Grossiste	10	0 (0%)	0
	Détail	15(n=10)	1(10%)	1germe/0,1g
D	Grossiste	10	0 (0%)	0
	détail	15(n=10)	0 (0%)	0

Note : convertir n=15 à n=10

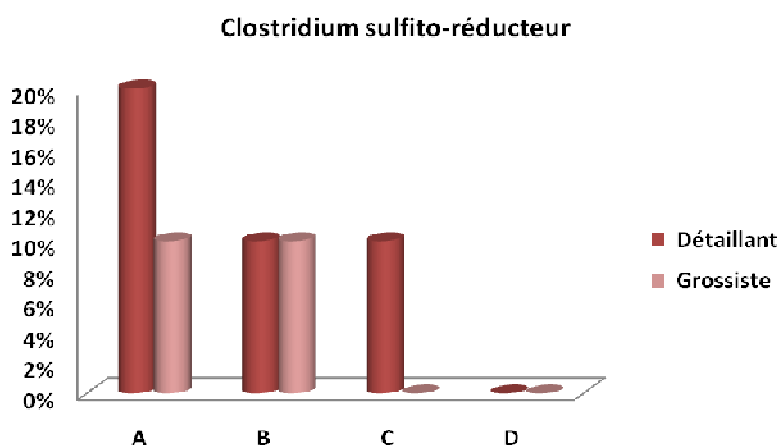


Figure 17: Taux de contamination des échantillons par les Clostridium sulfito-réducteur (%)

I.5.Staphylococcus aureus

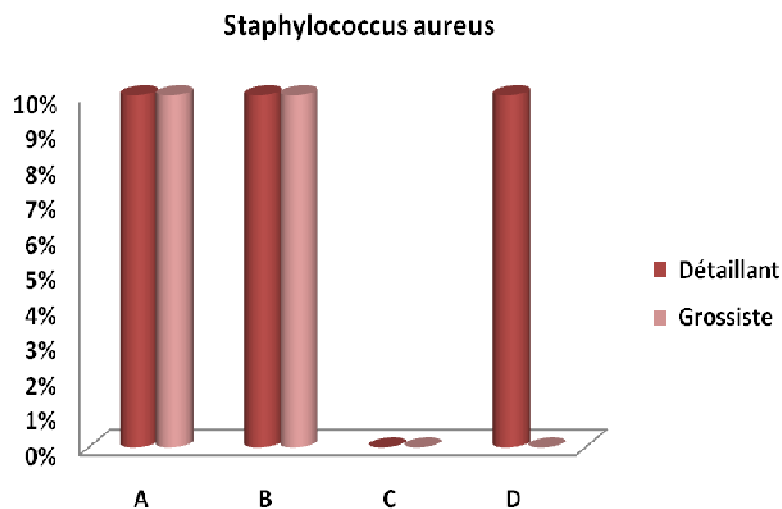
Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau N°18 et figures N°18

Trois marques ont présenté des contaminations avec des taux de positivité compris 10%

Le taux de contamination pour le détaillant et le grossiste sont de 10%.

Tableau 18 : Taux de contamination des échantillons par Staphylococcus aureus.

Marques	Staphylococcus aureus.	Nombre d'échantillons	Echantillons positifs(+) (<norme)
A	Grossiste	10	1 (10%)
	Détail	15(n=10)	1(10%)
B	Grossiste	10	1 (10%)
	Détail	15(n=10)	1 (10%)
C	Grossiste	10	0 (0%)
	Détail	15(n=10)	0 (0%)
D	Grossiste	10	0 (0%)
	détail	15(n=10)	1(10%)

**Figure 18 : Taux de contamination par les Staphylococcus aureus.**

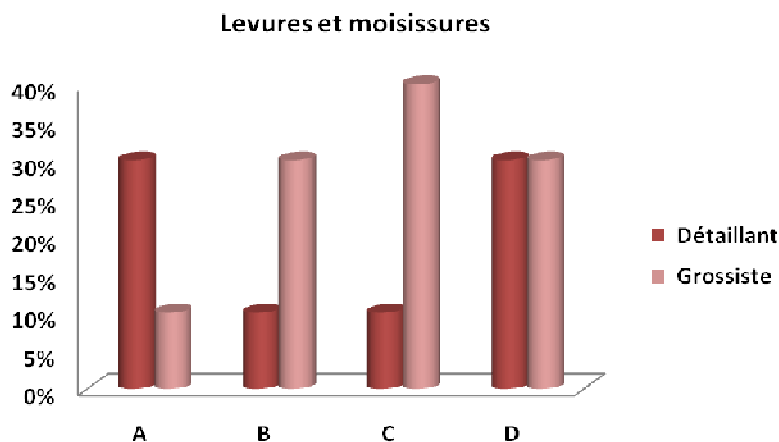
I.5. levures et moisissures

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau N°19 et figures N°19

Tous les échantillons que nous avons analysés ont présenté une contamination comprise entre 10% et 40%. Pour le détaillant est de 10% à 30% et pour le grossiste est de 10% à 40%.

Tableau 19 : Taux de contamination des échantillons par les levures et moisissures.

Marques	levures et moisissures	Nombre d'échantillons	Echantillons positifs(+) (<norme)	Dénombrement
A	Grossiste	10	1(10%)	100
	Détail	15(n=10)	3 (30%)	100
B	Grossiste	10	3(30%)	300
	Détail	15(n=10)	1 (10%)	100
C	Grossiste	10	4 (40%)	100
	Détail	15(n=10)	1 (10%)	100
D	Grossiste	10	3 (30%)	200
	détail	15(n=10)	3(30%)	200

**Figure 19 :** Taux de contamination des échantillons par les levures et moisissures**I.6.salmonelle.**

Tous nos résultats se sont révélés négatifs 0%

II. Les paramètres physicochimiques dans différents types de lait et selon la source

Les résultats des tests physicochimiques de l'ensemble des échantillons analysés sont rapportés dans le tableau 20 et représentés par les figures numérotés de 20 à 26.

Nous étudierons successivement les résultats du pH, de l'humidité, de la matière sèche, acidité, chlorures, matières grasses et les protéines.

- **Concernant le p H**

Pour l'ensemble des résultats les taux de pH varient entre 6,6 à 6,7 chez le détaillant et entre 6,5 à 6,7 chez le grossiste. Ces valeurs sont dans les limites fixées par l'A.F.N.O.R.

Pour le lait A, une augmentation significative ($p=0,0033$) de l'ordre de 3% est relevée entre les valeurs notées chez le détaillant et celles observées chez le grossiste. En revanche, aucune différence significative du pH n'est observée pour les laits B, C et D entre les détaillants et les grossistes ; ces valeurs sont comprises entre 6,5 et 6,7.

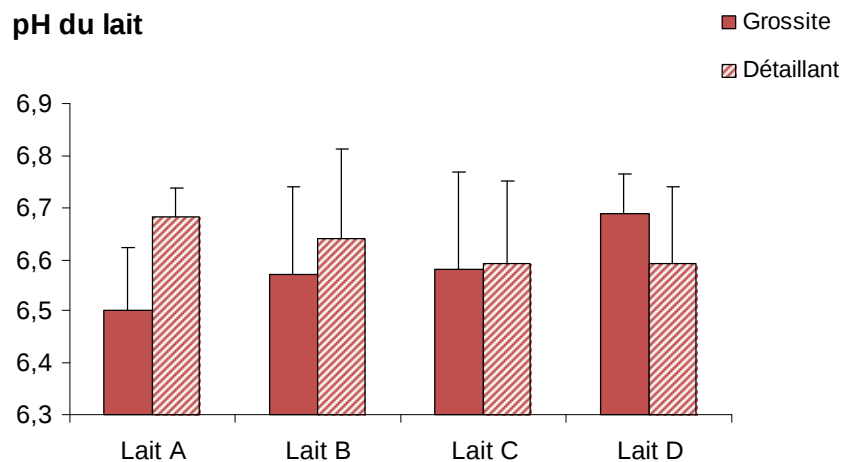


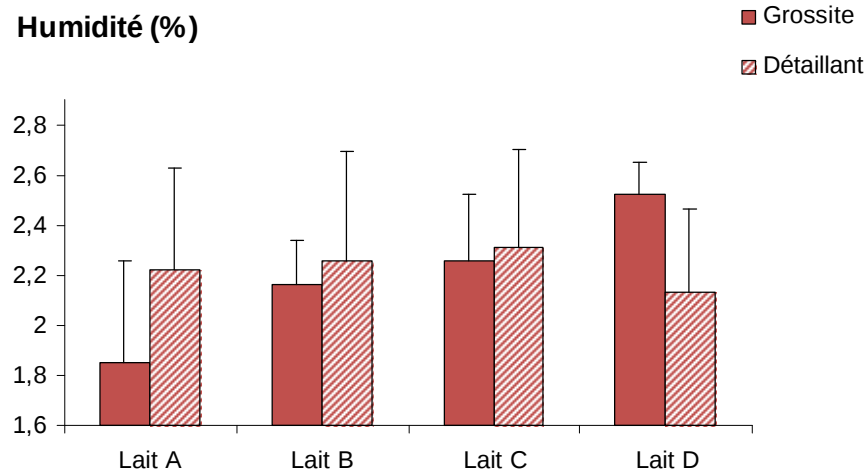
Figure 20: Les valeurs moyennes de pH des échantillons testés
(moyenne $\pm$ SD)

- **L'humidité**

La teneur en eau obtenue dans nos résultats varie entre 2,13% à 2,26% chez le détaillant et de 1,85% à 2,52% chez le grossiste, ces taux sont inférieurs à la norme fixée par la réglementation algérienne, qui est de 3%.

Pour le lait A et D, nous relevons une augmentation significative du taux d'humidité de l'ordre de 17% et de 18% respectivement, entre le détaillant et le grossiste.

Cette augmentation n'est pas significative pour les laits B et C.

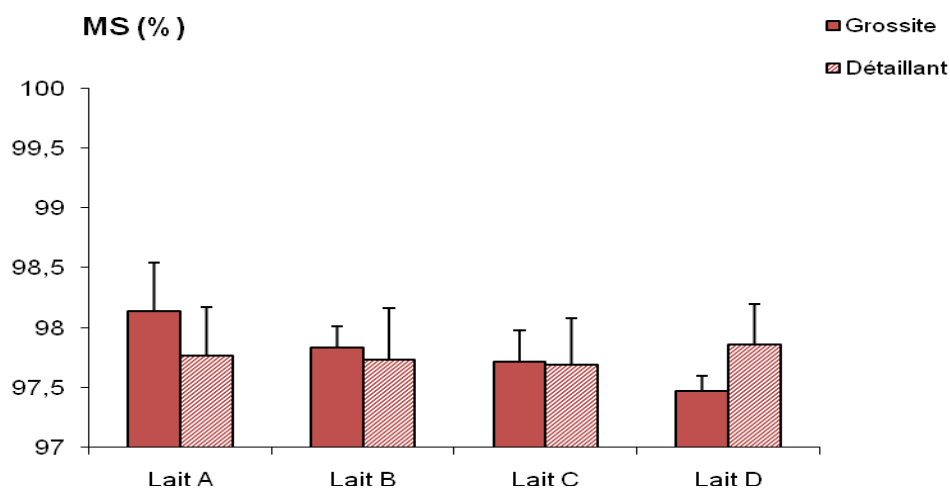


**Figure 21: Les valeurs moyennes des taux d'Humidité des échantillons analysés
(moyenne $\pm$ SD)**

- **Matières sèches**

Les valeurs sont entre 97,16% à 98,43% qui est inférieure à la norme fixée par A.F.N.O.R 1999 qui est de 96% au minimum

Au niveau des deux marques A et D, les résultats obtenus montrent une différence significative de la teneur en MS, entre le grossiste et le détaillant qui est de l'ordre de - 0,4% et +0,4% respectivement pour le lait A et D. Pour les laits B et C l'écart du taux de MS n'est pas significatif entre les deux sources de lait.

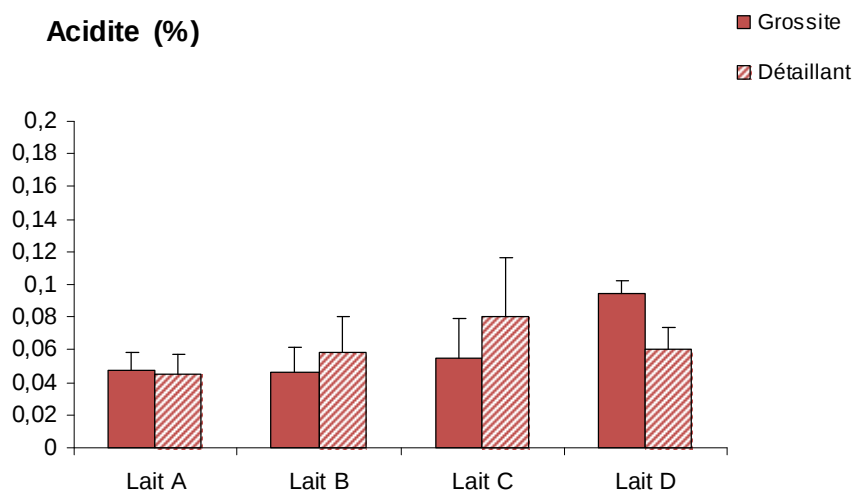


**Figure 22: Les valeurs moyennes de la MS des échantillons analysés
(moyenne $\pm$ SD)**

- Acidité**

Pour l'acidité les taux sont entre 0,04% et 0,102%, alors que la norme est de 0,15 au maximum.

Une augmentation significative du taux d'acidité est observée dans le lait D entre le détaillant et le grossiste de l'ordre de +49,% ($p < 0,05$). En revanche, aucune différence significative n'est relevée pour les laits A, B et C.



**Figure 23: Les valeurs moyennes de taux d'acidité des échantillons testés
(moyenne $\pm$ SD)**

- **La teneur chlorures**

Les valeurs pour l'ensemble des résultats sont entre 0,6% à 1% chez le détaillant et elle est de 0,6 à 0,7 chez le grossiste. Alors que la norme fixée par codex est de 0,27 à 0,74%.

Nous relevons une augmentation significative du taux de chlorures pour le lait A et D entre le détaillant et le grossiste de l'ordre de 29% et 30% respectivement. Par contre aucune différence significative des teneurs en chlorures n'est observée entre les deux sources pour le lait B et C.

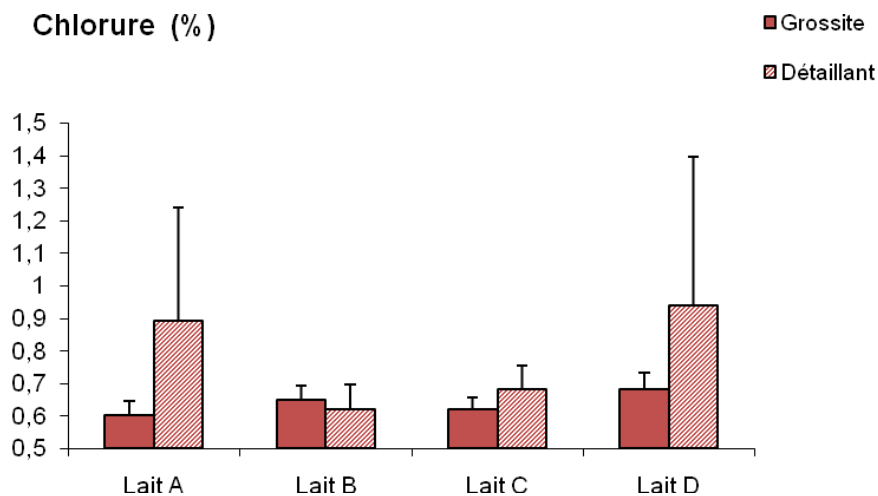


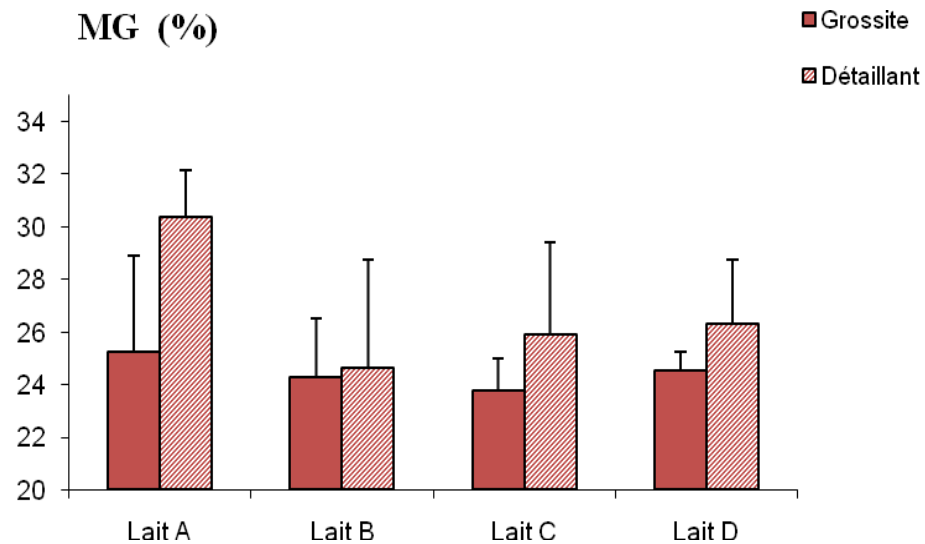
Figure 24: Les valeurs moyennes de Chlorure des échantillons testés
(moyenne $\pm$ SD)

- **Teneur en matières grasses**

La teneur en matière grasse est inférieure à la norme A.F.N.O.R fixée à 26% pour les 3 marques du lait B, C et D par contre elle est supérieure pour le lait A qui est de 30,36%.

Nos résultats montrent que le taux de MG du lait A prélevé chez le détaillant est significativement plus élevé par rapport à celui mesuré chez le grossiste (17%, $p < 0,05$).

Pour les marques B, C et D, les différences observées ne sont pas statistiquement différentes.



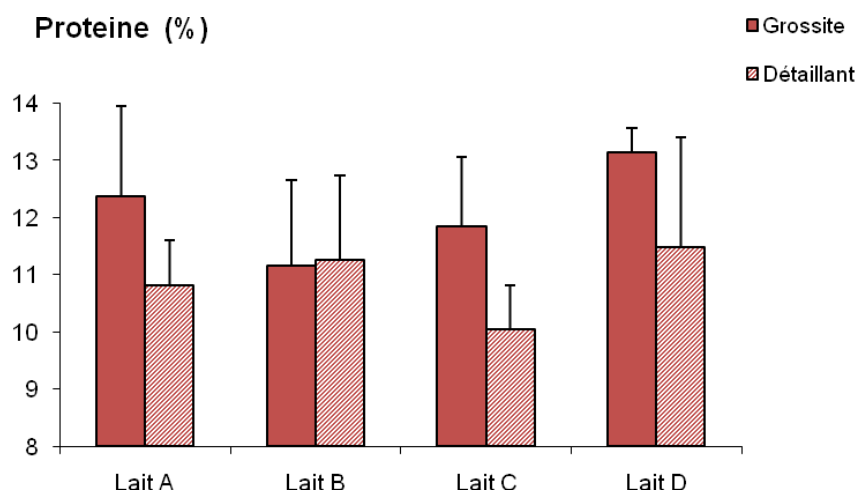
**Figure 25: Les valeurs moyennes de la matière grasse des échantillons analysés
(moyenne $\pm$ SD)**

- **Teneur en protéines**

Les résultats montrent que les taux restent inférieurs à la norme fixée par A.F.N.O.R qui varie entre 9,1 à 20 %.

Au niveau des 2 marques A et D nous relevons une baisse significative du taux protéique entre le grossiste et le détaillant de l'ordre de -14% pour la marque A et D. Ces résultats sont inférieurs à ceux observés chez le grossiste.

Ces écarts de teneur en protéines entre les deux sources, ne sont pas retrouvés pour les deux autres marques de lait (B et C).



**Figure 26: Les valeurs moyennes des protéines des échantillons analysés
(moyenne ±SD)**

Tableau N°20 : les paramètres physicochimique (moyenne $\pm$ DS)

Marques	source	pH	Humidité	MS	Acidités	chlorures	MG	Pro
A	D	6,68 $\pm$ 0,057•	2,22 $\pm$ 0,40•	97,77 $\pm$,40•	0,045 $\pm$ 0,012•	0,85 $\pm$ 0,40•	30,36 1,81•	10,82 $\pm$ 0,78•
	G	6,50 $\pm$ 0,12•	1,85 $\pm$ 0,40•	98,14 $\pm$ 0,40•	0,047 $\pm$ 0,011•	0,60 $\pm$ 0,04•	25,22 3,69•	12,37 $\pm$ 1,57•
B	D	6,64 $\pm$ 0,17•	2,26 $\pm$ 0,43•	97,73 $\pm$ 0,43•	0,078 $\pm$ 0,12•	0,62 $\pm$ 0,07•	24,61 4,13•	11,26 $\pm$ 1,48•
	G	6,57 $\pm$ 0,12•	2,16 $\pm$ 0,17•	97,83 $\pm$ 0,17•	0,046 $\pm$ 0,15•	0,65 $\pm$ 0,04•	24,26 $\pm$ 2,24•	11,17 $\pm$ 1,48•
C	D	6,59 $\pm$ 0,16•	2,31 $\pm$ 0,39•	97,69 $\pm$ 0,37•	0,080 $\pm$ 0,037•	0,68 $\pm$ 0,07•	25,93 $\pm$ 3,49•	10,05 $\pm$ 0,76•
	G	6,58 $\pm$ 0,18•	2,26 $\pm$ 0,26•	97,72 $\pm$ 0,25•	0,55 $\pm$ 0,024•	0,62 $\pm$ 0,03•	23,76 $\pm$ 1,23•	11,85 $\pm$ 1,20•
D	D	6,59 $\pm$ 0,14•	2,13 $\pm$ 0,33•	97,86 $\pm$ 0,33•	0,063 $\pm$ 0,014•	0,97 $\pm$ 0,45•	26,33 $\pm$ 2,40•	11,49 $\pm$ 1,91•
	G	6,69 $\pm$ 0,75•	2,52 $\pm$ 0,13•	97,47 $\pm$ 0,13•	0,094 $\pm$ 0,008•	0,68 $\pm$ 0,05•	24,51 $\pm$ 0,74•	13,14 $\pm$ 0,42•

- Pour chacun des paramètres, les valeurs dotées d'une même lettre ne présentent aucune différence significative après l'analyse de la variance au seuil de 5%.

3- Teneurs en métaux analysées dans différents types de lait et selon la source

Nous développerons successivement les résultats obtenus pour le plomb puis le cadmium.

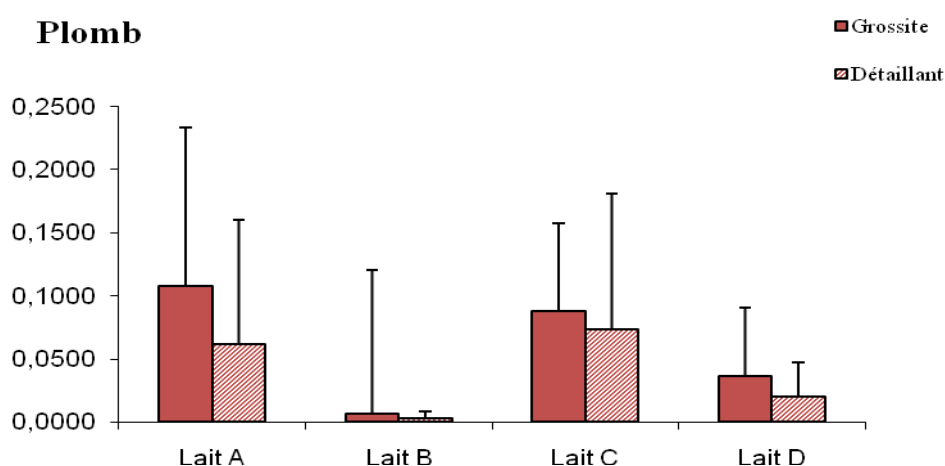
3.1. Le plomb

Les résultats de la contamination en plomb des différents types du lait testés sont présentés dans le tableau 20 et figure21

Tableau 21 : les teneurs en plomb des différents types du lait (mg/l) chez les détaillants et les grossistes

Source Marques	Détaillant	Grossiste
Lait A	0,061 ±0,098	0,107 ±0,125
Lait B	0,003 ±0,005	0,006 ±0,114
Lait C	0,073 ±0,107	0,087 ±0,069
Lait D	0,020 ±0,027	0,026 ±0,054

Les résultats obtenus montrent qu'à l'exception des laits B et D prélevés chez le détaillant, tous les autres échantillons de lait présentent des teneurs en plomb supérieures à la limite établie récemment au niveau international par le Comité du Codex qui est de 0,02 ppm.



**Figure 27: Les teneurs en plomb des différents types de lait selon la source(mg/l)
(moyenne ±SD)**

3.2. Le cadmium

Les résultats de la contamination en cadmium des différents types du lait sont présentés dans le tableau 22 et figure 22.

Tableau 22 : les teneurs en cadmium des différents types du lait (mg/l) chez les détaillants et les grossistes

Source	Détaillant	Grossiste
Marques		
Lait A	0,019±0,033	0,107±0,125
Lait B	0,001±0,002	0,076±0,114
Lait C	0,0004±0,0005	0,087±0,069
Lait D	0,020±0,027	0,036±0,054

Aucune limite n'a été établie pour le cadmium dans la préparation pour nourrissons

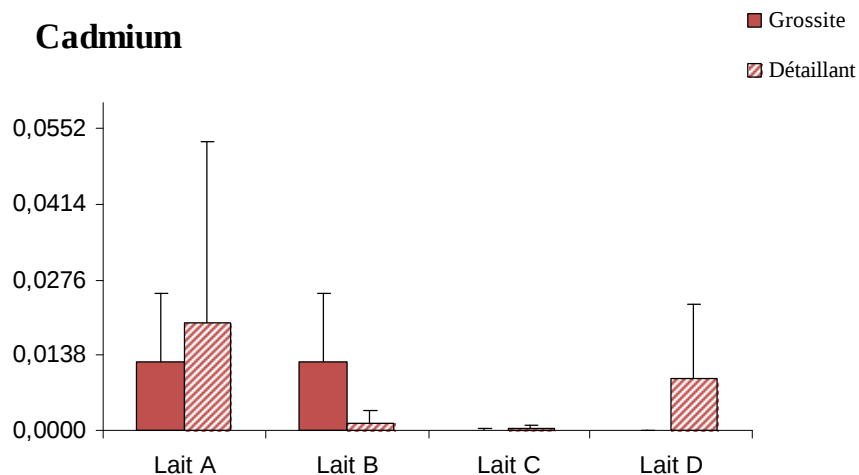


Figure 28: Les teneurs en cadmium des différents types de lait selon la source (mg/l) (moyenne ±SD).

DISCUSSION

Notre étude a porté sur 100 échantillons de boîtes de lait en poudre destiné aux nourrissons de 6 à 12 mois. Tous les échantillons ont fait l'objet d'une analyse physico-chimique, microbiologique et toxicologique.

Bien que les préparations en poudre pour nourrissons, d'après plusieurs auteurs ne sont pas des produits stériles, les niveaux de contamination obtenus au cours de notre étude a révélé que les niveaux de contamination des flores spécifiques ne dépassent pas les normes imposées par la réglementation nationale (cf. Annexe2).

L'absence de germes dans des boîtes révélées négatives pourrait s'expliquer par la distribution des germes qui ne seraient pas homogène ainsi qu'à leur nombre relativement faible.

La réduction de l'activité de l'eau par déshydratation joue un rôle crucial dans le maintien de la qualité microbiologique de ces types de lait. D'après Bourgois et Larpent (1989), certaines bactéries telles que *Bacillus* et *Clostridium* ainsi que des moisissures peuvent former des spores représentant de véritables formes de résistance à des traitements sévères.

Au regard de la bibliographie consultée, peu de publications traitent de la contamination microbienne du lait en poudre infantile.

Qualité microbiologique des échantillons de lait examinés :

Nos résultats révèlent que, d'une part, sur les 100 boîtes analysées, le taux de contamination par la flore aérobie mésophile est relativement élevée (de l'ordre de 45%). D'autre part, le taux déterminé chez le détaillant est supérieur à celui enregistré chez le grossiste (34% vs 11%). Par ailleurs, si l'on compare les taux de contamination par la flore aérobie mésophile déterminés dans les 4 marques de lait étudiées, nous notons que chez le grossiste, le taux le plus élevé est enregistré dans le lait C (60%) puis dans les laits B et C (50%) et enfin le lait A avec un taux de 40%. En revanche, chez le détaillant, le taux le plus élevé est enregistré pour le lait A (70%) puis les laits B, C (60%) et D 50%.

Selon Larpent (1997) et Guy et Vierling (2001), ces germes ne présentent pas de problèmes sanitaires lorsqu'ils sont en faible quantité (conformes aux normes) mais peuvent se révéler dangereux s'ils se multiplient abondamment.

Concernant les coliformes totaux et fécaux, nos résultats indiquent que sur les 100 boîtes analysées, ces germes ont été détectés avec un taux de contamination plus élevé chez le détaillant comparativement à celui déterminé chez le grossiste (20% vs 11%). Chez

ce dernier, le lait B semble être le plus contaminé avec un taux de 40% comparativement aux autres marques de lait où l'on enregistre des taux de contamination de 30% (lait A) et de 20% (lait C et D). Chez le détaillant le taux le plus élevé est enregistré dans le lait A (50%) correspondant à 8 échantillons positifs parmi les 15 prélevés. Pour les autres marques de lait étudiées, ce taux de contamination est de 40%, 30% et 20% respectivement pour les laits B, C et D. Les coliformes totaux et fécaux sont responsables de troubles gastriques et leur présence dans les échantillons de lait étudiés est un indice de mauvaise pratique d'hygiène et de salubrité (Bourgois et al, 1996). En effet, ces germes ne résistent pas à de hautes températures et devraient donc être totalement absents. De ce fait, leur présence serait liée à des contaminations lors du conditionnement comme le suggère certains auteurs (Jouve, 1996).

Dans notre étude, nous trouvons que le taux de contamination en germes aérobies sulfito-réducteurs (ASR) est relativement faible (7%). Ce taux est encore une fois, plus élevé chez le détaillant par rapport au grossiste (5% vs 2%). En effet, chez ce dernier, les taux de contamination en ASR sont de l'ordre de 1% pour les marques A, B et sont nuls pour les marques C et D. En revanche, chez le détaillant, nous enregistrons un taux de contamination en ASR de 20% dans le lait A et de 10% dans les laits B et C. Ce taux est nul pour le lait D. Ces germes sont des indicateurs d'altération du lait et peuvent provoquer des infections redoutables d'évolution rapide (Vignola, 2002).

Concernant la recherche de *Staphylococcus aureus*, le taux de contamination est de 7% sur les 100 boîtes étudiées avec des taux respectifs de 5% et 2% chez le détaillant et le grossiste. Chez ce dernier, le taux de contamination par ce germe est de l'ordre de 10% pour les marques A et B alors qu'il est nul pour les 2 autres marques. Par contre, chez le détaillant, des taux plus élevés sont enregistrés dans les laits A, B et D (10%) alors qu'il est nul pour la marque C.

Ce taux de contamination peut être expliqué en partie par une contamination post traitement thermique, le non respect des règles d'hygiène, qui sont responsables d'intoxications alimentaires très graves chez l'enfant (Leveau, 1991).

Pour les salmonelles, tous nos résultats se sont révélés négatifs. Ceci s'explique par leur sensibilité à la chaleur au cours du processus de fabrication. L'apparition de ces germes dans le lait serait liée à une contamination lors du conditionnement (Jouve, 1996).

Au vu de nos résultats microbiologiques, la présence de germes dans les échantillons de lait étudiés serait liée à des contaminations post-traitement thermique (c.-à-d. lors du processus de conditionnement) et/ou aux conditions de stockage des laits notamment chez le détaillant chez qui nous trouvons les taux de contaminations les plus élevés. Selon Vignola (2002), la multiplication microbienne est d'autant plus rapide que la température ambiante est élevée, et plus proche de la température de croissance de la plupart des microorganismes qui se situe entre 20 et 40°C.

Kandhai et al (2004) signalent que la contamination de ces produits survient probablement de façon fréquente à l'usine de production.

La consommation d'un aliment fortement contaminé se traduit par des syndromes toxiques et/ ou infectieux. Les syndromes digestifs sont pratiquement toujours présents (Guiraud, 2003).

La contamination bactérienne continue à être à l'origine de nombreux problèmes. Un défaut dans la chaîne de fabrication peut être la source d'une telle contamination, avec des conséquences pouvant être sévères (FDA ,1991).

Pour les levures et les moisissures, le taux de contamination est de l'ordre de 24% avec 13% chez le détaillant et 11% chez le grossiste. Chez ce dernier des taux de contamination de 40, 30 et 10% sont retrouvés respectivement dans les laits C, (D et B) et A. Chez le détaillant, le taux le plus élevé (30%) est retrouvé dans les laits A et D. Ce taux est de 10% pour les B et C.

Qualité physico-chimique des échantillons de lait examinés :

Pour les analyses physico-chimiques, la plupart des paramètres des formules lactées examinées sont conformes à la norme.

Dans la formule lactée A, 48% (12/25) des échantillons présentent un taux élevé en matières grasses (MG) qui varie entre 28 et 33%, alors que la norme A.F.N.O.R fixe le maximum à 26%.

Pour le lait B : 2 échantillons sur 25 soit 8% présentent un taux élevé en MG qui varie entre 31,3 à 33,7 et un taux d'humidité élevé de l'ordre de 3,5 à 3,8% chez le grossiste alors que la norme fixée par le ministère du commerce CACQE est de 3%.

D'après Alais et al (2003), le lait en poudre est un produit fortement hygroscopique il peut fixer l'eau qui peut être présente dans l'atmosphère (vapeur d'eau), conduisant ainsi à l'augmentation de son humidité et favorisant par conséquent la recontamination par des microorganismes. En effet, d'après Prescott et al (1999) et Adrian (1998), l'augmentation d'humidité dans le lait entraîne une parfaite croissance microbienne notamment celle prédominée par les levures et les moisissures.

Dans notre étude, 5 échantillons de lait C sur les 25 prélevés (soit 20 %) présentent un taux de MG variant entre 29% et 30%.

D'après le rapport d'une consultation mixte d'experts FAO/OMS, les symptômes de carence ou d'augmentation en acide gras entraînent une réduction ou une augmentation de la vitesse de croissance, un trouble du bon fonctionnement de l'organisme, une altération du fonctionnement enzymatique, une diminution de la résistance capillaire et une augmentation de la fragilité des érythrocytes.

Pour le lait D : 5 échantillons sur 25 (soit à 20 %) présentent un taux élevé en chlorures qui est de 1,26 à 1,79% alors que la norme est fixée entre 0,279 à 0,741%.

L'augmentation ou la carence en chlorures provoque de graves désordres métaboliques. Le cerveau est particulièrement sensible à une augmentation ou une carence en chlorure (Roy, 1984).

Nos résultats rejoignent ceux de Brown et al (1997) ayant porté sur les aliments lactés diététiques et des spécialités lactées pour nourrissons commercialisés en Côte d'Ivoire. Ces auteurs rapportent que la plupart des paramètres physicochimiques des formules lactées examinées sont beaucoup moins modifiés par rapport aux valeurs déclarées.

Néanmoins, Thierry Souccar (2004) a analysé la qualité physico-chimique de 16 marques de lait en poudre pour bébé, disponibles en France. Il a constaté non seulement des modifications importantes des protéines lactières d'origine, mais aussi la présence de composés indésirables issus du traitement thermique subi par ces formules infantiles. Ce dernier modifie, d'une part, la structure physico-chimique des protéines du lait infantile et fait apparaître, d'autre part, des composés suspects et mal connus qu'on appelle produits de glycation. Quoi qu'il en soit aucune réglementation ne s'applique aujourd'hui à ces formules, du point de vue de leur teneur en produits de glycation.

Interaction entre la qualité physico-chimique et microbiologique des échantillons de lait examinés :

Si nous voulons faire le lien entre ces résultats microbiologiques et physicochimiques nous constatons que :

1) La présence de moisissures est expliquée par un taux élevé d'humidité et d'acidité. En effet, ces microorganismes sont acidophiles et nécessitent une humidité élevée pour leur croissance. Berthier (2004) relève également que de mauvaises conditions d'entreposage, d'humidité et de forte variations de température rendent possibles le moisissement.

2) La présence des germes protéolytiques et lipolytiques comme les clostridies sulfito-réducteurs peut être expliquée par le taux élevée de matière grasse.

3) Nos résultats révèlent un taux très bas d'acide lactique dans le lait qui concordent avec les résultats de dénombrement de la flore mésophile aérobie totale. En effet, l'acide lactique est le résultat de transformation du lactose du lait par voie anaérobie microbienne.

Enfin soulignons que la croissance microbienne dépend principalement de facteurs extrinsèques (température et durée de conservation) et de facteurs intrinsèques (humidité, composition chimique et nombre initial de germes) (Vierling, 2004).

Aspect toxicologique des échantillons de lait examinés :

Au regard de la bibliographie consultée, peu de publications ont traité de la contamination du lait infantile par les métaux lourds. Dans nos conditions de prélèvement et d'analyse, les résultats obtenus en termes de teneur des laits analysés en métaux lourds, montrent, d'une part, une différence importante entre les laits provenant du détaillant et ceux émanant du grossiste. D'autre part, au sein d'une même source de prélèvement, ces résultats varient selon les marques de lait.

En ce qui concerne la contamination du lait infantile par le plomb, les taux les plus élevés sont enregistrés dans le lait de marque A avec un taux de 0,175mg/l et celui de marque C avec un taux de 0,089mg/l. Ces teneurs sont nettement supérieures aux limites maximales de résidus et aux concentrations maximales stipulées par la Commission du Codex Alimentarius qui est de l'ordre de 0,02mg/l. Soulignons, que 40 à 50% du plomb ingéré est absorbé (Ziegler et al., 1978) et s'accumule dans les os ou les tissus mous, à savoir : le foie, les reins, les poumons et le cerveau (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999), entraînant des troubles comportementaux, une stagnation ou une régression du développement intellectuel.

Concernant le cadmium, nos résultats d'analyse montrent globalement des valeurs très faibles de contamination allant de 0,04 ppm à 0,11 ppm chez le grossiste et de 0,0004 à 0,02 ppm chez le détaillant.

A notre connaissance, aucune limite n'a été établie pour le cadmium dans la préparation pour nourrissons. Les travaux du bureau d'innocuité des produits chimiques de Santé Canada ont étudié la teneur en cadmium et en plomb de diverses préparations pour nourrissons. Les échantillons ont été recueillis pendant la période 1999 - 2001 et les analyses réelles ont été effectuées au laboratoire régional de la Direction générale des produits de santé et des aliments de Santé Canada à Longueuil (Québec). Les résultats de l'étude indiquent que les niveaux de ces métaux sont les mêmes que les résultats des études effectuées précédemment. L'analyse préliminaire des résultats montre qu'il est peu probable que ces niveaux soient dangereux pour la santé des nourrissons. Les niveaux

moyens les plus élevés de cadmium et de plomb dans les différents produits analysés étaient de 1,72 ppm et de 1,85 ppm respectivement.

Ces niveaux moyens sont inférieurs aux résultats signalés dans les études précédentes, et les niveaux maximums de plomb signalés sont bien inférieurs à la limite de 0,02 ppm établie récemment au niveau international par le Comité du Codex sur les additifs alimentaires et les contaminants. Aucune limite n'a été établie pour le cadmium dans la préparation pour nourrissons. Cependant, même le niveau le plus élevé de cadmium trouvé à 3,47 ppm n'est pas considéré dangereux pour la santé des nourrissons.

Tripathi et al (1999) révèlent la présence de plomb, de cadmium, de zinc et de cuivre dans différents types de lait avec des concentrations moyennes variant de 1,70 à 3,35 • g/l pour le Pb, de 0,07 à 0,10 • g/l pour Cd, de 43,2 à 195 • g/l pour le Zn et de 1772 à 4230 • g/l pour le Cu. Ces mêmes auteurs signalent dans différents aliments pour bébés des valeurs moyennes de 39,5 à 77,7 • g/l pour le Pb, de 0,45 à 17,7 • g/l pour le Cd, de 1106,3 à 3157,3 • g/l pour le Zn et de 9367 à 34592 • g/kg pour le Cu.

Les travaux de Xuan Thanh BUI (2007) ont permis de déterminer les niveaux d'oligo éléments dans le lait humain et le lait de vache. Pour le cadmium, ces teneurs sont de l'ordre de 114µg/l et de moins de 1µg/l respectivement. Pour le plomb, elles sont de l'ordre de 30µg/l, et entre 2 et 10 µg/l respectivement pour le lait humain et le lait de vache. D'après cet auteur, les sources de contamination du lait en éléments toxiques ont lieu avant la transformation et ont pour source soit l'aliment, l'eau, le sol ou l'air.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Au terme de notre étude, ayant fait l'objet d'analyses bactériologiques, physico-chimiques et toxicologiques du lait infantile prélevés au niveaux des différents points de vente de détails et grossistes de la wilaya d'Alger au cours de l'année 2007-2008, la conclusion que nous pouvons tirer sont les suivantes :

D'un point de vue bactériologique, tous les échantillons testés étaient conformes aux normes établies par la réglementation nationale. Cependant, nous avons noté la présence de différentes flores telles que la *flore aérobie mésophile totale*, les *coliformes fécaux*, *Clostridium sulfito-réducteur*, *Staphylococcus aureus*, *levures et moisissures* mais à des taux de contamination inférieures à la norme. Soulignons également, l'absence de salmonelles dans tous les échantillons.

De plus en plus d'études sont réalisées sur l'allaitement maternel, et l'on découvrira encore certainement de nouveaux inconvénients aux différents laits de substitution. Le choix par les parents du mode d'alimentation de leur enfant n'est pas un choix anodin. Dans d'autres domaines concernant la santé, on considère qu'il est normal de donner des informations sur les dommages susceptibles de survenir suite à l'utilisation de produits dont l'impact négatif sur la santé est connu.

Concernant l'étude physicochimique des produits testés, 19 échantillons présentent un taux élevé en matière grasse, 5 présentent un taux élevé en chlorures et 2 échantillon présente une teneur en eau relativement élevée. En effet, le temps et les conditions de stockage influent sur la qualité de ces produits.

Concernant l'aspect toxicologique des laits infantiles, nos résultats d'analyse indiquent la présence de métaux lourds, notamment le plomb, susceptibles d'induire des effets néfastes à long terme sur la santé de l'enfant.

Recommandations

Ces observations nous permettent de conclure de la nécessité du contrôle analytique de ces laits lors de leur commercialisation et non pas uniquement au moment de leur importation.

Recommandations pour les producteurs et recommandations pour les importateurs

- Information et communication au public des informations sur la qualité des laits importent «dangers et risques »:
 - Il est normal que les parents soient mis au courant de tout ce que l'on connaît actuellement sur l'allaitement maternel et sur les laits de substitution, pour pouvoir faire un choix réellement objectif.
 - Les parents doivent être pleinement informés des risques fondés sur des données factuelles que présente pour la santé publique la contamination intrinsèque des préparations en poudre pour nourrissons.
- Contrôle des matières premières : en particulier les ingrédients qui ne subissent pas de traitement thermique avant le mélange.
- Contrôle de la qualité en amont :
- Mise en place d'un programme de gestion efficace de l'hygiène de l'usine, et un programme de surveillance du milieu dans le cadre d'un plan HACCP (GBPH; GBPF).
 - GBPH : Mesure permettant aux professionnels de mutualiser les premières étapes de la démarche HACCP
 - GBPF : Mesure permettant aux professionnels de 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.

et insistent sur les pratiques d'hygiène et d'organisation qui doivent être mises en place à tous les niveaux.

Recommandations pour les importateurs

- contrôle aux frontières
- Contrôle après dédouanement c à d lors du transport, du stockage et de la distribution

- Multiplier les missions de contrôle des denrées alimentaires en augmentant le nombre de sorties sur les lieux de productions et de vente.
- Dans le développement de la santé de nos populations il est nécessaire et possible d'élaborer une réglementation nationale efficace en matière de contrôle de qualité des aliments lactés diététiques et des spécialités lactées pour nourrissons.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Référence bibliographiques

1. **Adrian .J, Potus. J et Frangne ,1995 .** La science alimentaire de A à Z. Technique et documentation Ed Lavoisier .448p.
2. **Adrian. J et Lepen, B, 1987.** Le lactose. In: CEPIL. Le lait matière première de l'industrie alimentaire. Paris, INRA. p. 99-111
3. **Adrian. J, 1973.**Valeur alimentaire du lait, édition la maison rustique, Paris .378 p
4. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999.**Toxicological profile for lead, accessible à: <http://atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.html>.
5. **Alais .C, Linden. G et Laurent .M, 2003.** Biochimie alimentaire, 5eme édition de l'abrégé, Dunod, paris. 405p.
6. **ATSDR, 1999.**Toxicological Profile Information Sheet, Lead.
<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.html> (page consultée le 14 mars 2008).
7. **Bernier .J, Adrian .J et N. Vidon, 1986.** Les aliments dans le tube digestif .Ed. Doin 460p.
8. **Berthier. J et Valla .G, 2004.** Moisissures-Mycotoxine et Aliments ; du risque à la prévention, Université Claude Bernard Lyon.
9. **Bourgeois. CM, Mescle .J.F et Zucca .J, 1996.** Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome1.Technique et documentation Ed Lavoisier .672p.

10. **Bruening. K, Kemp.F.W, Simone.N, Holding.Y, Louria.D.B et Bogden.J.D, 1999.** Dietary Calcium intakes of urban children at risk of lead poisoning, Environ Health Perspect. p 431-435.
11. **California Environmental Protection Agency, 1997.**Public health goal for lead in drinking water.17p.
12. **Churchill .D.M., Mavinic .D S, Neden. D. G et Mac Quarrie D. M, 2000.** The effect of zinc orthophosphate and pH alkalinity adjustments on metal levels leached into drinking water. p 27, 33-43.
13. **Cinquin. C, 2005 .**Développement et validation d'un nouveau modèle de fermentation colique in vitro, thèse de doctorat en science et technologie des aliments, Université Laval, Québec.180p
14. **Codex Alimentarius, 2005.** Programme mixte FAO/OMS sur les Normes alimentaires commissions du Codex Alimentaires, Douzième Ed, p 19.
15. **Codex STAN N° 72 ,1981 :** Norme codes pour les préparations pour nourrissons.7p. Disponible sur internet : www.codexstan.com.
16. **Craplet. C, 1971 .**Alimentation d'aujourd'hui et de demain, Vigot Frères Editeurs. p24.
17. **Das.A.K, Chakraborty. R, Cervera.M.L et Guardia.M, 1996 .**Metal speciation in biological fluids, a review. Microchimica acta.122, 209-246
18. **Debry .G. 2001 :** Lait, nutrition et santé. Editions Techniques et documentation Paris, 566 p.
19. **Derrache .R, 1986.** Toxicologie et sécurité des aliments .Techniques et documentation .1ere Ed Lavoisier, paris, 594p, 159-178.

20. **Ducauze, 2003.** Fraudes alimentaires approche réglementaire et méthodologie analytique. Ed lavoisier.p193.
21. **Edelson-Mammel et Buchanan, 2004.** Thermal inactivation of *Enterobacter sakazakii* in rehydrated infant formula. Journal of Food Protection. 67p.
22. **Ellis. K.J et al., 1979.** Cadmium: in vivo measurement in smokers and non-smokers. Science. 205: 323.
23. **FAO, 2005.** *Enterobacter sakazakii* et autre microorganismes présents dans les préparations pour nourrissons, Archives de documents de la FAO, produit par: département de l'agriculture.
24. **FDA, 1991.** Consumer. Bacteria in baby's food; 25: 40.
25. **Ferm. V.H. et Carpenter.S.H. 1968.** The relationship of cadmium and zinc in experimental mammalian teratogenesis. Lab. Invest. 18, 429p.
26. **Flanagan. P.R. et al., 1978.** Increased dietary cadmium absorption in mice and human subjects with iron deficiency. Gastroenterology. 74:841.
27. **Fleischer. M. et al., 1974.** Environmental impact of cadmium: a review by the panel on hazardous trace substances. Environ. Health Perspect. 7: 253.
28. **Friberg. L, Nordberg .GF, Vouk .VB, 1986.** Handbook on the toxicology of metals - 2nd editions, Elsevier Publ, Amsterdam.
29. **Friberg. L, Piscator. M, Nordberg. G.F et Kjellstrom.T, 1974.** Cadmium in the environment. 2e édition. CRC Press, Cleveland, OH.
30. **Ferm. V.H. et Carpenter.S.H. 1968.** The relationship of cadmium and zinc in experimental mammalian teratogenesis. Lab. Invest. 18, 429p.

31. **Fulkerson. W, Goeller. H.E, Gailer. J.S. et Copenhaver. E.D.1973.**Cadmium, the dissipated element. Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN.
32. **Gardels. M, et Sorg .T .J, 1989.**A laboratory study of the leaching of lead from water faucets, journal of the American water works Association, p81,101-113.
33. **Graille. J, 2003.** Lipides et corps gras alimentaires, techniques et documentation, Ed Lavoisier, Londres, Paris, New York.
34. **Guiraud .J.P, 2003.** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, Paris.651p.
35. **Hermier. J. et Cerf. O, 1987.** La stabilité du lait à la chaleur. In CEPIL. Le lait matière première de l'industrie alimentaire. Paris, INRA. p. 309-314.
36. **Hiatt .V. et Huff. J.E, 1975.** The environmental impact of cadmium: an overview. Int. J. Environ. Stud. p 7: 277.
37. **Hirsch. M, 2002:** Evolution des préparations pour nourrissons et de suite continent des protéines entières de lait vache et oligosaccharides maison Al fort, AFSSA.
38. **Institut de veille sanitaire (INVS), 2005.** On behalf of the outbreak investigation group. Outbreak of Salmonella Worthington infection in elderly people due to contaminated milk powder: 10(7).
39. **IRIS EPA, 2003.** Lead and compounds (inorganic) (CASRN 7439-92-1) <http://www.epa.gov/iris/subst/0277> (consulte le mars 2008).
40. **Jemal et al., 2002.** The association of blood leads level and cancer mortality among white in the United States, Environ Health Perspect.p110, 325-329.
41. **Jouve. J.L, 1996.** La qualité microbiologique des aliments ; 2ème édition. Edition Polytechnica. Paris. p 372-444.

42. **Kandhai. M.C, Reij. M.W et Gorris. L.G.M. 2004.** Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *The Lancet*, 363: 39-40.
43. **Kaing et Cutzach, 2004.** Pollution environnementale par les métaux lourds. Université de Nice Sophia-Antipolis.p2.
44. **Kitamura. M, Sumiro. K. et Kamatanni. N, 1970.** Cadmium concentrations in livers, kidneys and bones of human bodies. *J. Public Heath*, 507:17.
45. **Klaudia Lee, 2008.** Tests find tainted baby milk at 21 more firms, South China Morning Post, p. A1.
46. **Largerkvist et al., 1996.** Increased blood lead and decreased calcium levels during pregnancy: a prospective study of Swedish women living near a smelter, *Am J Public Health* .p 86, 1247-1252.
47. **Leclere. J et al ,2002 .** les préparations infantiles et de croissance ; accumulation de composés indésirables au cour des traitements thermique, nutrition et alimentation animal et humaine, les rencontres de INA.
48. **Leveau. J.P, Bourgeois, C.M. 1991.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Edition , TEC et DOC, Lavoisier, tome 3, Paris.454 p.
49. **Lewis, G.P., Tusko, W.J. et Coughlin, L.L, 1972.** Cadmium accumulation in man: influence of smoking, occupation, alcohol habit and disease. *J. Chronic Dis.* p25: 717
50. **Leyral .G et Vierling. E, 2001.** microbiologie et toxicologie des aliments hygiène et sécurité alimentaire. Edition, technique et documentation Lavoisier.445p.
51. **Liepke, C et al, 2002:** Human Milk providies peptides highly stimulating the growth of bifidobacteria, *EurJ biochen*, 269,712-718.

52. **L•nnerdal B, Kelleher SL, Lien E, in. Jacques Rigo, 2005.**Extent of thermal processing of infant formula affects copper status in infant rhesus monkeys. p 73: 914p.
53. **Luquet, M, 1986 :** Lait et produits laitiers : Vache, brebis, Chèvre. Tome 3 : Edition technique et documentaire. Paris. p122.
54. **Luquet, M ,1990 :** lait et produits laitiers ; vache, brebis, chèvre. Edition technique et documentation. Lavoisier. P349.
55. **Massol, 1998.** Allaitement maternel et lait de vache ; extrait de la revue Aesculape n°10 jan-févr.
56. **Miquel G, 2001.**Les effets des métaux lourd sur l'environnement et la santé. Rapport d'information. Office parlementaire d'évaluation des choix scient. Tech n°261.
57. **National Research Council, 1993.**Measuring lead exposure in infants, and other sensitive populations, national Academy Press, Washington, D, C.337p.
58. **Nordberg, G.F, 1974.** Health hazards of environmental cadmium pollution. Ambio.p3, 55.
59. **Oldiges. H et al., 1985.** Lung carcinomas in rats after low level cadmium inhalation. Dans: Carcinogenic and mutagenic metal compounds. E. Merian et al. (dir. de publ.). Gordon and Breach Science Publ., Londres, R.U. p. 409.
60. **Organisation mondiale de la santé ,1974.**Environmental Heath criteria for cadmium.
61. **Organisation mondiale de la santé, 2000b.** Plomb, in Directive de qualité pour l'eau de boisson, volum2.Critères d'hygiène et documentation à l'appui Organisation mondiale de la santé. Genève, p.340-363.

62. **Organisation mondiale de la santé, 1972.** Long term programme in environmental pollution control in Europe. The hazards to health of persistent substances in water. Annexes d'un rapport au groupe de travail. Documents techniques portant sur l'arsenic, le cadmium, le plomb, le manganèse et le mercure. Copenhague.
63. **Page. A.L et Bingham. F.T, 1973.**Cadmium residues in the environment. Residue Rev.48 :1
64. **Picot, 1996** Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque », Conseil supérieur d'hygiène publique en France, ministère du Travail et des Affaires sociales, Direction générale de la santé, Tec Doc, Lavoisier.
65. **Piscator. M, Nordberg. G.F et Kjellstrom. T, 1974.** Cadmium in the environment. 2eme édition. CRC Press, Cleveland, OH.p24:426
66. **Rabinowitz. M. B, Wetherill. G. W et Kopple. J. D, 1976.**Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans Clin invests. P 58,260-270.
67. **Renner. E, 1989** .Micronutrients in milk and milk-based food products. London, Elsevier Applied Science. 311 p.
68. **Rigo .J, Maubois .J.L et Guy P, 2005** .Recommandations pour la préparation préparation des biberons, AFSSA. P43, 49
69. **Roy. S, 1984.** The chloride depletion syndrome. Adv. Pediatr 31: 235-57.
70. **Rye .J.E, Ziegler. E.E, Nelson .S.E, et Fomon. SJ.1983.** Dietary intake of lead and blood lead concentration in early infancy. Am. J. Dis. Child. 137 :886-891
71. **Schroeder, H.A, 1967.** Cadmium, chromium and cardiovascular disease. Circulation. p35: 570.

72. **Shannon .MW, Graf .JW, 1989.** Lead intoxication from lead contaminated water used to reconstitute infant formula. Clin Pediatr. p28: 380.
73. **Souccar. T. ,2004.** Inquiétude sur les laits pour bébés. Adresse URL : <http://www.nutrition.fr> (page consultée le 13 mars 2008).
74. **Tounian et Sarrio. F , 2001.** L'alimentation du nouveau-né et du nourrisson ; Groupement des Pédiatres Strasbourgeois, Unité de Néonatalogie - Clinique Sainte Anne. Adresse URL <http://www.alimentation> (page consultée le 13 mars 2008).
75. **Tripathi. R, Raghunath R, Sastry. V.N et Krishnamoorthy. T.M, 1999.** Daily intake of heavy metals by infants through milk and milk products. The science of the total environment. p. 229-235.
76. **Tsang, R.C et Nichols, B.L. 1988:** Nutrition during infancy Philadelphia, Hanley and Belfus. 440 p.
77. **Veisseyre. R, 1976.** Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait. Ed la maison rustique, Paris. p274-327
78. **Vidailhet M et Golet O, 2002.** Alimentation de l'enfant en situation Normale et Pathologie, Coin Editeur.
79. **Vierling E, 2004.** Aliment et boisson ; technologie et aspects réglementaires, science des aliments, 2^{eme} édition science et techniques, Doin, Paris, France.
80. **Vignola.C.L, 2002.** Science et technologie du lait. Transformation du lait .Edition polytechnique paris .p :77-80-81-90.
81. **Viraraghavan T, Subramanian K S et Venkata Rao B, 1999.** Impact of household plumbing fixtures on drinking water quality – a review, intern J. Environ Studies. p56, 717-743.

82. **Watson.W.S, Morrison.J, Baldwin.N.M, Lyon.D.T, Dodson.H, Moore.M.R et Hume.R, 1986.**Food iron and lead absorption in humain.Am J Clin Nutr. p44, 248-256.
83. **Webb, M, 1975.** Cadmium. Br. Med. Bull., p31: 246.
84. **Xuan Thanh BUI ,2007.** Utilisation de matrices agro-alimentaire comme indicateur de pollutions environnementale, exemple le lait, Thèse de doctorat. 126 p
85. **Ziegler.E.E, Edwards.B.B, Jensen.R.L, Mahaffey.K.R et Fomon.S.J, 1978.** Absorption and retention of lead by infants, Pediatr Res.p12, 29-34.

ANNEXES

Annexes

Annexe 1

Matériel et méthodes

1-Microbiologiques

Milieus et réactifs

Milieu Tryptone Sel Eau TSE

Tryptone	1g
Chlorure de sodium	8,5
pH	7
Autoclavé 20min à 120°C	

Gélose plate count agar PCA

Tryptone	5,0g
Extrait de Levure deshydratée	2,5
Glucose	1,0g
Agar-agar	12g à 18g
pH	7

Gélose Lactose Biliée au Cristal Violet et au Rouge neutre VRBL

Peptone	7,0
Extrait de levure	3,0g
Lactose	10,0
Chlorure de sodium NaCl	5,0g
Sels biliaires	1,5g
Rouge neutre	0,03g
Cristal violet	0,002g
Agar-agar	12g à 18g
pH	7,5

Gélosés Baird Parker

Digestat pancréatique de caséine	10,0g
Extrait de levure	1,0g
Extrait de viande	5,0g
Pyruvate de sodium	10,0g
L-glycine	12,0g
Chlorure de lithium	5,0g
Agar-agar	12 à 22g
pH	7,2

Mannitol-mobilité

Peptone de viande	15
Extrait de viande	3
Mannitol	10
Potassium nitrate	1
Rouge de phénol	0,05
Agar	5

Gélose Viande Foie VF

Base viande foie	30
Glucose	2
Agar	6

Gélose Oxytetracycline Agar OGA

Extrait de levure	5
Glucose	10
Agar	18

Milieu urée indole

L-tryptone	0,3
KH ₂ PO ₄	0,1g
Nacl	0,5g
Urée	2g

Eau peptonée tamponnée EPT

Formule pour un litre d'eau distillée :

Peptone	10g
Nacl	5g
Phosphate disodique NaPO ₃	3,5g
Phosphate dihydrogène de potassium	3,5g
pH =7 à 25°C	

Bouillon sélénite cystéine SFB

Peptone	5g
Phosphate sodique	10g
Sélénite de sodium	4g
Phosphate dipotacique	3,5
Phosphate monopotacique	6,5g
Cystéine	0,1g
pH	7

Matériels usuels de laboratoire.

Pipettes graduées 10 ml, 1 ml.
Tubes à essais en verre stériles.
Flacon en verre stériles 250 ml.
Balance analytique ;
Boîtes de pétri ;
Etuves de 25°C, 30°C, 37° C, 44°C ,46°C.
Autoclave
Bain-marie.
Centrifugeuse.
Anse à boucle

2- Physico-chimiques

PH-mètre.
Centrifugeuse.
Butyromètre (GERBER) munis d'un bouchon approprié ;
Pipettes de 1 ml, 2 ml, 5 ml, 11 ml ;
Eprouvettes, burettes, béchers entonnoir, fioles ;
Minis burette ;
Balance analytique ;
Dessiccateur ;
Etuve et /ou bain-marie à 102-105 ° C.
Centrifugeuse électrique pour butyromètres à lait .

Réactifs

Hydroxyde de sodium NaOH N/9. 1ml de cette solution correspond à 0,01g d'acide lactique ;
Phénophtaléine ;
Acide sulfurique ;
Alcool isoamylique.

3-Toxicologiques

Réactifs

Acide nitrique concentré (HNO₃) Merck.
Acide sulfurique concentré (H₂SO₄) Merck.
Solutions mère 1g/l (cadmium, plomb).
Solutions de plomb et de cadmium

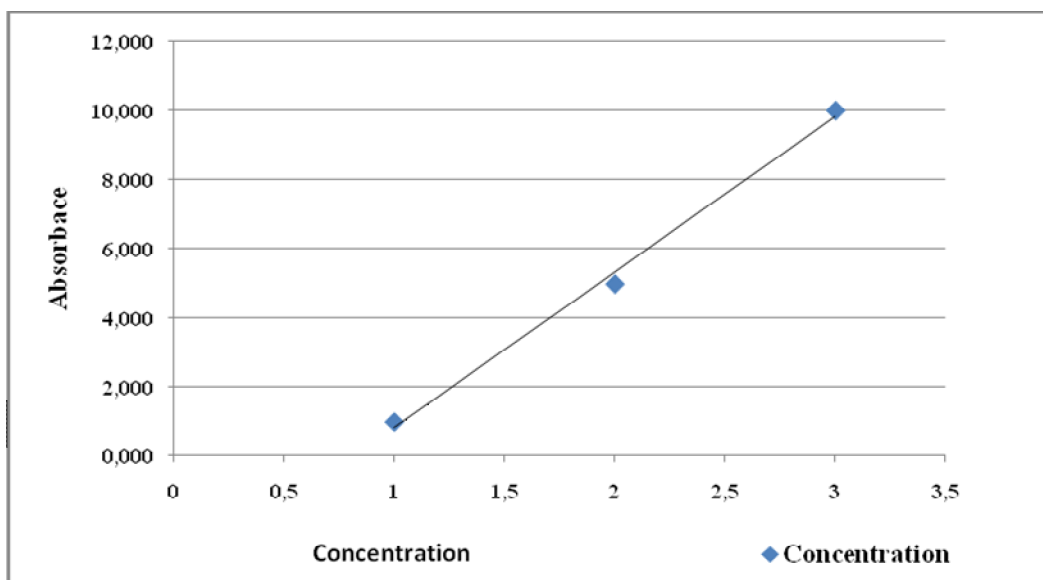
Normes microbiologiques concernent les laits en poudre pour nourrissons, d'après le Journal Officiel de la République Algérienne N°35 du 27mai 1998.

GERMES	NORMES
Germes aérobies à 30°C	$5 \cdot 10^4$
Coliformes	1germe/0,01g
Escherichia-coli	1germe/g
Levures et moisissures	$3 \cdot 10^2$
Clostridium sulfito-réducteur à 40°C	1germe/0,1g
Staphylococcus	1germe/g
Salmonella	Abs/30g

Annexe 2

Courbe1

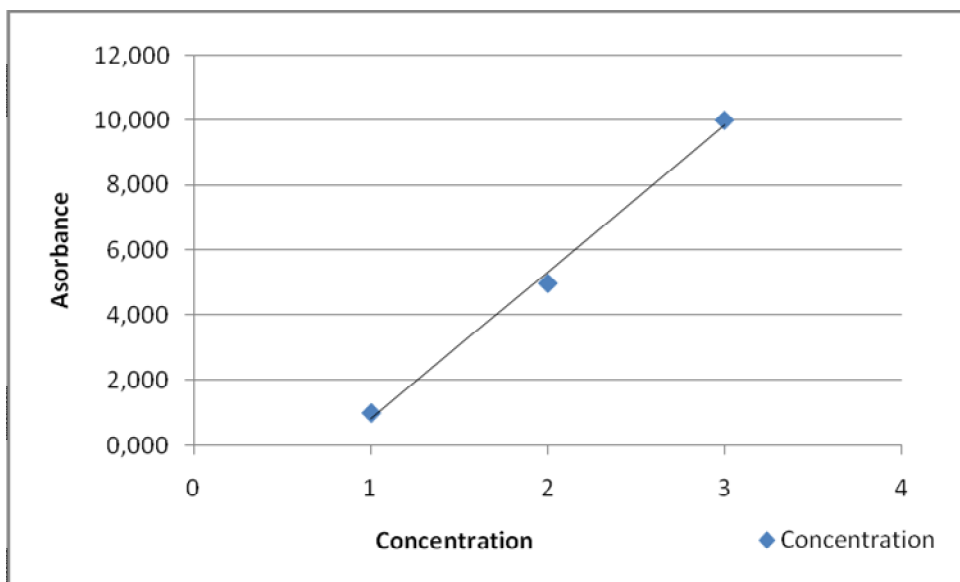
Courbe d'étalonnage du cadmium



Equations de régression linéaire	Coefficient de corrélation (R ²)
Y = 4,5 x - 3,666	R ² = 0,995

Courbe2

Courbe d'étalonnage du plomb



Equations de régression linéaire	Coefficient de corrélation (R ²)
Y = 3,4 x + 4,5	R ² = 0,932

Résumé :

La présente étude a pour objectif l'analyse microbiologique, physicochimique et toxicologique du lait infantile commercialisé dans la wilaya d'Alger.

L'allaitement maternel constitue la référence pour l'alimentation du nourrisson pendant les premiers mois de vie. Lorsque l'allaitement maternel n'est pas possible, des laits de substitution sont utilisés. Ces derniers sont élaborés principalement à partir du lait de vache sur lequel des modifications dans sa composition sont apportées, afin de le rendre adapté aux besoins nutritionnels des nourrissons.

La plupart des parents ignorent que les préparations lactées ne sont pas stériles et sont susceptibles aux contaminations microbiennes et non microbiennes (plomb, cadmium).

Les résultats de notre étude microbiologique ont montré que la qualité des échantillons testés était de qualité satisfaisante (inférieure à la norme algérienne). Les résultats de l'analyse physicochimique ont révélé un taux élevé en matière grasse, humidité et en chlorures. L'étude toxicologique nous a permis de mettre en évidence une contamination de certains des échantillons testés par le plomb avec un taux de 0,175mg/l, alors que la limite maximale de résidus et aux concentrations maximales stipulées par la Commission du Codex Alimentarius est de l'ordre de 0,02mg/l, nous avons noté également l'absence de contamination par le cadmium.

Mots clés : lait en poudre infantile, analyses microbiologiques, physico-chimiques et toxicologique dans la wilaya d'alger.

Abstract:

This study was aimed microbiological, physicochemical and toxicological milk infantile Willaya Algiers.

Breastfeeding is the standard for infant feeding during the first months of life. If breastfeeding is not possible for the little man will be fed with artificial milk. The latter is drawn mainly from the milk of cows on what changes have been made to make appropriate nutritional requirements.

Most parents are unaware that infant formula is not sterile and are susceptible to microbial contamination and non-microbial (lead, cadmium).

Our results are shown that the microbiological quality of samples tested were satisfactory for the physicochemical high levels of fat, moisture and chloride and for toxicological analysis results helped to identify a lead contamination at a rate of 0.175 mg / l whereas the maximum residue limits and maximum levels set by the Codex Alimentarius Commission is of the order of 0.02 mg / l.

Keywords: infant milk powder, microbiological, physicochemical and toxicological in Willaya of Alger.