

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
وزارة لتعليم العالي والبحث العلمي
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE-ALGER
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة- الجزائر

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences
Filière : Sciences Vétérinaires
Option : Hygiène et Sécurité Alimentaire

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CONTAMINATION DU
LAIT CRU ISSU DE VACHES DE RACES LOCALES ET
AMELIOREES PAR LES *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DANS
LES REGIONS DE JIJEL ET DE BLIDA

Présenté par : HAMIROUNE Mourad

Jury :

Président :	KHELEF D.	Professeur	E.N.S.V d'Alger
Promoteur :	BERBER A.	Professeur	I.S.V de Blida
Examineur :	BENDEDDOUCHE B.	Professeur	E.N.S.V d'Alger
Examineur :	BOUKHORS K.T.	Professeur	E.N.S.V d'Alger
Examineur :	HAKEM A.	M.C.A	U.Z.A de Djelfa
Examineur :	SAHRAOUI N.	M.C.A	I.S.V de Blida

Année Universitaire : 2015/2016

REMERCIEMENTS

Un remerciement à notre Dieu le tout puissant de l'univers pour son aide à la réalisation de ce travail.

À Monsieur BERBER A, notre promoteur enseignant à l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida, je le remercie pour avoir dirigé notre travail et son aide précieuse, son amabilité, ses encouragements et ses conseils qui m'ont permis de mener à bien cette thèse.

À Monsieur KHELEF D, professeur à l'E.N.S.V d'Alger, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Aux examinateurs : Pr BENDEDDOUCHE B, Pr BOUKHORS K.T, Dr HAKEM A et Dr SAHRAOUI N, pour avoir bien voulu juger mon travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect.

À l'ensemble du personnel des laboratoires de C.A.C.Q.E à Jijel, d'AVCQ-LAB à Baraki d'Alger et de microbiologie à l'université de Djelfa, qui m'ont fait partager leurs connaissances et leurs expériences sur la réalisation de ce travail.

À l'ensemble du personnel de laboratoire d'immunologie de l'Unité Mixte de Recherche INRA/INPT- ENVV, Interactions Hôtes-Agents Pathogènes (IHAP) (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse) et tout particulièrement Gilles FOUCRAS et Christian TASCA et tous les membres, qui m'ont fait partager leurs connaissances et leur expérience sur la réalisation de ce travail.

Je remercie vivement le personnel de la salle d'informatique et de la bibliothèque de l'ENSV et de l'université ZIANE Achour à Djelfa.

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont encouragé tout au long de mon parcours et ceux qui ont contribué à mon formation mais que je n'ai pas cités.

DEDICACES

À mes parents :

Merci de m'avoir accompagné jusque là, d'avoir fait en sorte que j'aie au bout des études que je voulais faire, sans contraintes ni difficultés. Pour leurs aides précieuses à la relecture de ce travail. Pour leurs disponibilités.

👍 *Pour leurs soutiens indéfectibles. Par tous les temps.*

👍 *Le rêve d'enfant est devenu réalité.*

👍 *C'est grâce à eux que je suis ici aujourd'hui.*

À mon épouse et mon petit garçon Abderrahmane.

À mes trois frères : Naim, Boualem, Salim et ma sœur Saida.

À mes amis d'enfance, du lycée, d'école vétérinaire et d'université Ziane Achour de Djelfa : pour leur amitié si précieuse et tous les bons moments passés et à-venir.

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

HAMROUNE Mourad.

SOMMAIRE

<i>Liste des abréviations</i>	<i>I</i>
<i>Liste des figures</i>	<i>II</i>
<i>Liste des tableaux</i>	<i>IV</i>
Introduction	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur le lait cru	3
I.1. Définition légale du lait	3
I.2. Modalités de la descente du lait.....	5
I.3. Propriétés du lait.....	6
I.3.1. Composition chimique et biochimique du lait.....	6
I.3.2. Propriétés physiques du lait.....	7
II. Notions essentielles sur certains groupes bactériens contaminants le lait cru	8
II.1. Les staphylocoques.....	8
II.1.1. Taxonomie.....	8
II.1.2. Caractéristiques des souches de <i>S. aureus</i>	9
II.1.3. Techniques de mise en évidence des entérotoxines staphylococciques.....	13
II.1.4. Contamination du lait cru par <i>S. aureus</i>	14
II.2. Les autres agents bactériens.....	14
II.2.1. Les coliformes thermotolérants.....	14
II.2.2. Les entérocoques.....	14
II.2.3. Les <i>Clostridium</i> s sulfito-réducteurs.....	15
II.2.4. La flore mésophile aérobie totale.....	15

III. Contamination du lait cru et survenue des infections mammaires	16
III.1. Réservoirs et matières virulentes.....	16
III.2. Mécanisme de contamination.....	17
III.2.1. Exposition de l'agent pathogène.....	17
III.2.2. Pénétration des micro-organismes.....	17
III.2.3. Infection de la glande mammaire.....	18
III.2.4. Réponse de l'organisme.....	19
III.3. Facteurs favorisant la contamination.....	20
III.3.1. Facteurs liés à l'environnement.....	20
III.3.2. Facteurs liés à la machine à traire.....	20
III.3.3. Facteurs liés au statut de l'élevage.....	21
III.3.4. Facteurs liés aux stades de lactation	21
III.3.5. Facteurs liés à la race.....	21
III.4. Conséquences de la contamination du lait sur la santé des mamelles.....	22
III.4.1. Les mammites subcliniques.....	22
III.4.2. Les mammites cliniques.....	22
III.5. Les moyens de diagnostic.....	22
III.5.1. Examen macroscopique.....	22
III.5.2. California Mastitis Test (C.M.T).....	23
III.5.3. Examen bactériologique	25
IV. Impact de la contamination du lait cru sur la santé publique	26
IV.1. Contamination du lait cru par <i>S. aureus</i>	26
IV.1.1. Définition et fréquence	26
IV.1.2. Physio pathogénie	27
IV.1.3. Symptomatologie.....	28
IV.1.4. Rôle du lait cru dans les intoxications à <i>S. aureus</i>	28
IV.1.5. Caractéristiques des entérotoxines de <i>S. aureus</i>	29
IV.1.6. Influence sur la santé humaine.....	30
IV.1.7. Diagnostic.....	31
IV.1.8. Traitement.....	31
IV.1.9. Moyens de lutte contre les intoxications à <i>S. aureus</i>	31

IV.2. Contamination du lait cru par d'autres germes	32
IV.2.1. <i>Escherichia Coli</i>	32
IV.2.2. <i>Clostridium perfringens</i>	33
IV.3. Mesures de prévention et de contrôle.....	34
IV.3.1. Les règles liées à la production du lait cru	34
IV.3.2. Les règles liées à la consommation du lait cru.....	35

PARTIE EXPERIMENTALE

Introduction.....	36
I. Objectifs de l'étude.....	36
II. Présentation des régions de l'étude.....	37
III. Matériel et méthodes.....	38
III.1. Choix des exploitations.....	38
III.2. Période de l'étude.....	39
III.3. Enquête épidémiologique et collecte de données sur les vaches prélevées.....	40
III.4. Echantillonnage.....	40
III.5. Analyses bactériologiques.....	43
III.5.1. Préparation des dilutions décimales	43
III.5.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination.....	44
III.6. Confirmation et identification des souches de <i>S. aureus</i>	45
III.6.1. Caractérisation génomique des isolats.....	45
III.6.1.1. Extraction de l'ADN.....	45
III.6.1.2. Identification et confirmation des isolats de <i>S.</i> <i>aureus</i> par la PCR.....	46
III.6.2. Recherche de la résistance des <i>S. aureus</i> isolés à partir du lait cru individuel aux antibiotiques.....	47
III.7. Détection des inhibiteurs bactériens dans le lait	48
III.8. Enquête sur le mode de consommation du lait	48
III.9. Analyses statistiques	49

IV. Résultats.....	50
IV.1. Résultats d'enquête sur les vaches prélevées.....	50
IV.1.1. Caractéristiques des troupeaux.....	50
IV.1.2. Caractéristiques de la production laitière	51
IV.1.3. Description des pratiques de traite des vaches.....	52
IV.2. Résultats des analyses bactériologiques.....	53
IV.2.1. Lait cru de la ferme.....	53
IV.2.1.1. Résultats du dénombrement bactérien et qualité bactériologique globale du lait cru tout au long de la chaîne de production laitière.....	53
IV.2.1.2. Facteurs de risque et taux de contaminants bactériens.....	55
IV.2.2. Lait cru des points de vente.....	56
IV.2.2.1. Qualité bactériologique globale.....	56
IV.2.2.2. Température de stockage du lait cru dans les différents points de vente.....	58
IV.2.2.3. Relation entre les indicateurs bactériens et entre ces indicateurs et la température de stockage du lait cru vendu.....	59
IV.3. Fréquence d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru.....	59
IV.4. Caractéristiques génotypiques et identification moléculaire des isolats de <i>S. aureus</i>	62
IV.5. Résistance des souches de <i>S. aureus</i> isolés dans le lait cru individuel aux antibiotiques.....	63
IV.6. Contamination du lait cru individuel par les <i>S. aureus</i> et facteurs de variation liés à la vache.....	65
IV.6.1. Répartition des résultats positifs selon les facteurs de variation.....	65
IV.6.2. Comparaison entre les facteurs de variations dans les deux régions	71
IV.7. Impact de la consommation du lait cru sur la santé des consommateurs	73

V. Discussion.....	75
V.1. Evaluation de l'état hygiénique des pratiques de traite.....	75
V.2. Contamination bactériologique des échantillons.....	77
V.2.1. Qualité bactériologique globale du lait cru de la ferme et sources de contamination.....	77
V.2.2. Qualité bactériologique globale du lait cru des points de vente et température de stockage.....	78
V.3. Contamination du lait par les inhibiteurs bactériens.....	81
V.4. Identification et caractéristiques des isolats de <i>S. aureus</i>	82
V.5. Contamination du lait cru individuel par les <i>S. aureus</i> et facteurs de variation liés à la vache.....	83
V.6. Impact de la consommation du lait cru sur la santé des consommateurs.....	85
Conclusion générale.....	86
Recommandations.....	88
Perspectives.....	90
Références bibliographiques.....	91
Annexes	

Publication tirée de cette thèse :

« HAMIROUNE M., BERBER A., BOUBEKEUR S. Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. *Ann. Méd. Vét.*, 2014, 158, 137-144 ».

LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviations	Significations
ADN	Acide Désoxyribonucléique.
AFNOR	Association Française de Normalisation.
BPF	Bonnes Pratiques de Fabrication.
BPH	Bonnes Pratiques d'Hygiène.
CMT	California Mastitis Test.
CSR	<i>Clostridium sulfito-réducteurs.</i>
CT	Coliformes thermotolérants.
EC	Entérocoques.
FMAT	Flore mésophile aérobie totale.
HACCP	Hazards Analysis of Critical Control Point.
IC (95%)	Intervalle de Confiance à 95 %.
mg/ml	milligramme par millilitre.
nm	nanomètre.
OIE	Office International des Épizooties.
pb	paire de base.
PCR	Polymerase Chain Reaction.
pH	potentiel d'Hydrogène.
pHi	point isoélectrique.
PM	Poids Moléculaire.
S.	<i>Staphylococcus.</i>
SA	<i>Staphylococcus aureus.</i>
SCN	Staphylocoque à Coagulase Négative.
SCP	Staphylocoque à Coagulase Positive.
TIAC	Toxi-infection alimentaire collective.
UFC	Unité Formant Colonie.
UI	Unité Internationale.
µg/l	microgramme par litre.
µM	micromolaire.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Physiologie de la descente du lait cru.....	5
Figure 2 : Staphylocoques.....	8
Figure 3 : Colonie de Staphylocoque sur le milieu de Baird Parker.....	10
Figure 4 : Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i>	12
Figure 5 : Les voies de pénétration des bactéries.....	17
Figure 6: Interaction entre les bactéries et les cellules épithéliales.....	18
Figure 7 : Modèle de la réponse inflammatoire dans la glande mammaire.....	18
Figure 8 : Déroulement du processus infectieux.....	19
Figure 9 : Interaction entre les défenses mammaires et les bactéries.....	20
Figure 10 : Illustration du phénomène d'impact.....	21
Figure 11 : Inspection du filtre à lait.....	23
Figure 12 : Mode d'emploi de CMT.....	24
Figure 13 : Répartition des régions de l'étude sur la carte géographique de l'Algérie.....	38
Figure 14 : Thermomètre à usage alimentaire utilisé dans l'étude.....	43
Figure 15 : Matériel utilisé pour le DelvoTest® SP-NT.....	48
Figure 16 : Répartition de vaches étudiées selon les régions d'étude.....	51
Figure 17 : Evolution de la qualité bactériologique du lait cru à travers la chaîne de production à la ferme (moyennes en log ₁₀ ufc/ml).....	55
Figure 18 : Variation des valeurs moyennes de température de stockage du lait cru en fonction des semaines d'étude dans les deux régions.....	58
Figure 19 : Fréquence des inhibiteurs bactériens dans le lait cru.....	60
Figure 20 : Profil de gel d'agarose 1 % présentant le fragment de 664 pb du gène <i>nuc</i>	63
Figure 21 : Taux de sensibilité et de résistance des souches de <i>S. aureus</i> par rapport aux antibiotiques testés.....	64
Figure 22 : Répartition de taux de contamination par groupe d'âge.....	65
Figure 23 : Répartition de taux de contamination selon le niveau de la production laitière.....	66
Figure 24 : Répartition de taux de contamination selon le numéro de lactation.....	67
Figure 25 : Répartition de taux de contamination selon le stade de lactation.....	68

<u>Figure 26</u> : Répartition de taux de contamination selon la race.....	69
<u>Figure 27</u> : Répartition de taux de contamination selon la forme des trayons.....	70
<u>Figure 28</u> : Fréquence d'apparition des troubles gastro-intestinaux après consommation du lait avec ou sans traitement thermique.....	74

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau I</u> : Importance du développement bactérien dans du lait cru laisser à température ambiante.....	4
<u>Tableau II</u> : Evolution du développement bactérien dans du lait cru en fonction de sa température.....	4
<u>Tableau III</u> : Composition chimique et biochimique du lait.....	6
<u>Tableau IV</u> : Présentation des espèces de staphylocoques en fonction de leurs propriétés biochimiques.....	9
<u>Tableau V</u> : Caractéristiques biochimiques importantes communes à <i>S. aureus</i> et à d'autres espèces de staphylocoques.....	11
<u>Tableau VI</u> : Caractères distinctifs entre les quatre genres de la famille des <i>Micrococcaceae</i> et les genres <i>Streptococcus</i> et <i>Enterococcus</i>	11
<u>Tableau VII</u> : Caractéristiques des différents kits.....	13
<u>Tableau VIII</u> : Règle d'interprétation des résultats du CMT.....	25
<u>Tableau IX</u> : Incidence mensuelle des TIAC pour l'année 2012	27
<u>Tableau X</u> : Quelques facteurs influençant la toxinogénèse de <i>S. aureus</i>	27
<u>Tableau XI</u> : Aliments incriminés ou suspectés responsables des TIAC dues aux <i>S. aureus</i> en France (1999-2001).....	29
<u>Tableau XII</u> : Répartition des échantillons en fonction des sites de prélèvements.....	41
<u>Tableau XIII</u> : Les amorces utilisées dans la présente étude.....	47
<u>Tableau XIV</u> : Répartition de vaches étudiées selon les deux régions.....	50
<u>Tableau XV</u> : Répartition de la production moyenne de lait cru par jour et par vache dans les deux régions.....	51
<u>Tableau XVI</u> : Caractéristiques des pratiques de traite des vaches dans 53 exploitation: laitières ayant participé à l'étude.....	52
<u>Tableau XVII</u> : Taux de contaminations des échantillons de lait cru analysés par les cinq indicateurs bactériens tout au long de la chaîne de production laitière dans la ferme.....	54
<u>Tableau XVIII</u> : Prévalence de contaminants bactériens dans les échantillons de l'environnement.....	56
<u>Tableau XIX</u> : Taux de contamination moyen des échantillons de lait cru analysés pour les cinq indicateurs bactériens (ufc/ml).....	57

<u>Tableau XX</u> : Valeurs moyennes de température de stockage du lait cru dans les deux régions.....	58
<u>Tableau XXI</u> : Corrélation entre les résultats de dénombrements des cinq groupes bactériens étudiés et entre ces résultats de dénombrements et la température de stockage...	59
<u>Tableau XXII</u> : Fréquence de détection d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru de la ferme et pour chacun des points de vente (PV).....	60
<u>Tableau XXIII</u> : Relation entre la détection des bactéries indicatrices et la présence d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru de la ferme.....	61
<u>Tableau XXIV</u> : Relation entre la détection des bactéries indicatrices et la présence d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru des points de vente.....	62
<u>Tableau XXV</u> : Origine et caractéristiques des souches de <i>S. aureus</i> isolées de lait cru de la ferme et des points de vente.....	62
<u>Tableau XXVI</u> : Résultats de la lecture de l'antibiogramme des souches de <i>S. aureus</i> isolées à partir des échantillons de lait cru individuel.....	64
<u>Tableau XXVII</u> : Répartition des résultats selon l'âge	65
<u>Tableau XXVIII</u> : Répartition des résultats selon le niveau de la production laitière.....	66
<u>Tableau XXIX</u> : Répartition des résultats selon le numéro de lactation.....	67
<u>Tableau XXX</u> : Répartition des résultats selon le stade de lactation.....	68
<u>Tableau XXXI</u> : Répartition des résultats selon la race.....	69
<u>Tableau XXXII</u> : Pourcentage de la prévalence en fonction de la forme des trayons.....	70
<u>Tableau XXXIII</u> : Répartition des prélèvements contaminés par production laitière et par âge.....	71
<u>Tableau XXXIV</u> : Répartition des prélèvements contaminés par race et par production laitière.....	71
<u>Tableau XXXV</u> : Répartition des prélèvements contaminés par race et par forme des trayons.....	72
<u>Tableau XXXVI</u> : Répartition des prélèvements contaminés par âge et par nombre de gestation.....	73
<u>Tableau XXXVII</u> : Impact du traitement thermique du lait sur l'expression de maladies gastro-intestinales.....	74

INTRODUCTION

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec plus de cinq milliards de litres par an. Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part des protéines d'origine animale. De plus, le développement de la filière lait s'inscrit dans le cadre de la politique agricole, dont l'objectif est de mettre en place une filière laitière intégrée et rassemblant les différents acteurs intervenant soit en amont ou en aval de cette filière (producteurs, collecteurs, transformateurs, structures techniques, office interprofessionnel et fournisseurs des intrants). Cette politique intégrée vise non seulement à réduire les importations de poudre de lait, mais essentiellement à améliorer la production et la création d'emplois (ONIL, 2014).

L'organe de synthèse de ce lait, la mamelle, est souvent sujet à des infections bactériennes qui sont responsables d'une grande partie des infections mammaires (EICHER *et al.*, 2002). Elles sont caractérisées par des symptômes en général limités à la mamelle (légère inflammation du quartier, caillot dans le lait), sans atteinte de l'état général. Dans certains troupeaux on peut rencontrer des cas mortels (RAMOND, 2015).

Les infections mammaires sont plus coûteuses pour les producteurs de lait ce qui en fait une problématique majeure pour l'industrie laitière, dans la plupart des pays du monde. En effet, sur cent vaches laitières, on compte quatre-vingt à quatre-vingt-dix épisodes de ces infections annuellement (HOGAN et SMITH, 2003).

D'après FABRE *et al.*, (1999), l'estimation des pertes de production d'un quartier en fonction du score CMT lors d'une infection mammaire est de 9 % à 43 %.

Depuis le début des années quatre-vingt, *S. aureus* est devenu le pathogène dominant, présent dans plus de 90 % des troupeaux laitiers. Il synthétise de nombreuses protéine et enzymes (hémolysine, Dnase, coagulase) responsables de ses possibilités de toxinogénèse (intoxication alimentaire) (MOCUȚA, 2015).

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est définie par l'apparition d'au moins deux cas dus à un même repas, de symptômes similaires, digestifs le plus souvent. Ces affections sont responsables de graves problèmes de santé à travers le monde, l'OMS estime que les diarrhées tuent 1,5 million de personnes, et que 70% de ces cas sont attribués à la consommation des aliments. En plus, les TIAC ont une grande incidence sociale et économique : arrêts de travail, arrêts d'entreprises de l'industrie agro-alimentaire et des

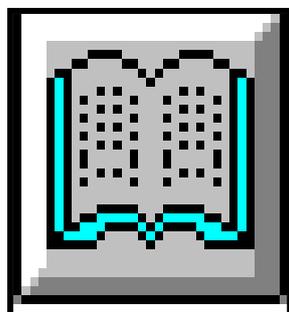
restaurants en cause qui peut aller jusqu'à la faillite, des frais de justice, des frais d'analyse bactériologique et des frais médicaux (CORPET , 2014).

En Algérie, le traitement d'une intoxication banale coûte à l'Etat autour des 3000 DA. Ce chiffre sera revu à la hausse en cas d'hospitalisation atteignant au bas mot, entre 20 000 et 30 000 DA par jour (MAIDI, 2012).

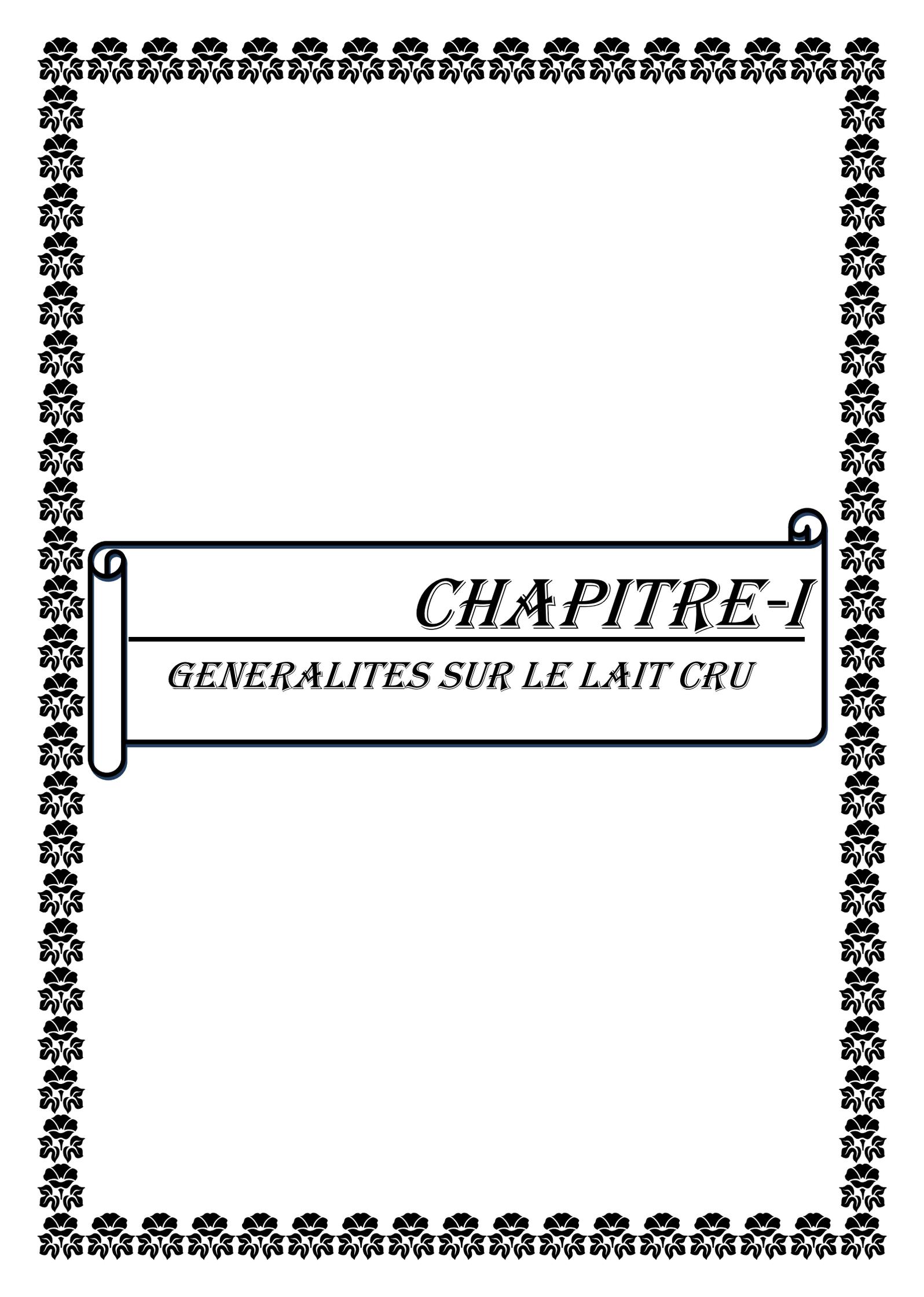
Afin d'éviter les toxi-infections alimentaires collectives, les pertes pour cause de contamination, la diminution importante de la durée de conservation du lait cru et surtout pour obtenir une production de lait de qualité, des exigences croissantes en matière de sécurité ainsi que les démarches d'assurance qualité ont conduit les industries laitières à une réalisation rigoureuse des opérations de désinfection du matériel à traire, des mamelles et des locaux. Ces exigences impliquent également un contrôle régulier de l'efficacité de ces opérations, pour lequel les industriels du secteur traite-collecte du lait disposent d'un certain nombre de méthodes de contrôle microbiologique. Ce contrôle peut être un moyen de les optimiser, tout en motivant les responsables des fermes, salles de traite et collecte du lait au respect des bonnes pratiques d'hygiène (BPH). De plus l'application de la méthode HACCP permet de limiter le nombre de germes responsables de différentes TIAC (FLEMING, 2014).

La présente étude a été divisée en deux parties :

- Dans la partie bibliographique, nous montrerons l'importance du lait cru et de sa contamination bactérienne en filière bovine. Nous nous attacherons ensuite à étudier le pouvoir pathogène de certaines bactéries et en particulier les *S. aureus*. Enfin, nous étudierons le risque attendu par la consommation du lait contaminé par ces bactéries.
- Dans la partie expérimentale, l'étude est basée sur l'analyse bactériologique du lait cru prélevé à partir de différents points de la chaîne de production laitière, pour évaluer le risque et le taux de contamination globale dans les élevages bovins issus de la région de Jijel et de Blida. De plus, nous avons réalisé une enquête épidémiologique sur le mode de consommation du lait vendu dans les deux régions afin de proposer des mesures correctives nécessaires pour améliorer la qualité hygiénique du lait cru et de préserver la santé des consommateurs.



PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the page. The motifs are stylized, symmetrical designs, possibly representing flowers or leaves, arranged in a continuous line.

CHAPITRE-I

GENERALITES SUR LE LAIT CRU

I. GENERALITES SUR LE LAIT CRU

I.1. Définition légale du lait

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1908, lors du premier congrès international pour la répression des fraudes alimentaires : « 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 » (ARRETE INTERMINISTERIEL, 1993).

Réglementairement le colostrum est le produit de la sécrétion mammaire obtenu au minimum pendant les sept jours qui suivent le part (GUIRAUD, 2003).

Il existe différents types de lait selon l'espèce dont il provient (lait de vache, lait de brebis, lait de chèvre,...), mais aussi selon le traitement qui lui est appliqué (lait pasteurisé,...). La dénomination «lait» sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache (LEDERRER, 1977).

Même prélevé dans de bonnes conditions et à partir d'un animal sain, le lait cru contient une flore microbienne originelle « moins de 10^{+3} germes/ml ». Ce n'est donc pas un produit stérile. Ces micro-organismes sont essentiellement saprophytes du pis et des canaux galactophores de l'animal. Il peut toutefois contenir des germes pathogènes pour l'homme lorsqu'il provient d'un animal malade, souffrant d'une infection généralisée ou de mammite (GUIRAUD, 2003).

La flore originelle du lait se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles. Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles (VIGNOLA, 2002).

Alors que, la flore de contamination peut provenir de l'environnement: entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, microcoques, corynébactéries, *Bacillus*, ...etc., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière.

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et, éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (LEYRAL et VIERLING, 2007).

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium pyogenes*, staphylocoques, etc. Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : Salmonella ; Brucella, agent de la fièvre de Malte, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, agent de la listériose ; *Mycobacterium bovis* et *tuberculosis*, agents de la tuberculose ; *Bacillus anthracis*, agent du charbon ; *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q, et quelques virus (FAO, 1995).

Le lait est un bon milieu de culture. Les données de MIQUEL montrent la rapidité du développement bactérien dans du lait cru laissé à température ambiante (tableau I et tableau II) :

Tableau I : Importance du développement bactérien dans du lait cru laissé à température ambiante (LEDERER, 1977).

TEMPS APRES LA TRAITE (Heures)	NOMBRE DE BACTERIES /ml
2	9000
3	21750
4	36250
9	60000
11	120000
27	5000000

D'autres chiffres permettent de montrer l'importance de la température de conservation du lait cru (tableau II) :

Tableau II : Evolution du développement bactérien dans du lait cru en fonction de sa température (LEDERER, 1977).

Nombre de germes par ml de lait cru	Lait cru à 6 °C	Lait cru à 18 °C	Lait cru à 22 °C
Au moment de la traite	6500	6500	6500
8 heures après la traite	12000	-	310000
24 heures après la traite	87000	5000000	11000000

Afin de limiter le développement bactérien dans le lait cru, une réfrigération, la plus rapide possible, doit donc être effectuée (dans l'heure suivant la traite), afin d'abaisser la température du lait à 10 °C au maximum.

La durée de conservation du lait cru est courte car le développement microbien est possible en quelques jours (GUIRAUD, 2003).

I.2. Modalités de la descente du lait

Toute stimulation tactile des trayons déclenche immédiatement un influx nerveux en direction du système nerveux central. Une fois stimulée, la posthypophyse libère l'hormone ocytocine. Cette hormone, transportée par voie sanguine, provoque la contraction des cellules myoépithéliales des acini mammaires et l'éjection du lait alvéolaire dans les canaux galactophores puis dans la citerne du pis. L'ocytocine met environ 50 secondes pour arriver au pis après transmission du réflexe nerveux et son action dure de 2 à 8 minutes (la durée de demi-vie dans le sang est de 4 min) (optimum d'activité jusqu'à 5 min après la stimulation).

Ce premier réflexe neuroendocrinien est secondé par un réflexe nerveux autonome local qui a pour effet une dilatation des canaux galactophores et du sphincter des trayons. Le débit sanguin du pis est également augmenté pendant la traite, ce qui se traduit notamment par une légère érection du trayon (fig. 1) (SVENNERSTEN, 2004).

L'éjection des premiers jets de lait représente la meilleure stimulation tactile des trayons avant la traite. La présence des corpuscules thermorécepteurs montre l'importance de la température sur la traite. Il est toujours conseillé de travailler à une température voisine de la bouche du veau. La descente du lait peut également être déclenchée par des stimuli visuels, auditifs, ou autres (heure de traite, entrée en salle d'attente ou en salle de traite, vue du veau,...). Les pertes de lait parfois observées avant la traite n'ont par contre aucun lien avec une augmentation des taux circulants d'ocytocine (WALLACE *et al.*, 2003).

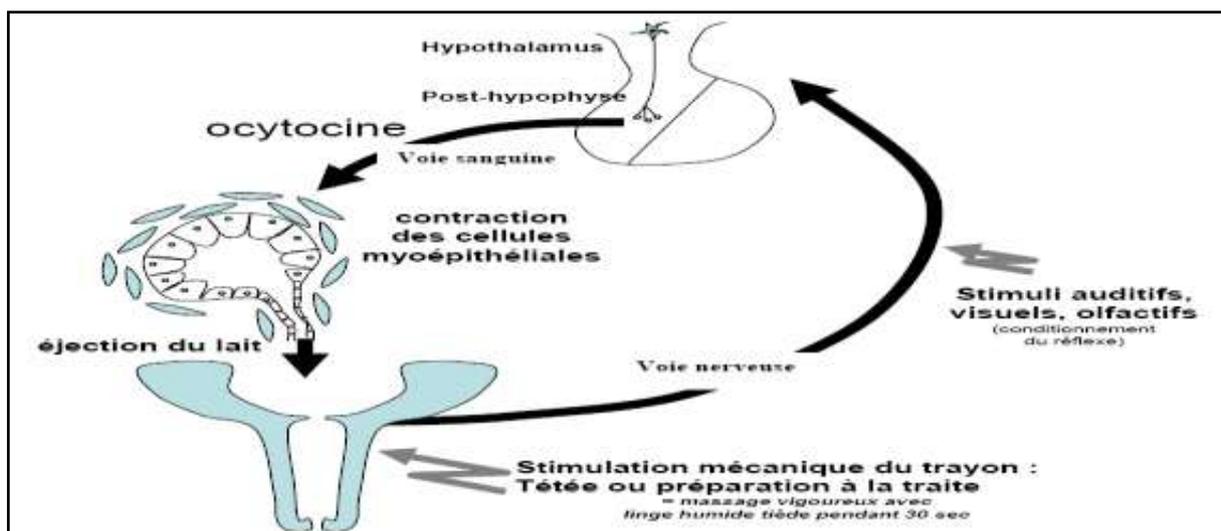


Figure 1: Physiologie de la descente du lait cru (KREMER *et al.*, 1990).

I.3. Propriétés du lait

Le lait constitue le seul aliment absolument indispensable pour assurer survie puis croissance pour les nouveau-nés. Il présente diverses propriétés chimiques et physiques.

I.3.1. Composition chimique et biochimique du lait

Le lait est constitué de matière grasse, de matière azotée, de sucre, de matières minérales, de vitamines, des enzymes et de l'eau. Hydrates de carbone, graisses et protéines constituent les éléments essentiels de la sécrétion lactée (tableau III).

Tableau III : Composition chimique et biochimique du lait (HANZEN, 2007).

Les composants	Teneurs (g/l)
Eau	902,0
Matière sèche	130,0
Glucides (lactose)	49,0
Matière grasse	39,0
Matière azotée	33,0
Protéines	32,7
Caséines	28,0
Protéines solubles	4,7
Azote non protéique	0,3
Sels	9,0
Biocatalyseurs, enzymes, vitamines	Traces

I.3.1.1. Eau de constitution

L'eau de constitution représente 90 % de la composition du lait. Cette eau contient la quasi-totalité de lactose, ainsi que tous les autres composants hydrosolubles « des sels minéraux solubles, azote non protéique, protéines solubles ... etc. » (MIETTON et *al.*, 1994).

I.3.1.2. Les glucides du lait

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache. C'est un sucre spécifique du lait. C'est un diholoside, composé d'une molécule de glucose et d'une molécule de galactose. Il est biosynthétisé par la mamelle, à partir d'acides gras volatils chez les ruminants.

Le lactose est le seul sucre qui puisse être utilisé correctement par le jeune animal. Car le tube digestif du très jeune animal possède la lactase mais ne possède pas de saccharase, ni de maltase et ni d'amylase (MICHEL et *al.*, 2000).

I.3.1.3. La matière grasse

La matière grasse du lait est constituée de 65 % d'acide gras saturés et de 35 % d'acide gras insaturés dont 3% sont polyinsaturés (MICHEL et *al.*, 2000).

I.3.1.4. La matière azotée

La teneur en protéines du lait est une caractéristique essentielle de sa valeur marchande, technologique et biologique. On admet que la teneur moyenne en azote du lait est de 15,65 % (HANZEN, 2007).

I.3.1.5. Les minéraux

Ils sont représentés par les constituants présents à l'état d'ions ou de sels non dissociés. Ils comprennent notamment du calcium, du potassium, du sodium, des traces de fer, de cuivre, de zinc et de manganèse (MIETTON et *al.*, 1994).

I.3.1.6. Les vitamines

On distingue les vitamines hydrosolubles (B, C) présentes dans la phase aqueuse du lait c'est-à-dire le lait écrémé et le lactosérum et les vitamines liposolubles (A, D, E) associés à la matière grasse (crème, beurre) (HANZEN, 2007).

I.3.2. Propriétés physiques du lait

Le lait est un milieu aqueux caractérisé par différentes phases se différenciant par la taille des particules qui les composent. Sa densité (3 % de matières grasses) à 4 °C est de 1,0295 g/ml. La solution aqueuse vraie renferme des molécules (lactose) ou des ions à l'état dissous. Cette phase est stable. Les solutions colloïdales renferment des albumines et globulines, des minéraux tels le phosphate tricalcique et des micelles de caséine associées au calcium.

Le pH du lait de vache à 20 °C est compris entre 6.5 et 6.7. Le lait mammiteux a un pH basique (pH > 7) et le colostrum a un pH voisin de 6.

A decorative border consisting of a repeating pattern of stylized floral motifs, possibly roses or similar flowers, arranged in a rectangular frame around the central text.

CHAPITRE-II

*NOTIONS ESSENTIELLES SUR
CERTAINS GROUPES BACTERIENS
CONTAMINANTS LE LAIT CRU*

II. NOTIONS ESSENTIELLES SUR CERTAINS GROUPES BACTERIENS CONTAMINANTS LE LAIT CRU

II.1. Les staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* regroupe des espèces bactériennes constituées de cellules arrondies (cocci) à Gram positif, immobiles, disposées en amas, à la façon d'une grappe de raisin. Les staphylocoques produisent une catalase, ce qui les distingue des streptocoques et des entérocoques. Ils sont aéroanaérobies et se cultivent facilement sur milieu ordinaire. Les espèces anaérobies strictes sont regroupées dans *Peptococcus* (fig. 2) (JEAN-LOUP, 1997).

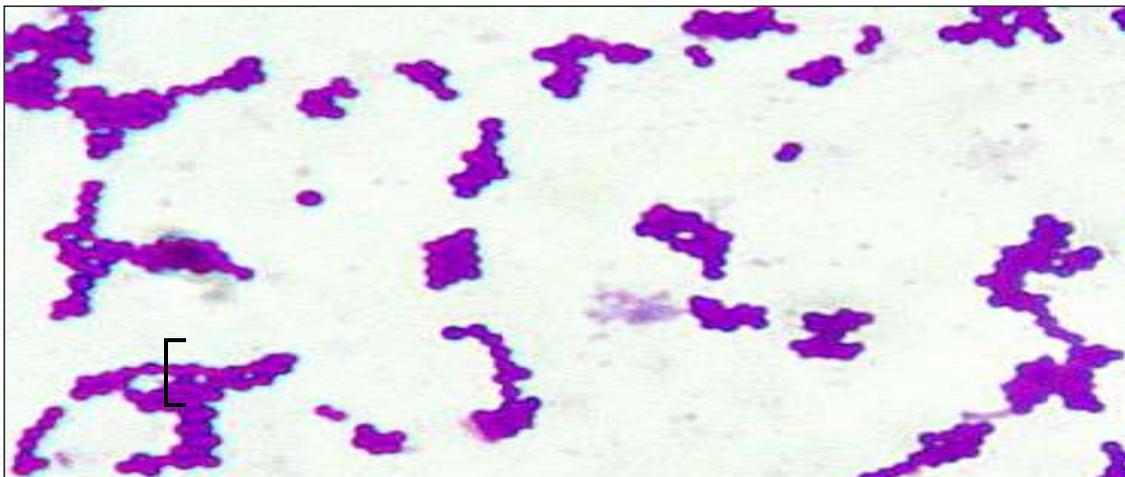


Figure 2 : Staphylocoques (ANONYME 1, 2014).

II.1.1. Taxonomie

Les staphylocoques sont des germes Gram positifs, appartenant à la famille des *Micrococcaceae*. Ils ont un métabolisme aéroanaérobie. On distingue :

- ✓ Les staphylocoques à coagulase positive (SCP) dont l'espèce fondamentale est le *S. aureus*, mais qui comprend d'autres espèces comme *S. intermedius* (tableau IV) (EUZEBY, 2005).
- ✓ Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) qui regroupent une vingtaine d'espèces. Toutefois, certaines espèces classées dans le groupe des SCN peuvent produire une coagulase : *S. delphini*, *S. schleiferi* et *S. lutrae* (tableau IV) (EUZEBY, 2005).

Tableau IV : Présentation des espèces de staphylocoques en fonction de leurs propriétés biochimiques (FLEURETTE, 2000).

	Coagulase	Novobiocine
<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ; <i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i> .	+	S
<i>S. delphini</i> ; <i>S. intermedius</i> .	+	S
<i>S. auriculairis</i> ; <i>S. capitis</i> ; <i>S. carnosus</i> ; <i>S. chromogenes</i> ; <i>S. epidermidis</i> ; <i>S. felis</i> ; <i>S. haemolyticus</i> ; <i>S. wernerii</i> .	-	S
<i>S. xylosum</i> ; <i>S. arlettae</i> ; <i>S. saccharolyticum</i> ; <i>S. gallinarum</i> ; <i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnatus</i> ; <i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i> ;	-	R

S : Sensible à la novobiocine.

R : Résistance à la novobiocine.

II.1.2. Caractéristiques des souches de *S. aureus*

Au sein des staphylocoques à coagulase positive, certaines souches ont la possibilité, sous certaines conditions, de produire des entérotoxines responsables de toxi-infections alimentaires. Cette production suppose en outre la présence en quantité importante de germes dans l'aliment. Un dénombrement supérieur à 10⁵ UFC (Unité Formant Colonie) par litre d'aliment est en fait nécessaire (BRISABOIS et al., 1997).

Nous allons donc nous intéresser aux conditions de culture et aux facteurs de virulence des staphylocoques, plus particulièrement à celles de *S. aureus* qui est l'espèce la plus fréquemment rencontrée dans les toxi-infections alimentaires staphylococciques (DE BUYSER et al., 1994).

II.1.2.1. Conditions de culture

Selon KLOOS et BANNERMAN en 1994 :

- La température : *S. aureus* est un germe mésophile. Il se cultive de 6 °C à 46 °C. La température optimale est de 37 °C.
- Le pH : *S. aureus* se cultive à un pH compris entre 4 et 9,8. Le pH optimal se situe entre 6 et 7.
- La teneur en sel : *S. aureus* est un germe halophile qui supporte des taux de sel allant de 7 à 20 %.
- L'activité en eau : *S. aureus* tolère une activité en eau très réduite ($A_w = 0,83$).
- La concurrence bactérienne : les staphylocoques supportent mal la concurrence avec les lactobacilles acidifiants, les streptocoques et les entérobactéries. Dans les aliments (exemple le lait cru) ; le milieu le plus utilisé pour isoler les espèces de staphylocoques : est le milieu de Baird Parker au jaune d'œuf et au Tellurite de Potassium.
- Après incubation des milieux de culture ensemencés dans des conditions favorables ; des caractéristiques comme la taille, la couleur, la texture sont relevées sur les colonies obtenues (fig. 3).
- La distinction entre les *S. aureus* et d'autres espèces de staphylocoques est possible grâce à la présence ou l'absence de différentes enzymes (tableau V).
- La distinction entre les *Staphylococcus* et les autres genres de la famille des *Micrococcaceae* (*Micrococcus*, *Planococcus*, *Stomatococcus*) est basée sur l'utilisation complémentaire de méthodes de caractérisation phénotypique et de méthodes de caractérisation génotypique (tableau VI).

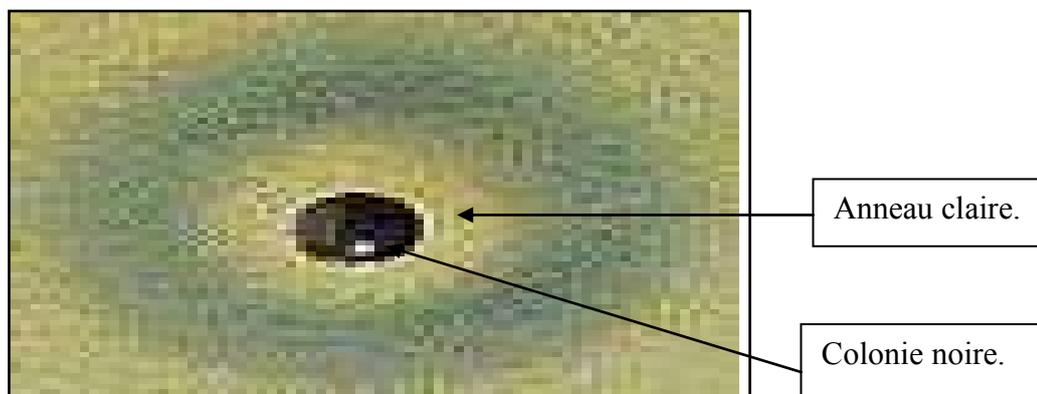


Figure 3 : Colonie de Staphylocoque sur le milieu de Baird Parker (ANONYME 2, 2014).

Tableau V : Caractéristiques biochimiques importantes communes à *S. aureus* et à d'autres espèces de staphylocoques (DE BUYSER, 1996).

	<i>S. aureus</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. lugdunensis</i>
Coagulase libre	+	+	v	-	-
Entérotoxines	v	v	-	-	-
Coagulase liée	+ (1)	V (2)	- (3)	+	+
Thermonucléase	+	+	+	+	-

(1) + : plus de 90% des souches sont positives, (2) v : variable, (3) - : plus de 90% des souches sont négatives, *S.* : *Staphylococcus*.

Tableau VI : Caractères distinctifs entre les quatre genres de la famille des *Micrococcaceae* et les genres *Streptococcus* et *Enterococcus* (LAURENT et al., 1998).

Caractères	<i>Staph</i>	<i>Micro</i>	<i>Plano</i>	<i>Stoma</i>
Associations cellulaires prédominantes	Amas, paires	Amas, tétrades	Paire, tétrades	Amas, paires (rare)
Type respiratoire (a)	AnF	AeS	AeS	AnF
Métabolisme (b)	R+F	R	R	R+F
Fermentation du glucose	+	-	-	+
Catalase	+	+	+	Faible ou -
Test de l'oxydase	-	+	Nd	-
Présence de cytochromes	+	+	+	+
Mobilité	-	-	+	-
Résistance à la lysostaphine	Sensible	Résistant	Résistant	Résistant
Acide teichnoïque dans la paroi	+	-	+	-
G+C %	30-39	64-75	39-52	56-61

(+) : présence ou réaction positive, (-) : réaction négative ou absence, nd : non déterminé, (a) AnF : anaérobie facultatif, V : variable, AeS : aérobie strict, (b) R : respiratoire, F : fermentatif, (c) : présence d'acide teichnoïque chez les souches du sérogroupe D, *Staph* : *Staphylococcus*, *Micro* : *Micrococcus*, *Plano* : *Planococcus*, *Stoma* : *Stomatococcus*.

II.1.2.2. Facteurs de virulence

Pratiquement toutes les souches de *S. aureus* produisent des enzymes et des cytotoxines qui permettent en particulier de convertir les tissus locaux de l'hôte en nutriments nécessaires à la croissance bactérienne : il s'agit d'hémolysines, de nucléases, de protéases permettant une pénétration des tissus et une adhésion sélective, mais aussi de lipases, de hyaluronidases et de collagénases. Certaines souches produisent une ou plusieurs toxines supplémentaires : la toxine-1 du syndrome du choc toxique, des entérotoxines, des toxines exfoliatives et une ou plusieurs leucotoxine(s). Des composants de surface ont également un rôle dans la virulence de cette bactérie : adhésines, protéine A et polysaccharides capsulaires (fig. 4) (DINGES *et al.*, 2000).

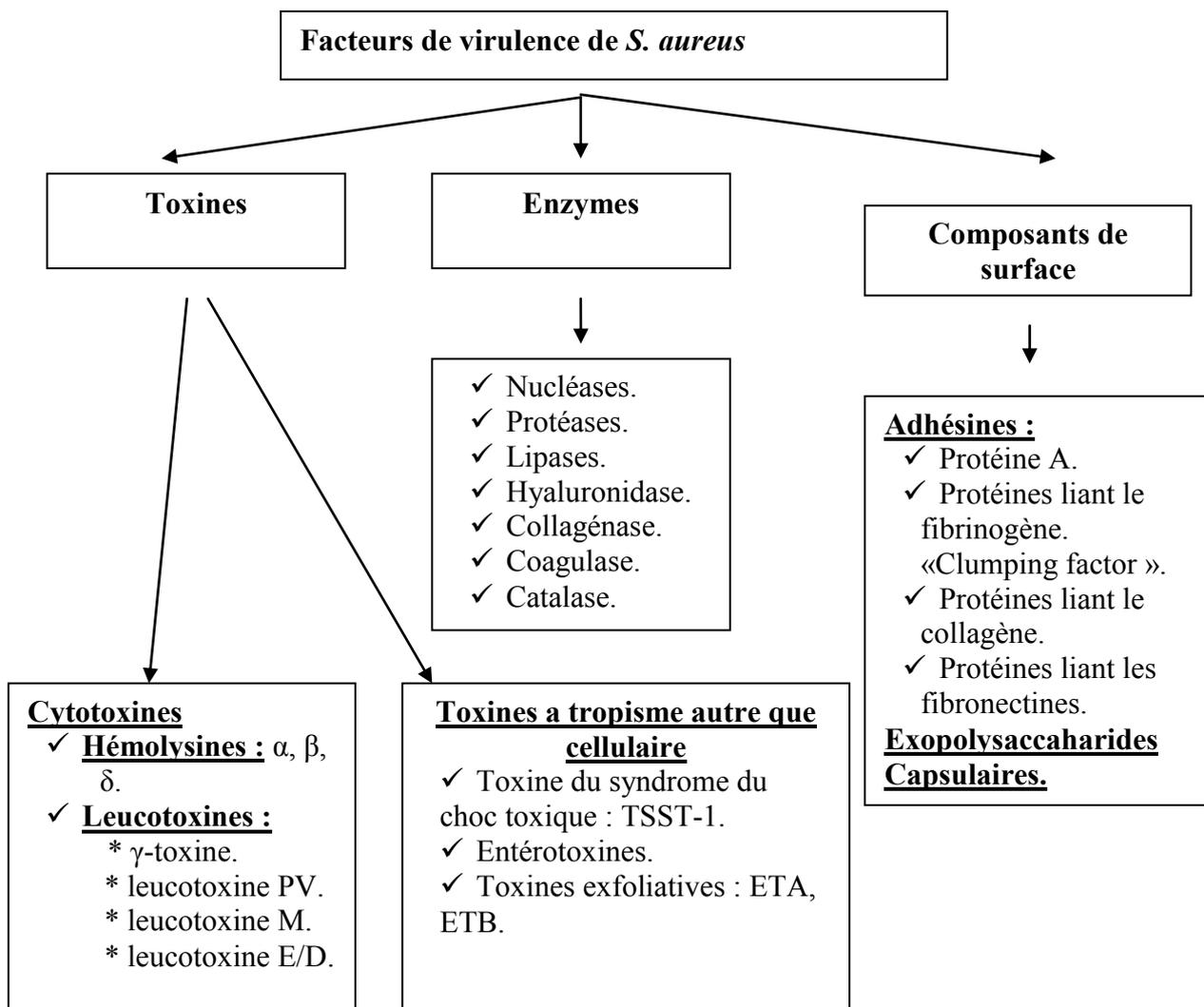


Figure 4 : Facteurs de virulence de *S. aureus* (DINGES *et al.*, 2000).

II.1.3. Techniques de mise en évidence des entérotoxines staphylococciques

Différentes techniques peuvent être utilisées :

II.1.3.1. Méthodes biologiques

Cela consiste à faire absorber à un animal, souvent des primates, des échantillons suspects. Il est aisé de comprendre que ces méthodes ne sont plus d'actualité car elles sont trop chères, trop peu sensibles, coûteuses en temps et peu respectueuses du bien être animal (WIENEKE, 1991).

II.1.3.2. Méthodes de détection génomique type PCR (Polymerase Chain Reaction)

Des sondes pour la recherche des séquences nucléotidiques codant pour les entérotoxines de type A, B, C, D, E, H ont été identifiées et synthétisées. Avec ces techniques, la sensibilité et la spécificité ont été améliorées. Cependant, elles ne permettent pas de distinguer les bactéries mortes des bactéries vivantes. D'autre part la présence des séquences nucléotidiques ne nous renseigne pas sur la production effective de toxines. La technique PCR doit donc être confirmée par une autre méthode (WIENEKE, 1991).

II.1.3.3. Méthodes de détections antigéniques type ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Sandwich Assay)

La méthode ELISA pour la détection d'entérotoxines a été utilisée la première fois par Saunders et Barlett en 1977. Commodes, rapides et sensibles, les techniques immunoenzymatiques sont désormais les plus couramment employées.

Dans la pratique, différents kits sont présents sur le marché. Ces trousse de détection utilisent des techniques d'agglutination et des techniques ELISA (tableau VII) (BRETT, 1998).

Tableau VII : Caractéristiques des différents kits (BRETT, 1998 ; WIENEKE, 1991).

Nom	Type	Toxines détectées	Durée	Sensibilité
SET RPLA	RPLA	A-B-C-D	24 h	0,2 ng/ml
SET EIA	EIA	A-B-C-D-EH	1 nuit + 7h	0,1 à 1* ng/ml (*SED)
TECRA S.E.V.I.	EIA	A-B-C-D	4 h	1 ng/ml
SET TRANSIA tubes ou en plaques	EIA	A-B-C-D-E	1 h 30 min	0,05 à 0,2 ng/ml
RIDASCREEN SET	EIA	A-B-C-D-E	2 h 30 min	0,1 ng/ml
SET VIDAS	ELFA	A-B-C-D-EH	1 h 20 min	0,1 à 1* ng/ml (*SEC)

RPLA : Reverse Phase Latex Agglutination, ELFA : Enzyme Linked Fluoresceine Assay, EIA : Enzyme Immunosorbent Assay, SED, SEC : Staphylococcal Enterotoxin D et C.

II.1.4. Contamination du lait cru par *S. aureus*

Cette bactérie pathogène vit à la surface des mamelles et à l'intérieur des tissus mammaires notamment par le biais de trayons crevassés. Il a la particularité de ne pas être digéré par les leucocytes (globules blancs) de la vache et donc y rester à « l'abri » des antibiotiques. Le staphylocoque doré produit une toxine dont la quantité conditionne la gravité de la contamination du lait à l'intérieur des mamelles.

Les signes cliniques sont peu évidents à détecter en cas de faible contamination. Quand celle-ci devient importante (lors des mammites cliniques), on observe des micro-abcès qui pourront envahir complètement la mamelle (mammites gangréneuses) et conduiront alors à la réforme de l'animal (HANZEN, 2007).

II.2. Les autres agents bactériens

II.2.1. Les coliformes thermotolérants

Les coliformes thermotolérants sont capables de se développer à 44 °C alors qu'aucune croissance n'est observée à cette température pour les souches non fécales. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (ELMUND *et al.*, 1999).

La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés. La présence de coliformes thermotolérants témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale (EDBERG *et al.*, 2000).

II.2.2. Les entérocoques

Les entérocoques sont caractérisés par leur capacité de croissance dans des conditions drastiques (température de 10 °C ou 45 °C, pH=9,6), leur résistance aux sels biliaires (gélose contenant 40 % de bile de bœuf) et leur capacité à hydrolyser l'esculine. Ils sont généralement α ou non hémolytiques. La plupart des espèces produisent une pyrrolidonyl-arylamidase ainsi qu'un antigène lié aux acides teichoïques et identifié comme l'antigène du groupe D chez les streptocoques (CEAEQ, 2000).

Leur présence dans le milieu extérieur est considérée comme un marqueur de contamination fécale. Ils sont responsables de nombreuses infections chez l'animal. Ils sont l'un des principaux agents d'infection nosocomiale fécale. La fréquence des infections graves à entérocoques augmente du fait de leur résistance naturelle à de nombreux antibiotiques tels que les céphalosporines et les fluoroquinolones (AWWA, 1990).

II.2.3. Les *Clostridium* sulfito-réducteurs

Ce groupe se compose de microorganismes anaérobies sporogènes, dont le plus caractéristique, *Clostridium perfringens* (*C. welchii* est normalement présent dans les fèces, mais en bien moins grand nombre qu'*E. coli*). Toutefois, ils ne sont pas d'origine exclusivement fécale et leur présence dans l'environnement peut avoir d'autres raisons. Les spores de clostridia peuvent survivre dans l'eau beaucoup plus longtemps que les coliformes et ils résistent à la désinfection (CEAEQ, 2000).

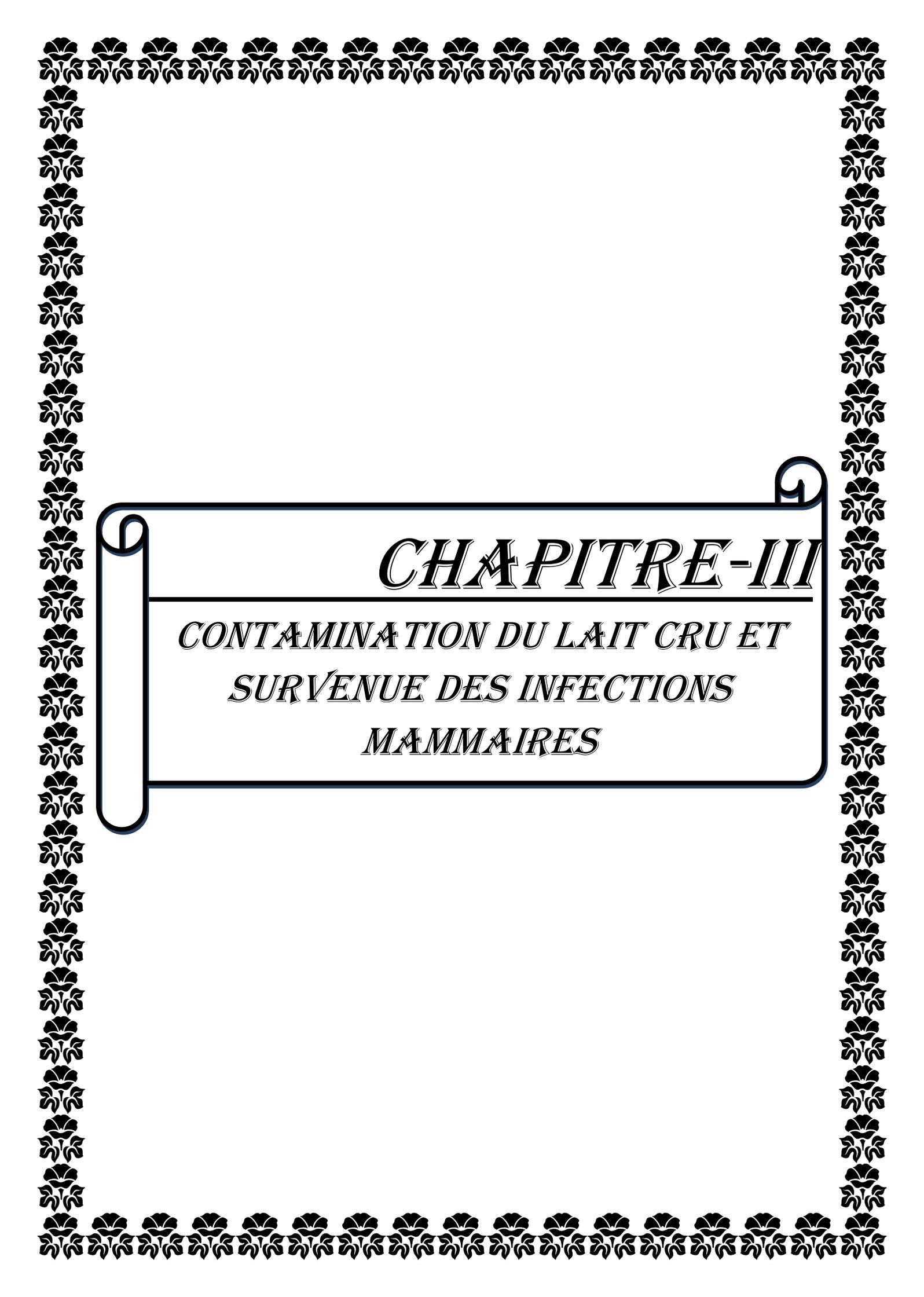
II.2.4. La flore mésophile aérobie totale

La flore mésophile aérobie totale est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présentes dans un produit ou sur une surface. Son dénombrement se fait à 30 °C.

Elle se développe sur tous les aliments (denrées alimentaires) conservés dans des conditions de température trop élevée et/ou de durée trop longue.

Bien que, pour la plupart des espèces, ces bactéries ne soient pas dangereuses pour la santé, leur détection dans les aliments traduit une altération. Elle amoindrit la qualité intrinsèque de l'aliment (goût, odeur, aspect).

Leur nombre révèle avant tout que le procédé de préparation d'une denrée a été exécuté dans des conditions de bonnes pratiques de fabrication (BPF) insuffisantes (ROBERTSON, 1995).

A decorative border consisting of a repeating pattern of stylized floral motifs, possibly roses or similar flowers, arranged in a rectangular frame around the central text.

CHAPITRE-III

*CONTAMINATION DU LAIT CRU ET
SURVENUE DES INFECTIONS
MAMMAIRES*

III. CONTAMINATION DU LAIT CRU ET SURVENUE DES INFECTIONS MAMMAIRES

III.1. Réservoirs et matières virulentes

Généralement la plupart des germes mis en cause lors de la contamination intra-mammaire du lait itramammaire sont des germes présents sur la peau des trayons. La contamination se fait donc principalement lors de ces opérations de traite (BERGONNIER *et al.*, 1997).

D'après GUERIN en 2003 ; les principales sources d'infections sont :

- **Quartiers infectés** : la détection trop tardive des infections, la limite d'efficacité du traitement (germes inaccessibles ...) et l'absence de réforme des vaches incurables, constituent les facteurs favorisant l'infection.
- **Lésions des trayons infectés** : gerçures, crevasses, éversion du canal du trayon, constituent de véritables gîtes pour les staphylocoques. Ces germes prolifèrent dans ces lésions et sont très difficiles à éliminer.
- **Lésions virales d'origine infectieuses** (exemple: herpès virus) : Il s'agit de surinfection par les staphylocoques.
- **Les conditions d'habitat** : litière traumatisante, logettes étroites, grilles d'élimination des déjections trop étroites ou trop espacées.
- **Transmission pendant la traite** : par les mains des trayeurs et le matériel de traite (manchons trayeurs, lavette ...).
- **Transmission entre les traites** : par capillarité via le canal du trayon (qui reste ouvert environ 20 minutes après la traite) après la traite. C'est surtout lors de contact avec la litière que la contamination s'effectue (décubitus après la traite sur aire paillée fortement contaminée).

III.2. Mécanisme de contamination

La contamination se fait en plusieurs étapes. Chacune est soumise à différents facteurs de variation qui influent sur l'intensité de l'infection.

III.2.1. Exposition de l'agent pathogène

La première étape du processus infectieux est la contamination de l'extrémité du trayon, qui peut survenir entre les traites ou pendant la traite (POUTREL, 2002).

III.2.2. Pénétration des micro-organismes

Elle se fait à travers le canal du trayon entouré d'un sphincter musculaire involontaire, puis à travers les replis muqueux de la rosette de Fürstenberg, à travers le sinus papillaire et enfin le sinus glandulaire (fig. 5) (POUTREL, 1985).

Les bactéries s'établissent alors à proximité des cellules épithéliales bordant les canaux sécrétoires, absorbant des facteurs nutritifs du lait tout en expulsant des toxines nocives qui attaquent et détruisent l'épithélium (fig. 6) (LEBRET *et al.*, 1990).

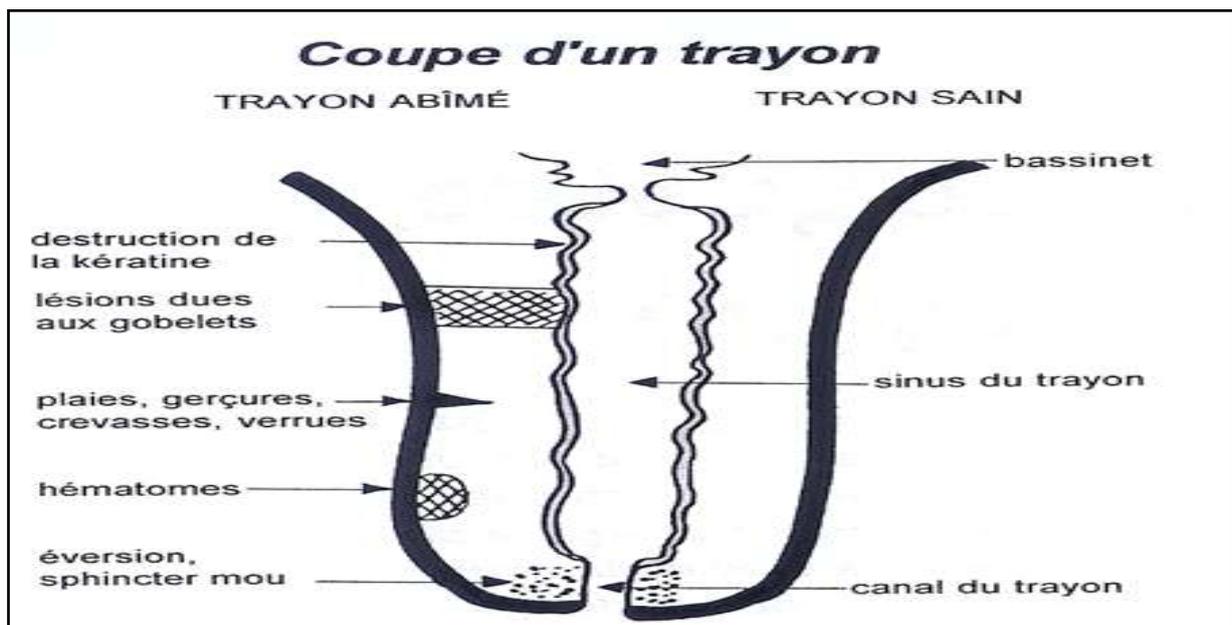


Figure 5 : Les voies de pénétration des bactéries (THIBERT, 1996).

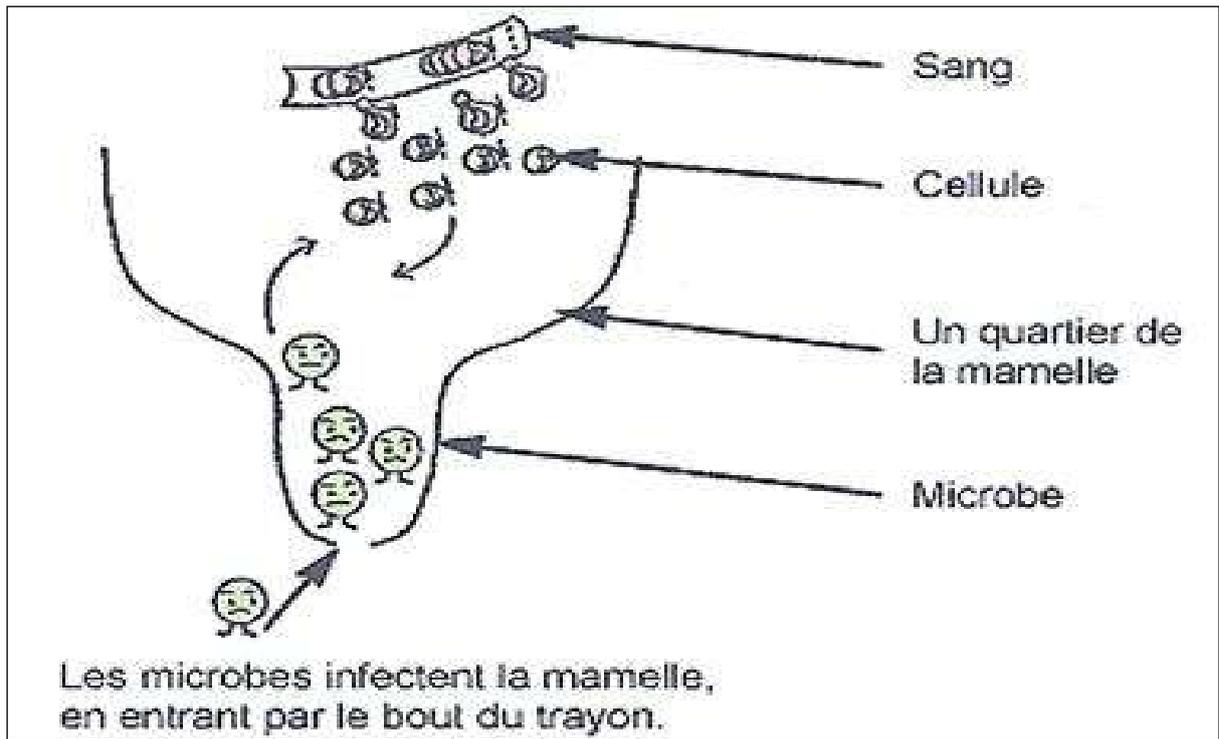


Figure 6 : Interaction entre les bactéries et les cellules épithéliales (THIBERT, 1996).

III.2.3. Infection de la glande mammaire

L'infection par un germe pathogène conduit à une destruction des cellules de la glande. On a donc libération de constituants et de fractions cellulaires, ce qui provoque une inflammation (fig. 7).

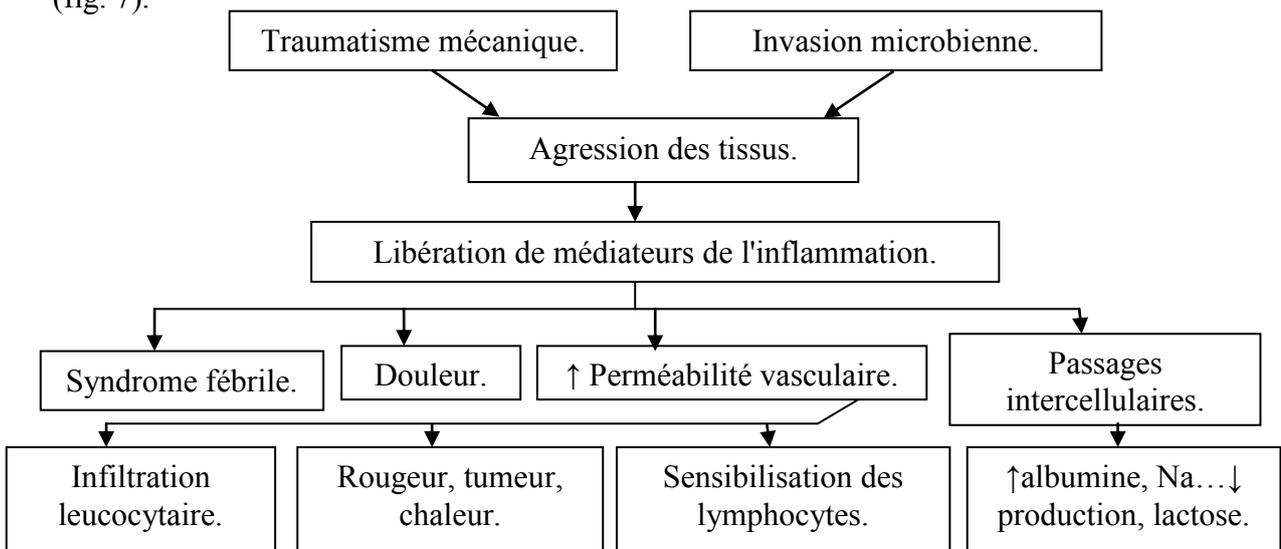
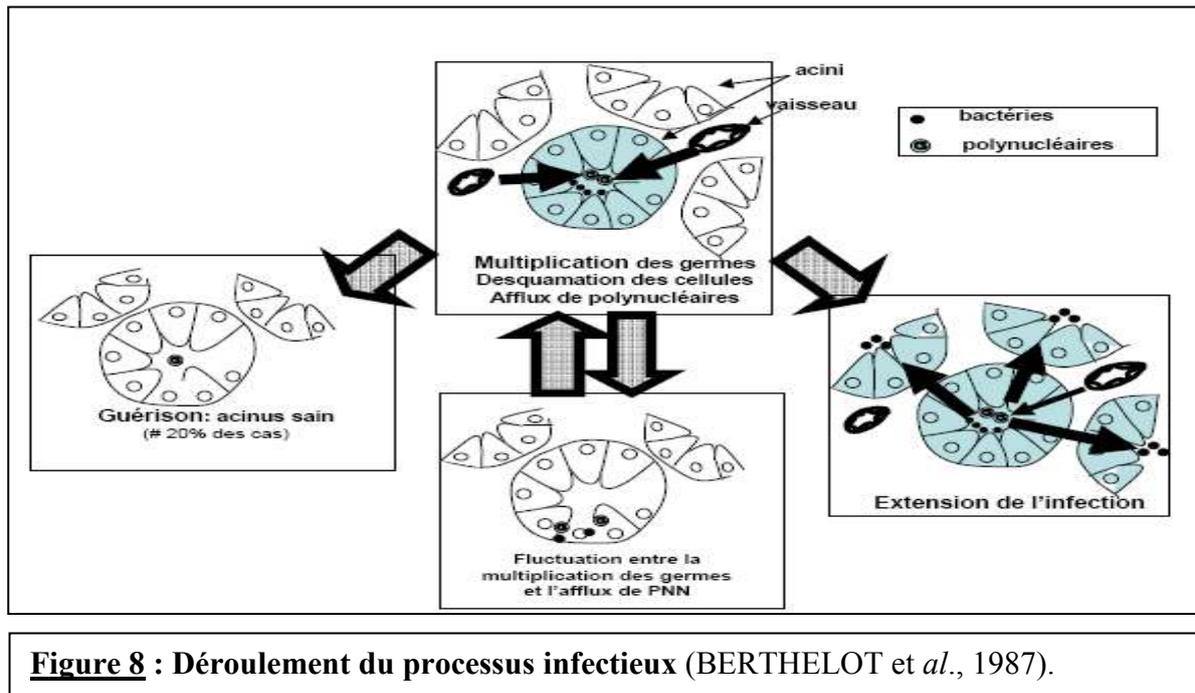


Figure 7 : Modèle de la réponse inflammatoire dans la glande mammaire (FETHERSON et al., 2001).

Selon PERRIN et BAUDRY en 2004 ; l'inflammation correspond à :

➤ **Des réactions vasculaires** : phénomènes de congestions active et passive sous l'égide de médiateurs tels que l'histamine, la sérotonine et les interleukines.

➤ **Des réactions cellulaires** : la vasodilatation et la production de médiateurs engendrent la migration de leucocytes vers les tissus (ou diapédèse). Ces cellules sont essentiellement des polynucléaires dont le mode d'intervention est la phagocytose (fig. 8).



III.2.4. Réponse de l'organisme

La mamelle dispose, pour lutter contre les agressions microbiennes, de défenses passives constituées d'éléments physiques et de défenses actives stimulées par l'infection. Ces mécanismes sont influencés par le statut hormonal et nutritionnel de l'animal, par sa génétique mais également par la virulence des agents pathogènes (fig. 9) (BOUCHARDE, 2003).

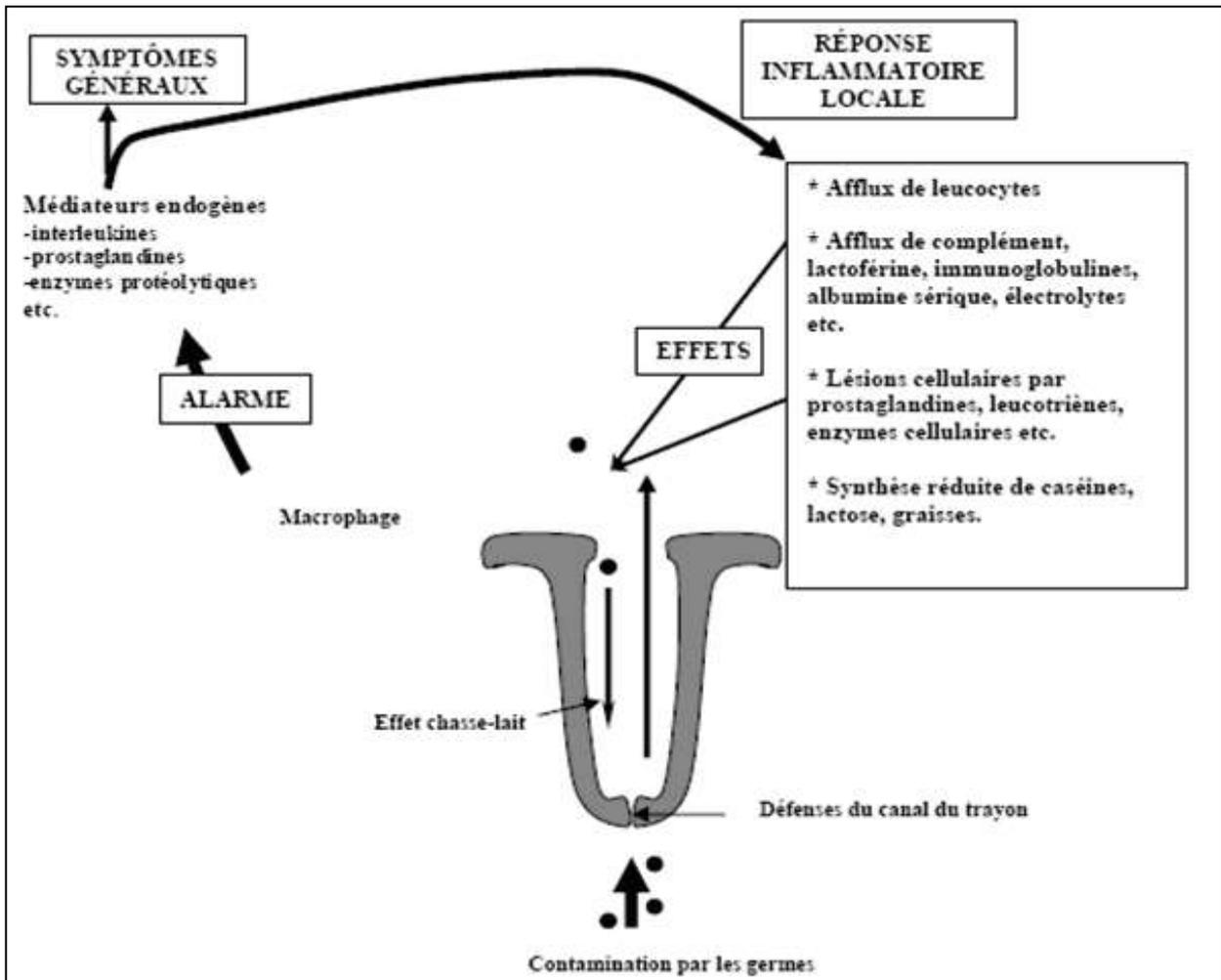


Figure 9 : Interaction entre les défenses mammaires et les bactéries
(SALSBERG *et al.*, 1984).

III.3. Facteurs favorisant la contamination

III.3.1. Facteurs liés à l'environnement

Les conditions de température et d'humidité sont plus ou moins favorables à la prolifération des bactéries de l'environnement (HANZEN, 2007).

III.3.2. Facteurs liés à la machine à traire

En pratique, le phénomène d'impact fait suite à l'entrée soudaine d'air atmosphérique par la pièce d'embouchure d'un manchon durant la traite. Le lait contaminé est alors projeté à travers le canal du trayon, avec pour effet non seulement la contamination du quartier mais également la création de lésions du canal (fig. 10) (LEBRET *et al.*, 1986).

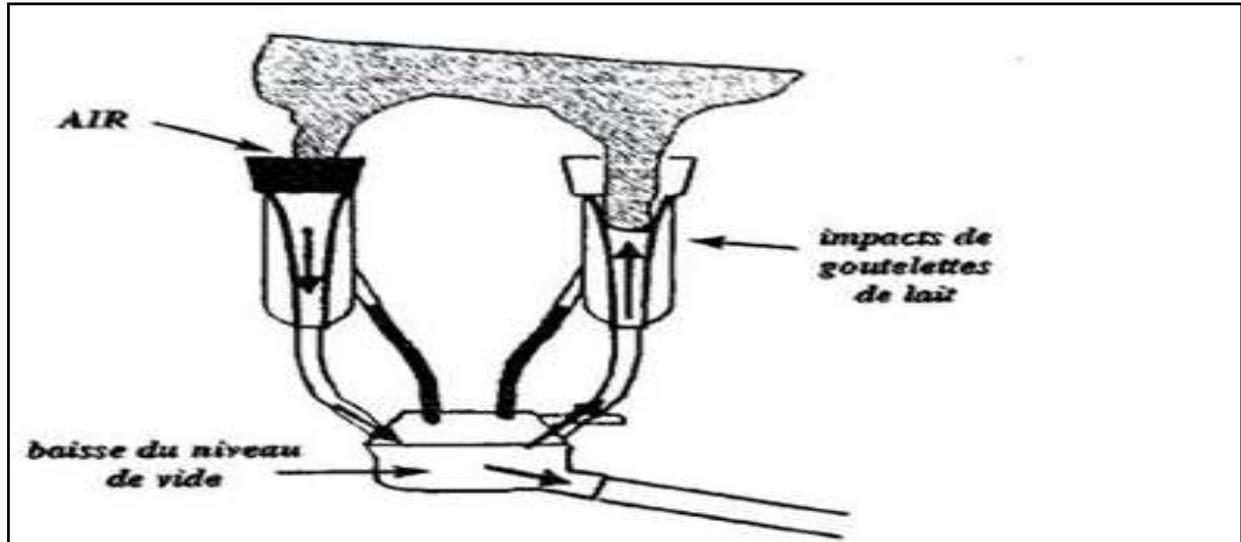


Figure 10 : Illustration du phénomène d'impact (GOURREAU, 2001).

Le phénomène de retour de lait, comme son nom l'indique, correspond à un retour de lait du faisceau trayeur vers le trayon durant la traite. Ce lait chargé des germes qu'il aura pu collecter sur l'extrémité du trayon, sur le manchon ou dans le tuyau court à lait va participer à la contamination du trayon. Ce phénomène est lié à une mauvaise évacuation du lait depuis le manchon jusqu'au lactoduc (BOUDRY, 2005).

III.3.3. Facteurs liés au statut de l'élevage

Les contaminations intra-mammaires du lait sont associées à des faibles concentrations de cellules somatiques dans le lait (BARKEMA *et al.*, 1998).

III.3.4. Facteurs liés aux stades de lactation

Au tarissement, l'accumulation de fluide et l'augmentation de pression dans la mamelle entraînent la dilatation du canal du trayon et favorise ainsi l'entrée d'agents pathogènes de l'environnement. Alors qu'en lactation ces agents pathogènes seraient éliminés par la traite, au tarissement, ils persistent dans le trayon (HOGAN et SMITH, 2003).

III.3.5. Facteurs liés à la race

Selon BLOOD et RADOSTITS en 2000, les vaches laitières sont prédisposées par rapport aux vaches allaitantes dont la glande mammaire est moins sollicitée.

III.4. Conséquences de la contamination du lait sur la santé des mamelles

Les contaminations intra-mammaires du lait peuvent être à l'origine de mammites qui se distinguent en :

III.4.1. Mammites subcliniques

Le lait ne présente aucune modification macroscopique. Par contre, l'examen cytologique du lait met en évidence une augmentation parfois considérable du nombre de polynucléaires (HANZEN et CASTAIGNE, 2002).

Les causes de mammites subcliniques sont le plus souvent des bactéries dites contagieuses, par exemple : *Streptococcus agalactiae*, *S. aureus* et *Mycoplasme* (SERIEYS, 1985).

III.4.2. Les mammites cliniques

Les mammites cliniques sont caractérisées par des modifications macroscopiquement visibles de la quantité et de la qualité du lait, de la sécrétion de la mamelle (critère le plus précoce et le plus constant), de symptômes locaux inflammatoires de la mamelle (douleur, chaleur, tuméfaction) et de symptômes généraux (hyperthermie, anorexie, arumination). Selon la gravité et la simultanéité des symptômes, on distingue, par ordre décroissant de gravité, les mammites cliniques suraiguës, aiguës et subaiguës (POUTREL, 1985).

III.5. Les moyens de diagnostic

En pratique, les praticiens appuient leur diagnostic sur trois examens fondamentaux : examen macroscopique, california Mastitis Test (C.M.T) et examen bactériologique.

III.5.1. Examen macroscopique

Un peu de lait sera examiné visuellement afin de rechercher toute modification de couleur, de consistance, la présence de sang, de grumeaux. La recherche des grumeaux peut être facilitée par la mise en place sur le tuyau long à lait de détecteurs en ligne constitués d'un filtre amovible (HANZEN et CASTAIGNE, 2002) (fig.11).



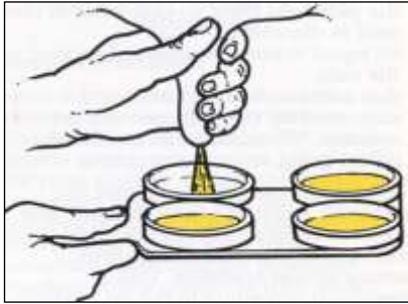
Figure 11 : Inspection du filtre à lait (HANZEN, 2006).

III.5.2. California Mastitis Test (C.M.T)

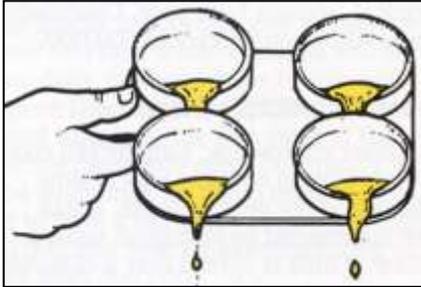
Un réactif tensio-actif à base de Teepol du commerce mélangé à un échantillon de lait réagit avec l'ADN contenu notamment dans le noyau des cellules somatiques. Il se forme un précipité dont l'importance et la consistance sont fonction de la teneur en cellules de l'échantillon (SERIEYS, 1985).

Le principe repose sur la lyse des membranes cellulaires, le détergent libère l'ADN des cellules qui forme alors un gel dont la viscosité est proportionnelle au nombre de cellules dans le lait (HANZEN ET CASTAIGNE, 2002). Le mode d'emploi est figuré sur la figure 12.

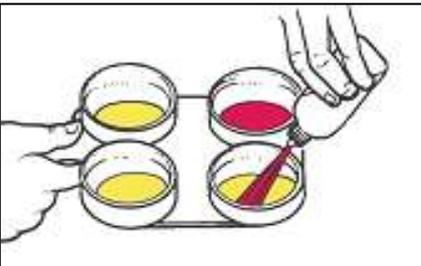
Il existe différentes clés d'interprétation de ce test qui, en fait, dépend beaucoup quant à son résultat, de l'opérateur et des circonstances de réalisation (un bol sale ou acide peut même le rendre négatif) (tableau VIII) (HANZEN et CASTAIGNE, 2002).



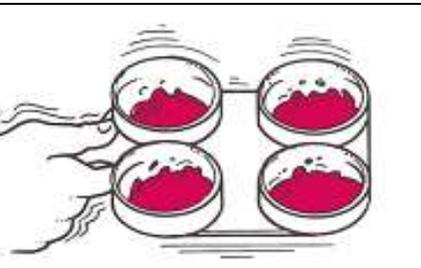
- ✚ Lavage et essuyage du trayon.
- ✚ Extraction des premiers jets de lait des quatre trayons.
- ✚ Remplissage de chaque coupelle d'un plateau (qui en comporte quatre), avec 2 ml de lait.



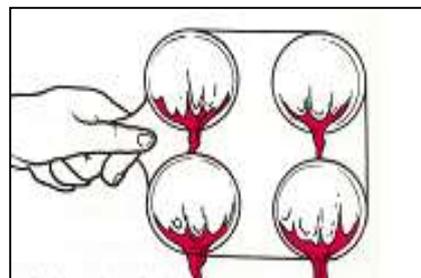
- ✚ Incliner la palette afin de ne conserver que la quantité nécessaire de lait, à savoir environs 2 millilitres (jusqu'à ce que le trait horizontal soit visible).



- ✚ Ajouter 2 ml de Teepol (réactif) à 10 % (une coupelle par trayon).



- ✚ Mélanger les deux liquides par un mouvement de rotation du plateau dans un plan horizontal.



- ✚ Lire le résultat après 10 secondes selon le tableau VIII au dessous.
- ✚ Il est également utile lors de la lecture d'incliner la palette pour visualiser comment le lait s'écoule.

Figure 12 : Mode d'emploi de CMT (HANZEN, 2006).

Tableau VIII : Règle d'interprétation des résultats du CMT (BERTHELOT *et al.*, 1987).

Aspect	Résultat	Cellules par ml	Interprétation
Aucun flocculat	-	<500000	Pas d'infection subclinique.
Flocculat léger persistant	+	500000 à 1000000	Infection subclinique légère.
Flocculat épais adhérent	++	1000000 à 5000000	Infection subclinique nette.
Gel épais «blanc d'œuf»	+++	>5000000	Infection subclinique à clinique.

III.5.3. Examen bactériologique

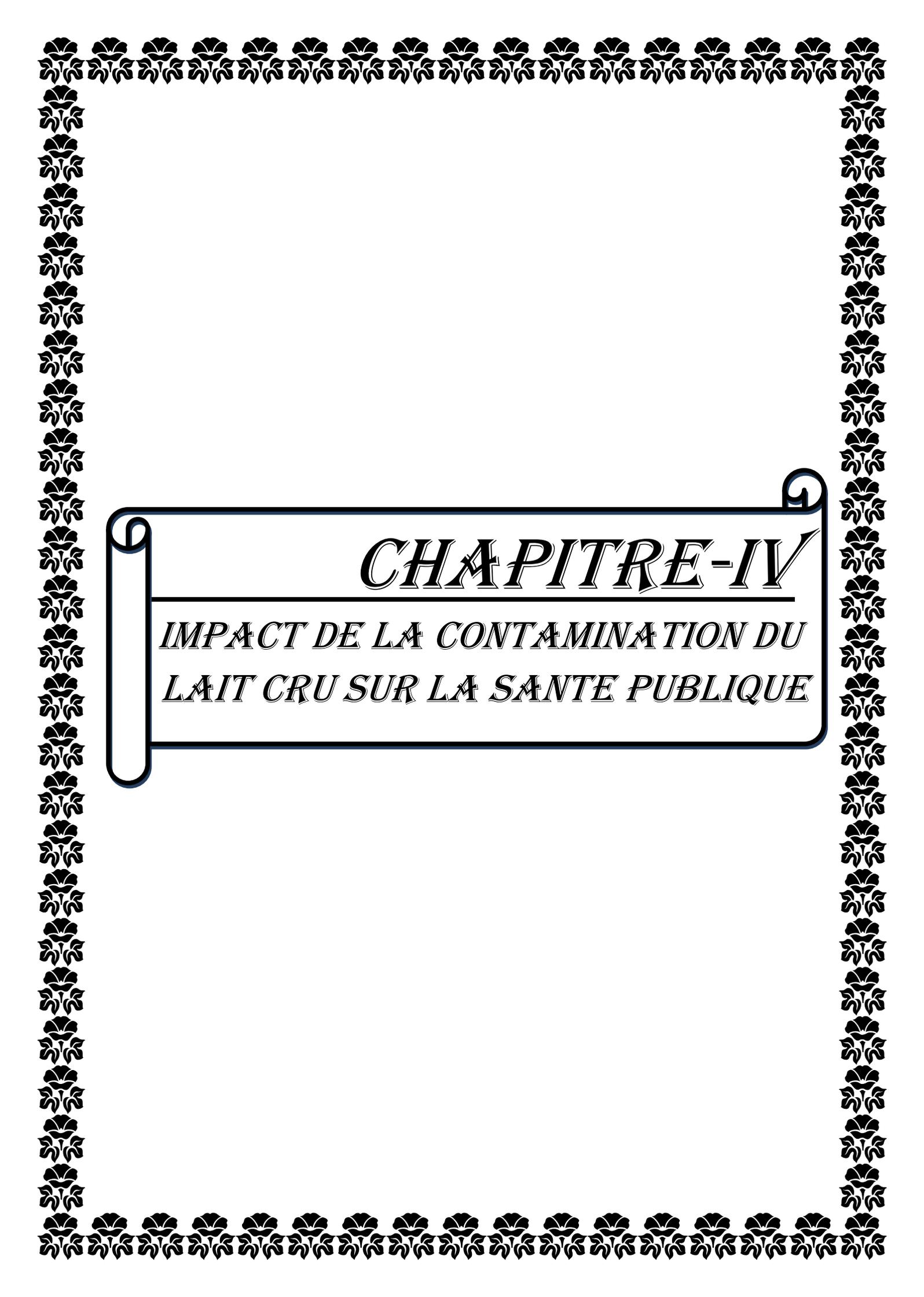
L'examen bactériologique d'un échantillon de lait cru provenant d'une vache passe par quatre étapes successives. La première concerne la réalisation du prélèvement, sa conservation et son expédition. Les autres étapes, réalisées au laboratoire, sont l'ensemencement, l'identification des germes isolés et l'antibiogramme.

Les méthodes de la recherche des agents pathogènes varient en fonction de type des bactéries :

a). Modalité de l'ensemencement : l'échantillon doit être soigneusement agité car les bactéries se concentrent dans la crème du lait. Un aliquote de 0,025 ml de l'échantillon est étalé à l'aide d'une anse calibré sur une gélose au sang qui permet d'isoler pratiquement toutes les espèces bactériennes, des milieux sélectifs qui permettent d'isoler l'espèce bactérienne que l'on a choisi à priori et qui n'est sans doute pas celle qui est à l'origine de l'infection (LAMARCHE *et al.*, 2000). Après 24 heures d'incubation à 37°C, on procède à l'identification des colonies selon les techniques classiques. Le prélèvement est considéré comme positif lorsque le nombre et la nature des colonies présentent un aspect homogène et que leur nombre dépasse 250 unités formant colonies (HOGAN *et al.*, 2000). D'après la Fédération Internationale de Laiterie et de certains auteurs, on considère comme responsable d'une infection, un micro-organisme isolé en culture pure ou prédominant au sein des micro-organismes trouvés (FABRE *et al.*, 1997). Et dans le cas de l'apparition de deux espèces bactériennes simultanément dans la culture :

- Si les deux espèces appartiennent à la même catégorie (germes pathogènes majeurs), les deux sont prises en compte (FABRE *et al.*, 1997)
- Si l'une de deux espèces fait partir des pathogènes majeurs (comme *Staphylococcus aureus*) et l'autre des pathogènes mineurs (*Staphylocoque coagulase négative*), seule celle de la première catégorie est prise en compte (FABRE *et al.*, 1997)

b). Identification des souches : selon les méthodes classiquement recommandées, l'identification d'espèce est effectuée à l'aide des galeries standardisées (API system Bio-Merieux) (BERRY et HILLERTON, 2002).

A decorative border consisting of a repeating pattern of stylized floral motifs, possibly roses or similar flowers, arranged in a rectangular frame around the central text.

CHAPITRE-IV

*IMPACT DE LA CONTAMINATION DU
LAIT CRU SUR LA SANTE PUBLIQUE*

IV. IMPACT DE LA CONTAMINATION DU LAIT CRU SUR LA SANTE PUBLIQUE

IV.1. Contamination du lait cru par *S. aureus*

IV.1.1. Définition et fréquence

C'est une intoxication d'origine alimentaire pure et non une infection ou une toxi-infectieux. Elle est en majorité causée par *S. aureus* coagulase positive. Il n'est pas habituel de trouver des souches coagulase négatives et thermonucléase négatives qui produisent des entérotoxines. Les souches positives pour la production de coagulase et de thermonucléase devraient être considérées comme productrices potentielles d'entérotoxine. *S. aureus* a été confirmé comme étant l'agent causal dans de nombreux cas d'empoisonnements alimentaires graves. En fonction des études, les intoxications alimentaires à *S. aureus* représenteraient 15 à 30% des toxi-infections alimentaires. Sa présence dans les aliments est donc une préoccupation majeure (KHALAF *et al.*, 2014).

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) déclarées ont vu une augmentation remarquable, cette dernière décennie. Comme il a été signalé par l'institut national de la santé publique de l'Algérie cette augmentation ne semble pas liée à la dégradation de l'état sanitaire mais plutôt à la performance et l'amélioration continue de système de surveillance et/ou de procédures de suivi. En effet, avant l'an 2000, en Algérie l'enregistrement des TIAC ne paraissait pas comme une priorité, la fragilité du système de surveillance et de gestion des risques alimentaires était liée à l'instabilité politique qu'a connue l'Algérie durant les années 90. A partir de 2000, la notification des TIAC a vu une augmentation passant de 11,2 à 16,01 cas par 100000 habitants en 2003. Cela est dû probablement à la reprise du système de surveillance qui a permis de détecter de nombreux cas de TIAC survenues (ZIANE, 2014).

En 2011, 82 foyers de TIAC ont été recensés causant le décès de 05 personnes. Avec comme agent responsable : *Salmonella* ssp, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Clostridium perfringens*. Notons aussi que dans 61% des foyers de TIAC l'agent causal est inconnu (MOUFFOK, 2011). Dans la majorité de TIAC, la détermination de l'agent causal était généralement basée sur la suspicion symptomatologique. Cela a probablement créé une confusion entre les agents incriminés et ceux suspectés (ZIANE, 2014).

Selon ZIANE (2014), la période estivale est caractérisée par une augmentation de l'incidence des TIAC. Le non-respect de la chaîne de froid, l'insuffisance des conditions d'hygiène

comptent parmi les principaux facteurs favorisant la présence et la multiplication des pathogènes (Tableau IX).

Tableau IX : Incidence mensuelle des TIAC pour l'année 2012 (INSP, 2012).

Mois	Taux/100000 hbts	Mois	Taux/100000 hbts
Janvier	0,2	Juillet	1,8
Février	0,3	Aout	1,6
Mars	0,4	Septembre	1,5
Avril	0,6	Octobre	1,0
Mai	1,4	Novembre	0,6
Juin	1,4	Décembre	0,5

IV.1.2. Physio pathogénie

Contrairement aux salmonelles, les *S. aureus* sont en général d'origine humaine. La pasteurisation et l'ébullition du lait cru ne détruisent pas l'entérotoxine responsable de ces accidents. Des défauts d'hygiène commis à la ferme au cours de la traite et de la manipulation du lait cru, associés au fait que l'ouvrier agricole ne prend pas toujours le soin de laisser les bidons dans l'endroit frais depuis la traite jusqu'au ramassage, entraînent cette possibilité d'intoxication d'origine lactée. De plus, il y a lieu d'attribuer certaines épidémies au lait cru et produits laitiers contaminés par des *S. aureus* d'origine bovine (KOUAR, 1979).

La production de la toxine se fait après prolifération de *S. aureus* dans le lait cru. Deux à trois heures à température ambiante sont nécessaires pour la libération de ces toxines dans le lait. Cependant, la toxinogénèse nécessite des paramètres d'environnement très particuliers, comme le décrit le tableau X.

Tableau X : Quelques facteurs influençant la toxinogénèse de *S.aureus* (MEYRAND, 1999).

Facteur	Production d'entérotoxines
Aw; [Aw optimum]	0,86 à 0,99 ; [> 0,99]
NaCl; [NaCl optimum]	0 à 10 % ; [0%]
pH; [pH optimum]	5 à 8 ; [6,5 à 7]
Température; [Température optimale]	10 à 45 °C ; [40°C]

Après ingestion, l'incubation est de courte durée (2 à 3 heures), l'entérotoxine agit sur les entérocytes du tractus digestif et au sein de l'organisme comme un superantigène (EUZEBY, 2005). Elle stimulera certains récepteurs nerveux des fibres sensibles du nerf vague au niveau de la muqueuse de l'estomac. Leur stimulation activerait le centre du vomissement et

entraînerait les vomissements violents, de coliques et de diarrhée observés lors d'intoxication alimentaires dues aux *S. aureus* (CHIKAHIRA et HAMADA, 1998).

IV.1.3. Symptomatologie

Les intoxications d'origine alimentaire dues aux *S. aureus* sont caractérisées par un temps d'incubation très court. Les symptômes apparaissent en moyenne deux à trois heures après l'ingestion de l'aliment contaminé (CHAUBEAU et *al.*, 1992).

La symptomatologie est la suivante : nausées, vertiges, céphalées suivis rapidement par des vomissements incoercibles. Si des aliments ont le temps de progresser jusque dans l'intestin grêle, une diarrhée hydrique accompagnée de douleurs intenses est associée aux vomissements.

Après une réhydratation par voie orale, la récupération est bonne et rapide (environ 24 heures). Une hospitalisation peut être nécessaire si des enfants ou des personnes âgées, plus sensibles à une déshydratation, sont touchés. La mortalité est exceptionnelle.

D'un point de vue pathogénique, même si les modalités d'absorption intestinale restent peu connues, le mode d'action des entérotoxines est bien compris (BALABAN et *al.*, 2000).

Selon POPOFF en 1996 ; les entérotoxines possèdent deux zones fonctionnelles distinctes.

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

IV.1.4. Rôle du lait cru dans les intoxications à *S. aureus*

ARNAL en 2003 ; nous donne des chiffres concernant la prévalence des TIAC dues aux *S. aureus* durant les années 1999 et 2001 et les aliments incriminés ou suspectés qui sont repartis dans le tableau XI ci-dessous :

Tableau XI : Aliments incriminés ou suspectés responsables des TIAC dues aux *S. aureus* en France (1999-2001) (ARNAL, 2003).

Aliments incriminés ou suspectés	La prévalence
Lait cru	17,1 %
Viandes	11,6 %
Volailles	5,1 %
Œufs et produits à base d'œufs	5,8 %
Poissons, fruits de mer, coquillages	5,8 %
Aliments d'origine non animale ou mixte	20,4 %
Eau de boisson	0,4 %
Charcuterie	8 %

Ce classement montre bien l'importance du lait cru dans ce type de toxi-infection alimentaire. Cependant, les *S. aureus* sont le plus souvent mis en cause lorsqu'un produit laitier est suspecté.

IV.1.5. Caractéristiques des entérotoxines de *S. aureus*

Les entérotoxines de *S. aureus* sont des protéines monomérique de faible masse moléculaire (de 26,9 à 29,6 kDa) et dont le pont isoélectrique varie de 5,7 à 8,6, constituées d'une unique chaîne d'acides aminés (ORLANDINI, 1999). Elles sont excrétées, dans le milieu de culture, au cours de la croissance des staphylocoques (BOURGEOIS, 1996).

Selon ARNAL en 2003, les différents sérotypes sont désignés par des lettres et par ordre décroissant de fréquence, sont :

- ✓ L'entérotoxine de type « A » a été détectée dans 70 % des cas des intoxications.
- ✓ Les entérotoxines de type « C » et « D » dans 20 % des cas des intoxications.
- ✓ L'entérotoxine de type « B » dans 16 % des cas des intoxications.
- ✓ L'entérotoxine de type « E » dans 7 % des cas des intoxications.

La production de plusieurs sérotypes (deux ou trois au maximum) en même temps est possible par une même souche de staphylocoque (ORLANDINI, 1999).

Les entérotoxines de *S. aureus*, comme la toxine TSST-1, sont de superantigènes qui sont des molécules capables de stimuler des populations importantes de lymphocytes T. La stimulation des lymphocytes T par un superantigène est différente d'une stimulation des lymphocytes T spécifique d'un antigène qui implique une dégradation de l'antigène par l'APC et la présentation d'un peptide antigénique par la molécule de classe II du CMT au TCR de lymphocyte T. Cette interaction est relativement spécifique car elle concerne des populations

de lymphocytes T dont le TCR comporte des types particuliers de chaîne β (CHIKAHIRA et HAMADA, 1998).

La résistance des entérotoxines des *S. aureus* est dirigée par plusieurs facteurs biologiques (SUTRA *et al.*, 1998) :

- ✓ pH : 2 à 11.
- ✓ La pepsine et l'enzyme gastrique si le pH est supérieur à 2.
- ✓ Température : les toxines résistent jusqu'à 30 minutes à 121°C et plusieurs heures entre 80 et 100°C.
- ✓ Les enzymes protéolytiques (trypsine, chymotrypsine...).

Les entérotoxines même si elles parviennent à franchir la barrière intestinale et à passer dans la circulation sanguine, elles sont rapidement éliminées par les reins si bien qu'une concentration sanguine suffisante ne peut vraisemblablement pas être atteinte (CELINE, 2004).

IV.1.6. Influence sur la santé humaine

Seules les espèces de *S. aureus* capables d'élaborer des entérotoxines sont considérées comme pathogènes en hygiène alimentaire. En effet, les souches de *S. aureus* animales n'affectent pas l'homme, mais l'ingestion d'entérotoxines présentes dans le lait contaminé peut provoquer un syndrome gastro-intestinal ou Toxi-infection Alimentaire (TIA) à *S. aureus*.

Les conséquences de ces intoxications peuvent être graves chez les jeunes enfants ou les personnes immunodéprimées (MEYRAND, 1999).

S. aureus est la principale espèce entérotoxinogène. Certains auteurs ont décrit la production d'entérotoxines par des espèces de staphylocoques non *aureus* (AFSSA, 2005).

IV.1.7. Diagnostic

C'est un diagnostic de laboratoire, basé sur deux étapes :

➤ **Première étape** : elle consiste à la culture des *S. aureus* sur plaque de gélose gélatine, ensuite à l'incubation et enfin à l'inondation des plaques par une solution saturée de sulfate d'ammonium, et les colonies suspectes s'entouraient d'une auréole transparente très nette. Cette technique est modifiée par proposition d'un milieu qui évite d'immerger les colonies tout en ayant les mêmes résultats (LESCURT, 1951).

➤ **Deuxième étape** : cela consiste en l'ingestion soit de l'aliment contaminé, soit de la souche, soit de l'entérotoxine purifiée par un animal sensible (le jeune chat). Il réagissait au bout de 15 à 30 mn lors de l'injection intrapéritoniale d'un cm³ d'entérotoxine par kg de poids vif (LESCURT, 1951).

IV.1.8. Traitement

Basé sur l'utilisation d'un antibiotique adéquat (c'est un traitement purement symptomatique) avec le traitement des porteurs de *S. aureus* (furuncles, angine, ...etc.) (KOUAR, 1979).

IV.1.9. Moyens de lutte contre les intoxications à *S. aureus*

Selon ROSSET et POUMEYROL en 2004 ; pour éviter les intoxications à *S. aureus*, il faut limiter la contamination et empêcher la production de toxine. On peut donc détruire les *S. aureus* par :

- ✓ La chaleur (cuisson ou pasteurisation).
- ✓ Stopper leur multiplication (température inférieure à 6 °C).
- ✓ Le respect de la chaîne du froid est donc essentiel dans la prévention des intoxications dues aux *S. aureus*.

IV.2. Contamination du lait cru par d'autres germes

Parmi les germes contaminants le lait cru, on peut distinguer les bactéries suivantes : les *Escherichia Coli* et les *Clostridium perfringens*.

IV.2.1. *Escherichia Coli*

IV.2.1.1. *Escherichia Coli* Entérohémorragiques (EHEC)

Les sérotypes VTEC (Véro Toxine *Escherichia Coli*) comme O157:H7, produisent une vérotoxine (appelée aussi Shiga Toxine *Escherichia Coli* : STEC).

La dose infectieuse est faible (100 bactéries vivantes). Ces bactéries sont acido-tolérantes.

Les EHEC possèdent au moins un gène Stx (Stx1 codant pour la Shiga-toxine 1 ou Stx2 codant pour la Shiga-toxine 2) ainsi que d'autres facteurs de virulence.

Le processus infectieux est multifactoriel et dépend à la fois de facteurs bactériens et de facteurs liés à l'hôte.

Après ingestion du lait cru contaminé, les STEC doivent résister à l'acidité de l'estomac. Une étape de colonisation du tube digestif est probablement nécessaire : la plupart des souches STEC (en particulier celles de sérotype O157:H7) sont capables de produire des lésions d'attachement/effacement ; pour les autres, les mécanismes de colonisation sont encore mal connus. Les toxines produites par les bactéries doivent ensuite traverser l'épithélium intestinal, avant de rejoindre le système circulatoire et atteindre les récepteurs spécifiques localisés à la surface des cellules endothéliales, principalement au niveau intestinal, rénal et cérébral. Les toxines Stx entraînent la mort des cellules cibles par arrêt des synthèses protéiques.

Ces sérotypes causent chez l'homme le Syndrome Hémolytique Urémique (SHU) : la dysenterie (diarrhée sanglante douloureuse) ou colite hémorragique se complique dans 10 % des cas d'une néphrite aigüe et anémie hémolytique. Le SHU peut « tuer » les reins (cause la mort ou nécessite la dialyse à vie) (OMS, 2010).

IV.2.1.2. *Escherichia Coli* Entérotoxigènes (ETEC)

Escherichia Coli possède les caractères classiques des entérobactéries. L'espèce est constituée de bacilles à Gram négatif, généralement mobile grâce à une ciliature peritriche, non sporulée

La dose infectieuse est élevée : 10^6 bactéries.

Escherichia Coli ETEC produit deux entérotoxines et des facteurs d'adhésions (à l'entérocyte) :

- ✓ Toxine LT, Thermo-Labile.
- ✓ Toxine ST, Thermo-Stable.

Après ingestion et la durée d'incubation (10 à 15 heures), l'homme présente les symptômes suivants :

- ✓ Diarrhées principalement accompagnées éventuellement de douleurs.
- ✓ Nausées.
- ✓ Céphalée.
- ✓ Vomissements qui conduisent à la déshydratation.

Le patient guérit en 3 à 4 jours sans traitement : la réhydratation orale par boissons suffit (OMS, 2010).

IV.2.2. *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens est une bactérie très ubiquitaire largement répandue dans tout l'environnement. La spore résiste à la cuisson (100 °C/1heure). Sulfito-réducteur, les sulfites sont transformés en H₂S qui avec le fer du milieu donne des colonies noires. Elle résiste à la néomycine.

Clostridium perfringens produit et secrète de nombreuses toxines et enzymes. Selon les principales toxines produites, les souches de *C. perfringens* sont classiquement classées en 5 toxinotypes (A, B, C, D, E).

L'entérotoxine est protéique, thermolabile, libérée lors de la sporulation de *C. perfringens* de type A, et détectable dans les selles par méthodes immuno-enzymatique. D'autres toxines protéiques sont synthétisées (toxine alpha).

Après ingestion du lait cru contaminé (8 à 10 heures : durée d'incubation), l'homme présente les symptômes suivants :

- ✓ Violentes diarrhées douloureuses « en chasse d'eau » (6 selles/12 heures) avec gaz.
- ✓ Pas de fièvre.
- ✓ Absence de vomissement.

La guérison est très vite : 12 à 24 heures sans traitement (ARNAL, 2003).

IV.3. Mesures de prévention et de contrôle

La prévention des TIAC repose essentiellement sur des mesures d'hygiène de production et de conservation du lait cru (réfrigération et respect de la chaîne du froid).

IV.3.1. Les règles liées à la production du lait cru

D'après SUTRA et *al.*, en 1998 ; les mesures de prévention et de contrôle liées à la production laitière sont :

a). A la ferme :

Traitement et prévention des infections mammaires en particulier à *S. aureus* :

- ✓ Respect des mesures d'hygiène de production (locaux, animaux et personnel).
- ✓ Traitement antibiotique intramammaire de tous les animaux au tarissement (élimination et prévention des infections mammaires pendant la période de tarissement).
- ✓ Hygiène de la traite.
- ✓ Trempage des trayons dans une solution bactéricide après chaque traite.

b). A la collecte :

- ✓ Utilisation de camions à citerne réfrigérée.
- ✓ Respect des mesures d'hygiène de production (locaux, matériels, personnel et instruments en contact avec le lait cru).

c). A la distribution :

- ✓ Respect des mesures d'hygiène générale.
- ✓ Réfrigération de lait cru lors du transport, du stockage et de la vente.

d). A la Maison :

- ✓ Transport de lait cru en sac isotherme du magasin au domicile.
- ✓ Réfrigération immédiate.
- ✓ Eviter le contact du lait cru avec les autres aliments.
- ✓ Respect des règles d'hygiène : lavage des mains.
- ✓ Traitement thermique adapté du lait cru (ébullition).
- ✓ Attention aux affections respiratoires.

IV.3.2. Les règles liées à la consommation du lait cru

Selon l’OMS en 2010 ; les mesures de prévention et de contrôle liées à la consommation du lait cru sont :

a). Bien bouillir le lait :

Le lait cru est très souvent contaminé par des germes pathogènes. Ces germes sont détruits à condition que toutes les parties de l’aliment soient portées à une température d’au moins 70°C.

b). Consommer le lait immédiatement après traitement thermique :

Pour interrompre la prolifération des microbes dans le lait traité thermiquement, il faut éviter son refroidissement à la température ambiante.

c). Eviter tout contact entre le lait cru et le lait chauffé :

Car le lait traité peut être contaminé au contact avec un aliment cru.

d). Se laver fréquemment les mains :

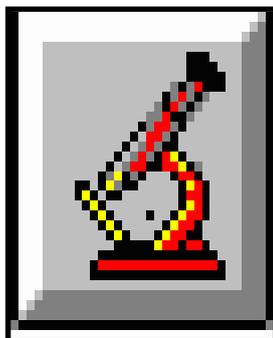
Laver vous soigneusement les mains avant de commencer à préparer le lait cru, y compris après chaque interruption.

e). Protéger le lait des insectes, des rongeurs et autres animaux :

Les animaux sont souvent porteurs de germes pathogènes. La meilleure protection consiste à conserver les aliments dans des récipients hermétiquement fermés.

f). Utiliser de l’eau potable :

L’eau potable est importante pour la préparation du lait. En cas de doute, faites bouillir l’eau.



PARTIE
EXPERIMENTALE

Introduction

La production du lait de vache se heurte souvent au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs. Les conditions d'hygiène au niveau des fermes et tout le long du circuit de la production jusqu'à l'arrivée du lait à la laiterie, comportent autant de sources de contaminations à maîtriser afin de préserver la qualité hygiénique du lait (FAYE et LOISEAU, 2000).

Afin de surveiller l'innocuité des aliments, il est impératif de déterminer la qualité bactériologique du lait cru destiné à la consommation humaine, ce qui nous a conduit à réaliser ce travail dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie).

I. Objectifs de l'étude

Les objectifs de cette étude sont :

- Evaluation de l'état hygiénique et les pratiques de traite au sein de certaines fermes laitières dans les deux régions via un questionnaire d'enquête.
- Recherche et dénombrement des bactéries responsables de la contamination et détection des inhibiteurs bactériens dans le lait cru de la ferme et des points de vente, conformément aux réglementations algériennes.
- Identification et caractérisation par la PCR des souches de *S. aureus* isolées à partir du lait cru de la ferme et des points de vente.
- Etude de l'influence des facteurs de risque sur le taux de contamination du lait cru par les cinq groupes bactériens.
- Recherche de l'antibiorésistance des souches de *S. aureus* isolées du lait cru individuel vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques.
- Etude de l'influence des facteurs de variation liés à la vache sur la contamination du lait cru individuel par les *S. aureus*.
- Etude de l'impact de la consommation du lait cru sur la santé des consommateurs.
- Proposer des mesures correctives nécessaires pour améliorer la qualité hygiénique du lait cru.

II. Présentation des régions de l'étude

II.1. Blida

La région Blida est située dans le nord de l'Algérie, au sud de la capitale. Elle est limitée au nord par la wilaya de Tipaza et Alger, au sud par la wilaya de Médéa, à l'ouest par la wilaya d'Ain Defla et à l'est par la wilaya de Boumerdes et Bouira.

C'est une région à vocation agricole, elle occupe la majeure partie de la plaine de la Mitidja avec 66.643 ha de terres irrigables et surtout d'un climat favorable à l'agriculture (entre 15° en hiver et 33° en été). Avec une superficie de 1.478,68 Km².

Le climat est typiquement méditerranéen, hiver doux et humide (15 °C), été chaud et humide (33 °C).

La région de Blida comprend un effectif bovin total de 21137 têtes, ovin de 3100 tête et caprin de 700 tête. La production végétale est moins importante. Ce sont les cultures fourragères et les céréales qui dominent (AGENCE NATIONALE DE DEVELOPPEMENT DE L'INVESTISSEMENT, 2015).

II.2. Jijel

La région de Jijel est située dans le nord-est du pays à la longitude de 54,70° est et à latitude de 36,50° nord. Elle est limitée au Nord par la mer Méditerranée à l'Est par la Wilaya de Béjaïa, à l'Ouest par la Wilaya de Skikda, au Sud-Est la wilaya de Sétif, au Sud par la Wilaya de Mila et enfin au Sud-Ouest par la Wilaya de Constantine.

Cette région couvre une superficie de 239869 Ha repartit sur 28 communes. Elle se caractérise par un relief montagneux : plus de 80 % de sa superficie est formée de montagnes. On distingue deux zones :

- ✓ Au nord une bande montagneuse orientée est-ouest entrecoupée par des oueds.
- ✓ Au sud dans l'arrière pays une région de collines qui est souvent sujette à l'érosion.

Le climat de la cette région est typiquement méditerranéen, été chaud et humide, hiver doux et humide (500 à 1200 mm de pluie par an). Les températures moyennes 28 °C en août et 10 °C en janvier.

La région de Jijel comprend un effectif bovin total de 24576 têtes, ovin de 14000 tête et caprin de 3000 tête. La production végétale est très importante. C'est une production montagneuse qui domine (AGENCE NATIONALE DE DEVELOPPEMENT DE L'INVESTISSEMENT, 2015).

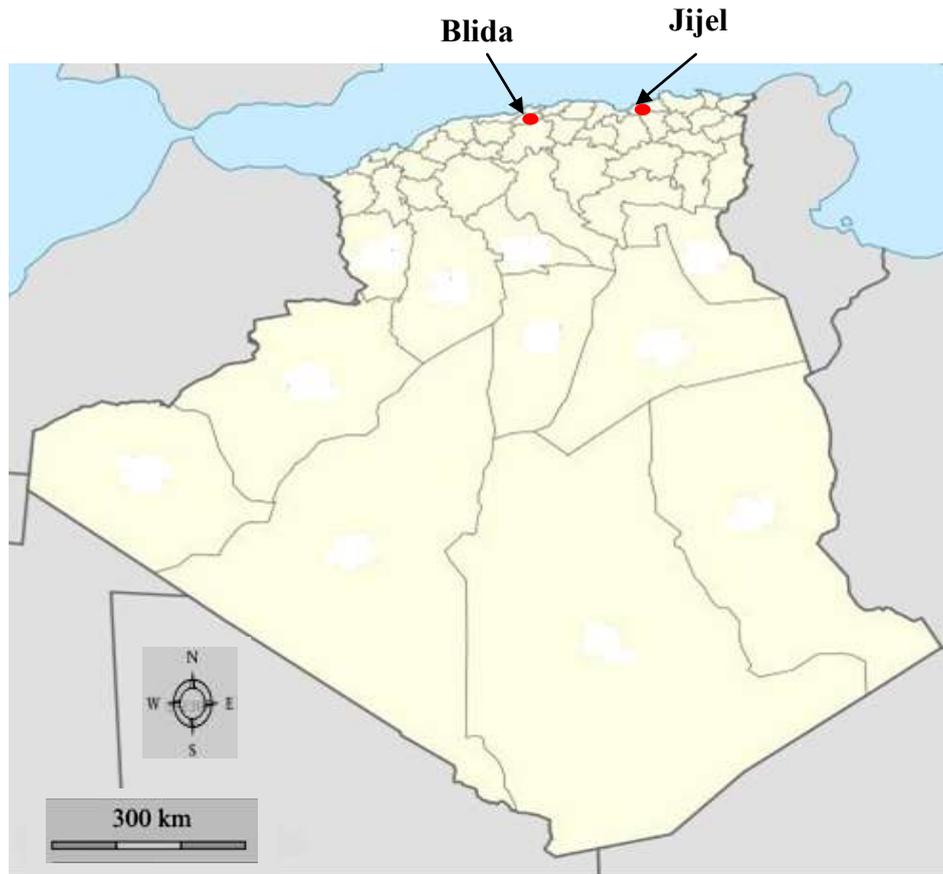


Figure 13: Répartition des régions de l'étude sur la carte géographique de l'Algérie (ANONYME 3, 2015).

III. Matériel et méthodes

III.1. Choix des exploitations

Les exploitations laitières, ont été choisies pour leurs caractéristiques différentes :

- La race : il faut que chaque troupeau doit composer à la fois de races locales et améliorées.
- Stade de lactation : il faut que dans chaque troupeau existe les trois stades de lactation (début, pic et fin de lactation).
- La taille de troupeaux : au moins cinq vaches locale et améliorées par troupeau.
- Numéro de lactation : au moins une lactation par vache et par jour.
- La gestion de la traite : doit être mécanique et pas manuelle.
- Les traitements lors des mammites : tous les troupeaux reçoivent des traitements par les antibiotiques et les anti-inflammatoires.

- L'âge et la forme des trayons : nous avons choisie les troupeaux qui composés de trois types d'âge (jeunes, moyennes et les âgées) et possèdent les deux formes des trayons (cylindrique et entonnoir).

Cinquante trois élevages ont été sélectionnés dans les deux régions. Nous avons assisté plusieurs fois à la traite dans chacun des élevages afin de nous rendre compte des conditions des pratiques de traite.

Les prélèvements ont été réalisés sur des animaux présentant ou non des mammites (subcliniques ou cliniques) avec ou sans répercussion sur l'état général. Les vaches concernées par notre étude sont de race locale et améliorée.

III.2. Période de l'étude

L'étude s'est effectuée durant la période allant de Mai 2010 à Juin 2015 :

- De Mai 2010 à Décembre 2013 : analyses bactériologique des échantillons du lait cru et ceux qui ont été prélevés pour l'étude de l'influences des facteurs de risque sur le taux de contamination. En parallèle, une enquête a été réalisée dans les fermes ciblées afin de récolter les informations nécessaires sur les vaches prélevées. Toutes les souches de staphylocoques à coagulase positives (SCP) ont été conservées dans la gélose de transport et envoyées au laboratoire d'immunologie à l'ENV de Toulouse.
- De Décembre 2013 à Juin 2014 : analyse bactériologiques des prélèvements du lait cru issus de huit points de vente dans les deux régions et conservation des souches de SCP dans la gélose de transport puis elles ont été envoyées au laboratoire d'immunologie à l'ENV de Toulouse. En outre, une enquête a été réalisée sur le mode de consommation du lait cru.
Toutes les souches de SCP isolées ont été confirmées par PCR (recherche de gène nuc) et la recherche de l'antibioresistance.
- Juin 2014 à Juin 2015 : préparation de la publication rédaction de la thèse.

Le travail s'est effectué dans quatre laboratoires suivants :

- Laboratoire de contrôle de qualité et d'emballage (CACQE) à Jijel.
- Laboratoire d'analyse vétérinaire, contrôle de la qualité, la conformité et de la recherche appliquée (AVCQ-LAB) à Baraki d'Alger.
- Laboratoire de microbiologie de l'université de Djelfa.
- Laboratoire d'immunologie de l'Unité Mixte de Recherche INRA/INPT- ENVT, Interactions Hôtes-Agents Pathogènes (IHAP) (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

III.3. Enquête épidémiologique et collecte de données sur les vaches prélevées

Afin de standardiser les renseignements fournis dans chaque exploitation laitière, une enquête et un suivi de la conduite de la traite ont été réalisés pendant le jour de prélèvement. La fiche d'enquête sous forme de questionnaires renseignant sur les vaches prélevées, les systèmes de production du lait et l'hygiène de la traite (annexe 1).

III.4. Echantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé selon les règles des bonnes pratiques d'échantillonnages dans cinquante trois fermes et huit points de vente dans les deux régions.

Le matériel et réactifs habituels d'échantillonnage ont été utilisés : les flacons (pots) stériles en matière plastique, coton hydrophile et papier absorbant, eau oxygénée, alcool 70°, gants stériles, glacière, savon + eau, écouvillons stériles, TSE et solutions neutralisantes (Tween 80 (30 g/l) et Lécithine (3 g/l)).

Trois types d'échantillonnages ont été réalisés :

- Lait crû : lait individuel (ou lait de pis), lait du chariot trayeur, lait des cuves de stockage à la ferme et le lait cru des points de vente.
- L'eau utilisée pour la traite et de l'eau de rinçage des ustensiles.
- Ecouvillonnage : de la main du trayeur, des gobelets trayeurs et de la peau des mamelles.

Le tableau XII résume le nombre des échantillons réalisés en fonction de site de prélèvement.

Tableau XII : Répartition des échantillons en fonction des sites de prélèvements.

Type de l'échantillon	Nombre d'échantillon
Lait individuel (lait de pis)	360
Lait du chariot trayeur	53
Lait des cuves de stockage	53
Lait des points de vente	192
Eau de la traite	53
Eau de rinçage des ustensiles	53
Environnement de la traite	53
Ecouvillons des mamelles	360
Ecouvillons des manchons trayeurs	53
Ecouvillons des mains des trayeurs	53
Total	1283

III.4.1. Mode de prélèvement des échantillons

III.4.1.1. Au niveau de la ferme

III.4.1.1.1. Lait cru individuel

Le lait a été prélevé aseptiquement par nous mêmes selon la méthode décrite par MIALOT (1983). Le prélèvement s'est déroulé de la façon suivante :

- Après préparation des mains et de la mamelle par nous même (lavage et désinfection par l'alcool à 70°), le flacon stérile à prélèvement est saisi entre le pouce et les doigts de la main gauche puis retourné et son ouverture doit être dirigée vers le sol afin d'éviter toute contamination.
- Après élimination des premiers jets de lait, 100 ml de lait cru individuel ont été prélevé en mélangeant le lait de tous les quartiers dans un même flacon puis refermer le pot avant d'être totalement redressé.
- Les flacons sont identifiés (la date de prélèvement et le numéro de la vache) puis acheminés dans une glacière (contenant des blocs réfrigérants congelés) vers le laboratoire d'analyse.

III.4.1.1.2. Lait cru de mélange

Cent millilitres du lait cru ont été prélevés (après mélange) dans des flacons à cape rouge stériles et préalablement étiquetés et identifiés. Les flacons sont immédiatement acheminés dans une glacière (contenant des blocs réfrigérants congelés) au laboratoire d'analyse.

III.4.1.1.3. Eau de rinçage des ustensiles et de la traite

Cent millilitres d'eau ont été prélevés (on peut tremper le flacon dans l'eau) et dirigés directement au laboratoire dans une glacière sous régime de froid.

III.4.1.1.4. Environnement de la traite

Un flacon contenant de l'eau stérile (100 ml) est exposé pendant 30 minutes (échantillon de l'environnement). Il est ensuite envoyé immédiatement vers le laboratoire d'analyse dans une glacière sous le régime de froid (KOUAMÉ *et al.*, 2010).

III.4.1.1.5. Ecouvillonnage des mains des trayeurs, des manchons trayeurs et des mamelles

Les écouvillons se présentent sous forme de cotons-tiges stériles dans des étuis en matière plastiques.

Le principe de cette technique est le suivant :

- A l'aide de gants stériles, retirer l'écouvillon de l'étui et l'humidifier dans un millilitre de la solution d'eau peptonée stérile à 0,1 % (TSE). 3 g/l de lécithine et 30 g/l de Tween 80 ont été ajoutés comme solution neutralisante.
- Frotter vigoureusement la surface choisie en effectuant des mouvements verticaux, horizontaux et diagonaux en veillant à ce que toute la surface de l'écouvillon soit imprégnée. Répéter l'opération avec l'autre face de l'écouvillon. L'angle de prélèvement est de 45°, une pression constante a été appliquée pendant la totalité du prélèvement.
- Replacer l'écouvillon dans l'étui en évitant qu'il ne frotte sur les parois et identifier l'étui avec la date et le type de la surface. Tous les échantillons sont ensuite transportés sous régime du froid dans une glacière jusqu'au laboratoire où nous avons réalisé les analyses bactériologiques (KOUAMÉ *et al.*, 2010).

III.4.1.2. Au niveau de point de vente

Des prélèvements de lait cru ont été effectués chaque semaine pendant 24 semaines (de décembre 2013 à juin 2014) dans huit points de vente, situés dans les deux régions différentes (quatre points de vente dans la région de Blida et quatre dans la région de Jijel).

Les échantillons (100 ml), conditionnés dans des flacons stériles étanches en matière plastique, ont été identifiés par étiquette et directement placés dans une glacière contenant des blocs réfrigérants congelés. Ces échantillons ont été acheminés directement vers les laboratoires d'analyses. Une fois au laboratoire, les échantillons ont été immédiatement

analysés. Le délai maximal entre le prélèvement et l'analyse des échantillons a été d'une heure pour tous les échantillons.

Tous les prélèvements ont été effectués dans un délai constant de trois heures et demie après l'arrivée du lait aux différents points de vente.

En parallèle, la température du lait au moment du prélèvement au point de vente était enregistrée. La mesure était effectuée au moyen d'un thermomètre à usage alimentaire muni d'une sonde en Inox de 22,5 cm de longueur permettant de mesurer la température à cœur allante de -50°C à 300°C (fig. 14).



Figure 14 : Thermomètre à usage alimentaire utilisé dans l'étude.

III.5. Analyses bactériologiques

Le matériel courant de laboratoire a été utilisé (annexe 2).

III.5.1. Préparation des dilutions décimales

A partir du prélèvement du lait bien homogénéisé par agitation, considéré comme étant la solution mère (SM), des dilutions sériées ont été réalisées (INTERNATIONAL STANDARD ORGANISATION, 1999). La technique est la suivante :

- On mélange dans un tube à essai 1ml de l'échantillon avec 9 ml de solution de tryptone sel (TSE) (Institut Pasteur, Algérie). Après homogénéisation, on laisse au repos pendant dix minutes pour la revivification des bactéries. Cette dilution constitue 10^{-1} .
- Après agitation de la dilution 10^{-1} , prélever 1 ml et l'introduire dans un tube à essai contenant 9 ml de TSE, c'est la dilution 10^{-2} .

- Après agitation de la dilution 10^{-2} , prélever 1ml et l'introduire dans un tube à essai contenant 9 ml de TSE, c'est la dilution 10^{-3} .
- Ainsi de suite en changeant à chaque fois de pipette pour ne pas perturber de dilutions.

III.5.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination

Pour chaque échantillon, cinq groupes de bactéries ont été étudiés : la flore mésophile aérobie totale à 30 °C, les entérocoques, les coliformes thermotolérants, les *S. aureus* et les *Clostridium* sulfito-réducteurs à 46 °C.

Le dénombrement de ces bactéries a été effectué suivant des normes internationales disponibles.

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) a été dénombrée sur gélose PCA (Plate Count Agar) (Institut Pasteur, Algérie), incubée à 30°C pendant 48 h-72 h (NORME ISO4833 2003(F), 2003).

Les *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ont été dénombrés sur la gélose de Baird Parker (Institut Pasteur, Algérie) additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium et incubée 48 h à 37 °C. La confirmation a été réalisée par la coloration de Gram, la recherche de la catalase et de la coagulase ainsi que le gène *nuc* (NORME F V08-057-01, 1994).

Les coliformes thermotolérants (CT) ont été dénombrés sur gélose biliée lactosée au rouge neutre et cristal violet (VRBL) (Institut Pasteur, Algérie), incubée 24 h à 44 °C. Toutes les colonies rouges (lactose +) d'un diamètre de 0,5 mm minimum apparues sont considérées comme étant des coliformes thermotolérants (NORME F V08-060, 1996).

Les entérocoques (EC) ont été dénombrés selon la méthode du nombre le plus probable en milieu de Rothe (Institut Pasteur, Algérie) après incubation 48 h à 37 °C. Les contenus des tubes positifs, c'est-à-dire présentant un trouble, ont ensuite été ensemencés sur milieu BEA (Bile Esculine Azide) utilisé pour la confirmation et soumis à une incubation à 37 °C pendant 24 h et 48 h. Les colonies d'entérocoques sont petites, translucides et entourées d'un halo noir (esculine positive) (MAURY, 1987).

Pour les spores de *Clostridium* sulfitoréducteurs à 46 °C (CSR), le lait placé dans des tubes a été préalablement chauffé 10 minutes à 80 °C puis refroidi rapidement afin d'activer les spores des clostridies et de détruire les germes sous forme végétative. Ensuite, elles ont été dénombrées sur le milieu de culture Tryptose-Sulfite à la Cyclosérine (TSC) (Institut Pasteur,

Algérie). Après incubation à 46 °C pendant 20 ± 2 h, seules les colonies caractéristiques entourées d'un halo noir ont été comptées (NORME F V08–061, 2009).

L'interprétation des résultats été réalisée en fonction de l'Arrêté interministériel n° 35-1998 du 24 janvier 1998, relative aux spécifications microbiologiques de lait cru. Le nombre maximal accepté pour les bactéries dénombrées dans le lait cru sont : 10⁵ ufc/ml pour les FTAM, 10³ ufc/ml pour les CT, 50 ufc/ml pour les CSR et l'absence du germe dans 0,1 ml pour les *S. aureus* et EC (ARRETE INTERMINISTERIEL, 1998).

III.6. Confirmation et identification des souches de *S. aureus*

Au total, cent trente huit souches de staphylocoque à coagulase positive (SCP) isolées à partir du lait cru de la ferme (lait de pis, lait de chariot trayeur et lait des cuves de stockage) et des points de vente ont été conservées dans la gélose et transportées vers le laboratoire d'immunologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (France) pour les identifiées et les caractérisées génotypiquement, d'une part, et d'étudier la sensibilité des isolats de *S. aureus* (SCP positive pour le gène *nuc*) issus de lait cru individuel aux antibiotiques, d'autre part.

III.6.1. Caractérisation génomique des isolats

III.6.1.1. Extraction de l'ADN

Pour chaque échantillon, une partie de colonie a étéensemencée de manière aseptique sur 4 ml du bouillon TSB (Tryptone Soya Broth), puis incubée à 37 ° C pendant 24 à 48 heures. Après agitation, 1ml du contenu des tubes est transféré dans des tubes éppendorf de 2 ml. Ces derniers sont centrifugés à 80000 tours pendant 15 minutes et des cellules bactériennes ont été précipitées. Les surnagants ont été éliminés et les précipités maintenus.

Le montant de 1 ml de la solution DPBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) a été ajouté aux précipité, puis centrifugé à 80000 tours pendant 15 minutes, on verse le surnageant et on laisse le culot. Cette étape est répétée deux fois. Par la suite, 250 microlitre de lysis buffer (50 Mm Tris-Hcl, 100 Mm EDTA, 1 % SDS, pH 8) ont été ajouté dans chaque tube et après incubation à 37 °C pendant 1 à 2 heures, 500 microlitres de tampon PK ont été additionné dans chaque tube puis incubé à 37 °C pendant 1 à 2 heures.

Après congélation à -20 °C, 750 microlitres de phénol ont été ajouté dans chaque tube suivie d'une centrifugation à 13500 tours pendant 10 minutes, puis 500 microlitres de surnageant a

été transféré vers un nouvel tube éppendorf stérile, ensuite 500 microlitres de chloroforme et butanol a été additionné pour chaque tube et centrifugé à 13500 tours pendant 10 minutes.

Après le transfert de 500 microlitres de surnagent vers un autre tube éppendorf stérile, les volumes de 50 microlitres de NaCl (5M) (pour la précipitation d'ADN) et 1 ml d'éthanol (95 %) ont été ajoutés. Le tout est congelé à -20 °C pendant 3 heures à une nuit.

Après décongélation des tubes éppendorf, une centrifugation à 13500 tours pendant 10 minutes a été réalisée. Le surnageant a été éliminé et le précipité, qui contient de l'ADN a été dilué par l'addition de 50 microlitres de tampon TE dans chaque tube suivie d'une congélation à -20 °C pendant 3 heures à une nuit.

La pureté et la concentration (ng/μl) de l'ADN ont été mesurées au spectrophotomètre. Les échantillons d'ADN purs obtenus ont été dilués avec de l'eau pour biologie moléculaire, afin d'obtenir une concentration adéquate.

III.6.1.2. Identification et confirmation des isolats de *S. aureus* par la PCR

Les souches de staphylocoques à coagulase positive ont été criblées par PCR pour la présence du gène *nuc*, qui code pour thermonucléase et est spécifique pour *S. aureus*.

Le gène *nuc* a été amplifié à l'aide d'amorce oligo-nucléotidique spécifique permettant d'amplifier des séquences bien conservées de ce gène. Les amorces utilisées pour l'amplification de ce dernier sont indiquées dans le tableau XIII.

La réaction a été réalisée dans un mélange réactionnel de 50 μl contenant les réactifs suivants : 10 μl d'ADN, 1 μl de chaque amorce 20 Mm (Eurogentec), 1 μl dNTP Mix (Thermo Fisher Scientific, ABgene House, Blenheim Road), 5 μl 10X ThermoPol tampon (New England Biolabs Inc R), 0,12 μl d'ADN polymerase Taq 1U (New England Biolabs Inc R) et 31,88 μl d'eau stérile milliQ.

Les tubes à PCR sont placés par la suite dans le thermocycleur (ep AG-22331, Halburg-Germany) et le programme d'amplification mis en œuvre est le suivant : 95 °C pendant 15 minutes suivi de 35 cycles, y compris 94 °C pendant 1 min, 60 °C pendant 1 min, 72 °C pendant 1 min, avec une extension finale de 10 minutes à 72 °C.

Les fragments d'ADN amplifiés sont séparés ensuite par électrophorèse sur plaque de 96 puits agarose (E-Gel® 96 avec SYBR® Safe), visualisés et photographiés. Les fragments d'ADN supposés positifs ont été confirmés ensuite par électrophorèse sur gel d'agarose à 1 %.

Tableau XIII : Les amorces utilisées dans la présente étude (FOURNIER et *al.*, 2008).

Gène	Amorce	Séquences des amorces (5'- 3')	Taille (pb)
<i>nuc</i> (PCR)	nuc-S nuc-AS	CTGGCATATGTATGGCAATTGTT TATTGACCTGAATCAGCGTTGTCT	664

III.6.2. Recherche de la résistance des *S. aureus* isolés à partir du lait cru individuel aux antibiotiques

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur gélose Muller-Hinton, suivant les normes prescrites dans le manuscrit de la standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire et humaine. La technique utilisée est la suivante :

a. Milieu : La gélose Muller-Hinton est liquéfiée, coulée dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm et séchée avant l'utilisation.

b. Inoculum : On prépare une suspension bactérienne en mettant des colonies prélevées à partir d'une culture pure et jeune de 18 h dans de l'eau physiologique stérile 0,9 %. La valeur de la densité optique de cette suspension doit être comprise entre 0,08 et 0,1 à 625 nm (0.5 Mc Farland). La densité de l'inoculum, peut être ajustée en ajoutant de l'eau physiologique dans le cas où elle est trop élevée ou bien de la culture bactérienne dans le cas inverse.

c. Ensemencement : On fait tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, puis après essorage (pour le décharger au maximum), on le frotte sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération de frottement doit être répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier, de pivoter l'écouvillon sur lui-même et de le faire passer sur la périphérie de la gélose.

d. Application des disques d'antibiotiques : A l'aide d'une pince stérile, les disques d'antibiotiques (Liofichen, Roseto degli Abruzzi, Italie), dont le diamètre est équivalent à 6 mm ont été déposés sur la surface de la gélose. Chacun d'entre eux est pressé à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 h.

La liste des antibiotiques suivants ont été testés : vancomycine (30 µg), pénicilline (10 µg), oxacilline (1 µg), céfoxitine (30 µg), érythromycine (15 µg), triméthoprim+ sulfaméthoxazole (1,25 µg/23,75 µg), enrofloxacin (5µg), tétracycline (30 µg) et amoxicilline (25 µg).

e. Lecture : Nous avons mesuré les diamètres des auréoles (zones d'inhibition de croissance de la souche microbienne) avec un pied à coulisse numérique, les zones mesurées correspondent à une sensibilité de la souche aux antibiotiques.

Les souches pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur au seuil de résistance sont considérées comme résistantes (annexe 5).

Les souches pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur au seuil de sensibilité sont considérées comme sensibles (annexe 5).

Les souches pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre le seuil de résistance et le seuil de sensibilité sont considérées comme intermédiaires (annexe 5).

III.7. Détection des inhibiteurs bactériens dans le lait

Les inhibiteurs bactériens ont été recherchés en utilisant le DelvoTest® SP-NT (DSM Food Specialties B.V., Delft, Pays-Bas). Un échantillon de lait (100 microlitres) est placé dans une ampoule contenant un milieu géloséensemencé par *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* et enrichi en éléments nutritifs de croissance (fig. 15). Les ampoules sont mises à incuber pendant 3 h à $64\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ dans un bain-marie. L'interprétation finale des résultats a été réalisée à l'œil nu selon le changement de couleur : si l'échantillon vire nettement du violet au jaune, cela signifie que l'échantillon ne contient pas des inhibiteurs bactériens. En présence des inhibiteurs bactériens, une couleur violette est observée.



Figure 15 : Matériel utilisé pour le DelvoTest® SP-NT.

III.8. Enquête sur le mode de consommation du lait

Un questionnaire a été créé afin d'identifier des consommateurs de lait cru et de suivre leur santé sur une période d'étude de six mois.

La participation à l'enquête était sur une base volontaire. Les personnes ont été sollicitées lors des échantillonnages dans les points de vente.

La première partie des informations récoltées consistait en des informations relatives aux données personnelles et des données de contact. La quantité de lait achetée le jour de

l'enquête était aussi répertoriée. Il leur était également demandé ce qu'ils faisaient du lait avant la consommation.

Ces personnes ont ensuite été recontactées périodiquement et des questions relatives à leur état de santé ont été posées notamment la présence des symptômes après la consommation du lait. Des informations quant à la quantité de lait consommée ont été également obtenues en précisant si le lait en question avait préalablement subi un traitement et si les symptômes ont nécessité une hospitalisation. Le cas échéant, il a été demandé si des analyses bactériologiques ont été réalisées, avec quels résultats.

III.9. Analyses statistiques

La moyenne et l'écart type des nombres de bactéries, exprimées en unités formant colonies (ufc) par ml, ont été calculés pour chaque type de flore et chaque échantillon.

Une analyse factorielle de la variance a été utilisée pour comparer les résultats du dénombrement des bactéries entre les deux régions et à travers les différents stades de la chaîne de production lactée. Le test de Student nous permet de comparer le nombre moyen des colonies bactériennes avec le seuil d'acceptabilité pour chaque type de bactérie.

Le coefficient de corrélation (r) a été calculé à partir des dénombrements bactériens, pour estimer, d'une part, le lien entre les différentes flores bactériennes et, d'autre part, entre ces flores et la température de stockage des échantillons. Un lien est considéré comme significatif au seuil de 5%.

Le test du χ^2 de Pearson a été utilisé pour tester la relation entre les points de production du lait à la ferme avec les indicateurs bactériens et la présence des inhibiteurs bactériens. Ce test a été utilisé également pour l'étude de l'impact de la consommation du lait qui subi un traitement thermique ou non sur la santé des consommateurs.

Afin de faire une comparaison entre les facteurs de variations sur la contamination du lait cru individuel par les *S. aureus*, nous avons appliqué le test d'indépendance au seuil de 5 %.

Tous les calculs ont été effectués avec le logiciel STATISTICA version 2007, après transformation logarithmique décimale des résultats exprimés en ufc/ml pour normaliser la distribution.

IV. Résultats

IV.1. Résultats d'enquête sur les vaches prélevées

IV.1.1. Caractéristiques des troupeaux

Les vaches étudiées dans les deux régions comptent 360 têtes. Elles sont constituées de races locales et améliorées importées de l'Europe. Ces animaux s'adaptent en général facilement aux conditions du milieu. Elles sont regroupées en 53 fermes. Chaque troupeau regroupe à la fois des vaches locales et/ou améliorées (tableau XIV et fig. 16).

Les animaux sont vaccinés contre la fièvre aphteuse, le charbon et le botulisme. Ces animaux ne sont traités contre les mammites qu'en cas de signes cliniques et de même que pour le déparasitage.

Les animaux sont nourris en fonction de leur âge, de leur sexe et de leur état physiologique. Ainsi, les veaux sont nourris au lait jusqu'au sevrage (100 % des fermes) et l'alimentation des adultes est constituée de pâturages d'une part, puis de d'ensilage, de paille et de concentré d'autre part (100 % des fermes). Le manque de pâturage en milieu urbain oblige les éleveurs à aller de plus en plus loin à la recherche de pâturage. On a aussi des complexes minéraux vitaminés (CMV), donnés sous forme de pierre à lécher (100 % des fermes).

Concernant les conditions de stockage des aliments des vaches dans 98 % des fermes, ces aliments sont accessibles aux rongeurs, aux oiseaux, aux insectes et ...etc.

L'eau est distribuée aux animaux à volonté et provient des conduites principales qui alimentent les réservoirs de chaque bâtiment.

Tableau XIV : Répartition de vaches étudiées selon les deux régions.

Régions	Vaches locales		Vaches améliorées		Total n (%)
	Nombre	%	Nombre	%	
Blida	23	6,4	168	46,7	191 (53,1 %)
Jijel	59	16,4	110	30,5	169 (46,9 %)
Total	82	22,8	278	77,2	360 (100%)

n : nombre.

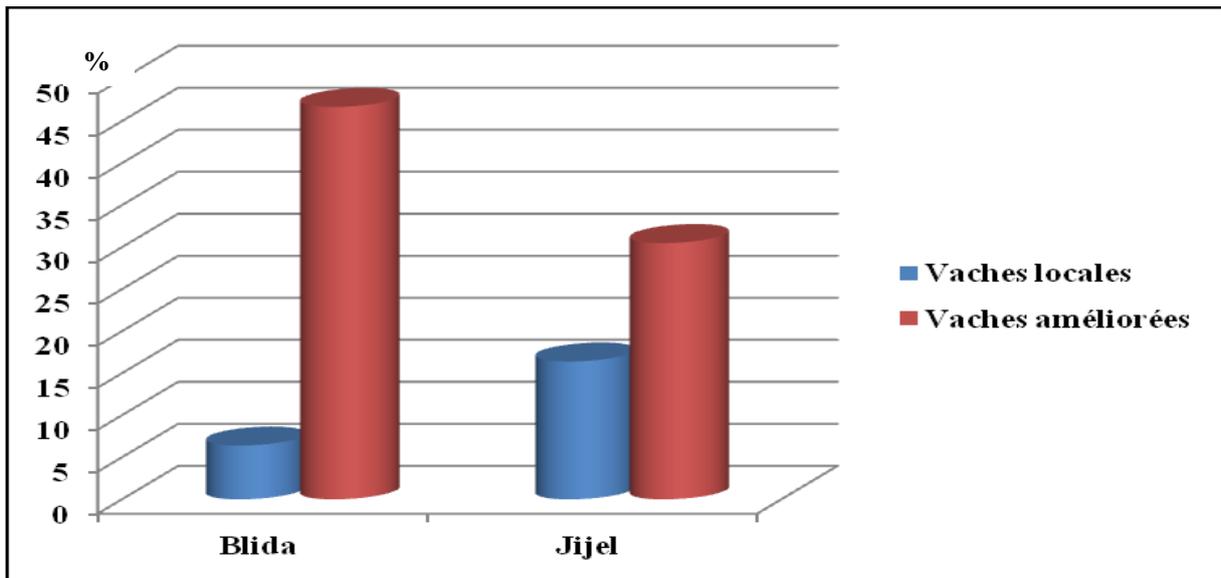


Figure 16 : Répartition de vaches étudiées selon les régions d'étude.

IV.1.2. Caractéristiques de la production laitière

La moyenne de production de lait par vache est de 5,8 litres/j (min : 3 litre ; max : 18 litres) à Blida contre 3,4 litres/j (min : 2 litres ; max : 16 litres) à Jijel (tableau XV). Le lait produit dans les fermes est destiné à la vente et/ou à la consommation familiale. Après chaque traite, le lait est acheté sur place par des vendeurs ou des collecteurs qui l'acheminent vers les marchés ou les laiteries.

Tableau XV : Répartition de la production moyenne de lait cru par jour et par vache dans les deux régions.

Région	Nombre de vaches	Production moyenne de lait/vache (litres)
Blida	191	5,8
Jijel	169	3,4

IV.1.3. Description des pratiques de traite des vaches

Les résultats de l'enquête réalisée sur les pratiques de traite sont présentés dans le tableau XVI.

- Dans la quasi-totalité des exploitations (86,8 %), la machine à traire était nettoyé avec de l'eau seulement.
- Très peu de trayeurs se lavaient les mains (17,0 %).
- Dans 83,0 % des exploitations, les mamelles et les trayons des vaches étaient lavées avant la traite avec une lavette collective utilisée pour toutes les vaches.
- L'essuyage des trayons est délaissé par 88,7 % des éleveurs.
- Seuls 26,4 % des éleveurs ont pratiqué le trempage des trayons dans une solution désinfectante et l'élimination des premiers jets sur le sol, contre 73,6 % qui n'ont pas pratiqué ces deux opérations.

Tableau XVI : Caractéristiques des pratiques de traite des vaches dans 53 exploitations laitières ayant participé à l'étude.

Variables		Effectif	%	IC (95 %)
Nettoyage de machine à traire	Eau seulement	46	86,8	[77,7 ; 95,9]
	Eau + produit nettoyant	7	13,2	[4,1 ; 22,3]
Lavage des mains des trayeurs	Pratiquée	9	17,0	[6,9 ; 27,1]
	Absente	44	83,0	[72,9 ; 93,1]
Lavage des mamelles et des trayons avant la traite	Absence	9	17,0	[6,9 ; 27,1]
	Lavage collectif	44	83,0	[72,9 ; 93,1]
Essuyage des trayons	Pratiquée	6	11,3	[2,8 ; 19,9]
	Absente	47	88,7	[80,2 ; 97,2]
Désinfectons des trayons	Pratiquée	14	26,4	[14,6 ; 38,3]
	Absente	39	73,6	[61,7 ; 85,5]
Elimination des 1 ^{ers} jets	Sans	39	73,6	[61,7 ; 85,5]
	Pratiquée sur le sol	14	26,4	[14,6 ; 38,3]

IC 95% : Intervalle de confiance à 95 %.

IV.2. Résultats des analyses bactériologiques

Les résultats détaillés de la recherche et de dénombrement bactérien sont mentionnés dans l'annexe 3.

IV.2.1. Lait cru de la ferme

IV.2.1.1. Résultats du dénombrement bactérien et qualité bactériologique globale du lait cru tout au long de la chaîne de production laitière

Les résultats du dénombrement bactérien obtenus sont consignés dans le tableau XVII.

Les laits crus de ferme examinés contiennent une charge moyenne variable en FMAT, située entre $1,1 \cdot 10^6$ et $6,5 \cdot 10^8$ ufc/ml, avec une moyenne générale de $7,7 \cdot 10^7$ ufc/ml.

Le dénombrement des coliformes thermotolérants présentent des valeurs moyennes qui varient de $2,2 \cdot 10^3$ à $3,7 \cdot 10^6$ ufc/ml, avec $4,3 \cdot 10^5$ ufc/ml comme valeur moyenne.

Le taux des entérocoques varie de $3,1 \cdot 10^2$ à $4,1 \cdot 10^5$ ufc/ml, avec une valeur moyenne de $4,7 \cdot 10^4$ ufc/ml.

Les *S. aureus* ont été mis en évidence dans 16,1 % des échantillons de lait individuel, 22,6 % des échantillons de lait de chariot trayeur et 58,5 % des échantillons de lait des cuves de stockage. On note un minimum de $7,9 \cdot 10^3$ ufc/ml et un maximum de $2,6 \cdot 10^4$ ufc/ml. La moyenne de ces bactéries est de $1,1 \cdot 10^4$ ufc/ml pour 21,7 % des échantillons de lait contaminé.

La charge moyenne en *Clostridium* sulfitoréducteurs est de $5,1 \cdot 10^0$ ufc/ml, avec des fluctuations allant de $4,4 \cdot 10^0$ à $8,4 \cdot 10^0$ ufc/ml.

La charge bactérienne dans les échantillons du lait cru prélevés augmentait progressivement pour toutes les bactéries en question au cours de la chaîne de production (fig. 17).

Il y avait une différence significative de la présence de contaminants bactériens dans le lait ($P < 0,05$) à travers les différents points de prélèvements à la ferme (du pis de vache à la cuve de stockage).

Quelle que soit l'origine du lait cru, la concentration moyenne de chaque groupe bactérien est significativement supérieure au seuil d'acceptabilité (critère légal fixé par la norme) sauf pour les *Clostridium*s sulfito-réducteurs.

Tableau XVII : Taux de contaminations des échantillons de lait cru analysés par les cinq indicateurs bactériens tout au long de la chaîne de production laitière dans la ferme.

Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT)				
Laits crus	Np/Nt		Moyenne (ufc/ml)	NE>CR
L. individuel	360/360		1,1 10 ⁶	359 (99,7 %)
L. chariot trayeur	53/53		2,1 10 ⁷	53 (100 %)
L. des cuves	53/53		6,5 10 ⁸	53 (100 %)
Total	466/466		7,7 10 ⁷	465 (99,8 %)
Entérocoques (EC)				
Laits crus	Np/Nt	Fréquence (%)	Moyenne (ufc/ml)	NE>CR
L. individuel	85/360	23,6	3,1 10 ²	85 (23,6 %)
L. chariot trayeur	14/53	26,4	1,2 10 ³	14 (26,4 %)
L. des cuves	34/53	64,2	4,1 10 ⁵	34 (64,2 %)
Total	133/466	28,5	4,7 10 ⁴	133 (28,5 %)
Coliformes thermotolérants (CT)				
Laits crus	Np/Nt	Fréquence (%)	Moyenne (ufc/ml)	NE>CR
L. individuel	118/360	32,8	2,2 10 ³	115 (31,9 %)
L. chariot trayeur	22/53	41,5	1,3 10 ⁴	22 (41,5 %)
L. des cuves	40/53	75,5	3,7 10 ⁶	40 (75,5 %)
Total	180/466	38,6	4,3 10 ⁵	177 (37,9 %)
Staphylocoques aureus (S. aureus)				
Laits crus	Np/Nt	Fréquence (%)	Moyenne (ufc/ml)	NE>CR
L. individuel	58/360	16,1	7,9 10 ³	58 (16,1 %)
L. chariot trayeur	12/53	22,6	9,8 10 ³	12 (22,6 %)
L. des cuves	31/53	58,5	2,6 10 ⁴	31 (58,5 %)
Total	101/466	21,7	1,1 10 ⁴	101 (21,7 %)
Clostridium sulfito-réducteurs (CSR)				
Laits crus	Np/Nt	Fréquence (%)	Moyenne (ufc/ml)	NE>CR
L. individuel	12/360	3,3	4,4 10 ⁰	9 (2,5 %)
L. chariot trayeur	2/53	3,8	6,1 10 ⁰	2 (3,8 %)
L. des cuves	3/53	5,7	8,4 10 ⁰	3 (5,7 %)
Total	17/466	3,6	5,1 10 ⁰	14 (3,0 %)

Np : Nombre des échantillons positifs, *Nt* : Nombre des échantillons testés, *NE>CR* : Nombre des échantillons qui présentent une charge supérieure au critère légal.

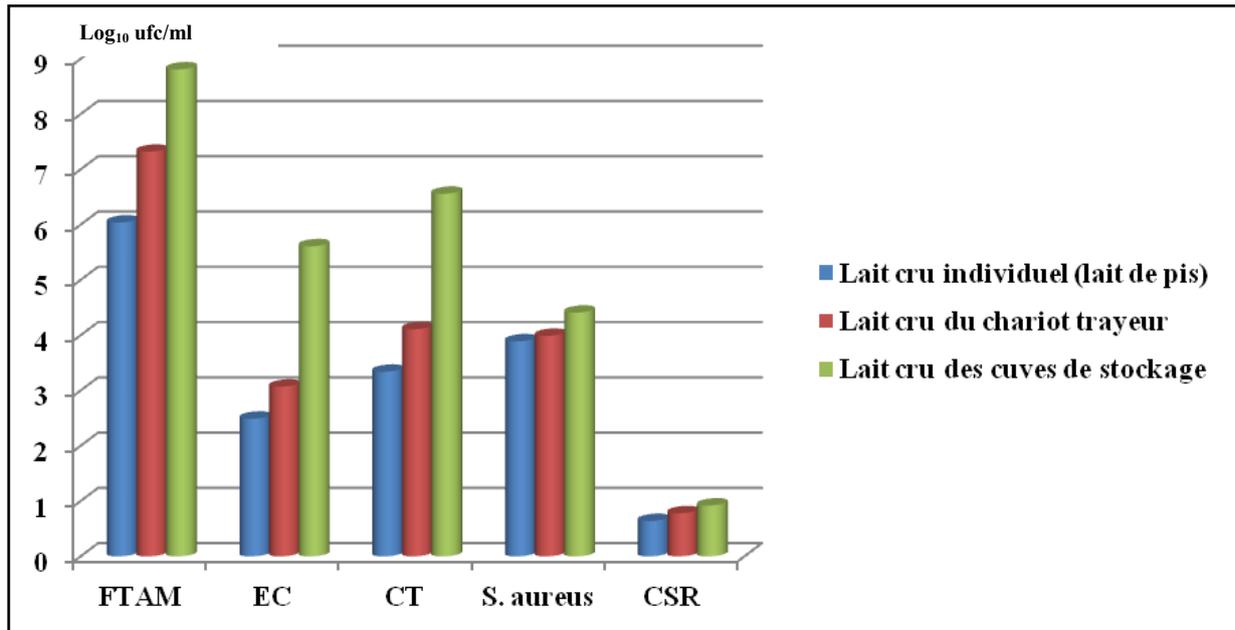


Figure 17 : Evolution de la qualité bactériologique du lait cru à travers la chaîne de production à la ferme (moyennes en log₁₀ ufc/ml).

IV.2.1.2. Facteurs de risque et taux de contaminants bactériens

Les prévalences d'échantillons contaminés par les bactéries étudiées variaient de 0 % pour les mains des trayeurs (EC, CT et CSR), l'environnement de la traite (SCP et CSR) et l'eau de la traite (EC et CT) à 100 % pour tous les échantillons (FMAT) (tableau XVIII).

La FMAT était présent dans tous les types d'échantillons avec un taux de contamination de 100 %.

Les entérocoques et les coliformes thermotolérants n'avaient pas été détectés dans les prélèvements des mains des trayeurs et l'eau utilisée au cours de la traite, mais ont été le plus trouvés dans les prélèvements d'ustensiles (60,4 % et 66,1 % respectivement), les mamelles (51,9 % et 57,8 % respectivement) et les gobelets trayeurs (41,5 % et 45,3 % respectivement).

Les *Clostridium* sulfite-réducteurs étaient détectés sur les mamelles (10,8 %), les ustensiles (9,4 %), les gobelets trayeurs (5,7 %) et dans l'eau utilisée dans les différentes étapes de la traite (18,9 %), alors ils n'avaient pas été détectés dans les prélèvements des mains des trayeurs et les échantillons de l'environnement.

Pour les Staphylocoques à coagulase positives, ils provenaient essentiellement de l'eau utilisée dans les différentes étapes de la traite (50,9 %), des mains des trayeurs (39,6 %) et des

mamelles (28,9 %). En revanche, des charges plus faibles ont été enregistrées sur les ustensiles (5,7 %) et les gobelets trayeurs (7,5 %).

Tableau XVIII : Prévalence de contaminants bactériens dans les échantillons de l'environnement.

Paramètre		FMAT	EC	CT	SCP	CSR
Mains des trayeurs	Np / Nt	53/53	0/53	0/53	21/53	0/53
	Prévalence (%)	100	0,0	0,0	39,6	0,0
Ustensile	Np / Nt	53/53	32/53	35/53	3/53	5/53
	Prévalence (%)	100	60,4	66,1	5,7	9,4
Mamelles	Np / Nt	360/360	187/360	208/360	104/360	39/360
	Prévalence (%)	100	51,9	57,8	28,9	10,8
Gobelets trayeurs	Np / Nt	53/53	22/53	24/53	4/53	3/53
	Prévalence (%)	100	41,5	45,3	7,5	5,7
Eau de la traite	Np / Nt	53/53	0/53	0/53	27/53	10/53
	Prévalence (%)	100	0,0	0,0	50,9	18,9
Environnement de la traite	Np / Nt	53/53	7/53	10/53	0/53	0/53
	Prévalence (%)	100	13,2	18,9	0,0	0,0
Total	Np / Nt	625/625	248/625	277/625	159/625	57/625
	Prévalence (%)	100	39,7	44,3	25,4	9,1

Np : Nombre des échantillons positifs, Nt : Nombre des échantillons testés, FMAT : Flore mésophile aérobie totale à 30 °C, EC : Entérocoques, CT : Coliformes thermotolérants, SCP : Staphylocoques à coagulase positive, CSR : Clostridium sulfito-réducteurs à 46 °C.

IV.2.2. Lait cru des points de vente

IV.2.2.1. Qualité bactériologique globale

Le tableau XIX rapporte le taux de contamination des échantillons de lait cru par les différentes flores selon les quatre points de vente dans les deux régions de Jijel et Blida. Pour un marqueur bactérien donné, le tableau XIX donne la concentration moyenne en bactéries des 24 prélèvements du site considéré, exprimée en ufc /ml.

La totalité des échantillons ont été infectés par la flore mésophile aérobie totale avec un nombre moyen vari de $6,5 \cdot 10^5$ à $8,1 \cdot 10^5$ ufc/ml selon les sites.

Sur les 192 échantillons, 52,6 % ont présenté une charge en coliformes thermotolérants supérieure aux normes exigées ; selon les sites de prélèvement, leur concentration moyenne varie de $2,4 \cdot 10^4$ à $6,2 \cdot 10^4$ ufc/ml.

De même, 40,1 % des échantillons ont montrés une charge en entérocoques supérieure aux normes, le nombre moyen variant de $1,4 \cdot 10^4$ à $4,8 \cdot 10^4$ ufc/ml selon les sites.

Seulement 34 échantillons sont infectés par des *S. aureus*, avec une charge variante de $0,1 \cdot 10^3$ à $2,2 \cdot 10^3$ ufc/ml. Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont présents dans 12,5 % des prélèvements, soit d'un à six prélèvements selon les sites avec des concentrations de 10 à 60 ufc/ml.

Les moyennes géométriques des bactéries dénombrées sont significativement supérieures aux critères légaux pour tous groupes bactériens exceptés les *Clostridium*s sulfito-réducteurs.

La comparaison des résultats obtenus dans les deux régions ne montre pas de différence significative ($p > 0,05$) pour toutes les bactéries dénombrées.

Tableau XIX : Taux de contamination moyen des échantillons de lait cru analysés pour les cinq indicateurs bactériens (ufc/ml).

Région	PV	NP	FMAT	EC	CT	<i>S. aureus</i>	CSR
Jijel	A _J	24	$6,6 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^4$	$3,0 \cdot 10^4$	$0,1 \cdot 10^3$	$0,1 \cdot 10^2$
	B _J	24	$7,4 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^4$	$2,4 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^3$	$0,2 \cdot 10^2$
	C _J	24	$6,5 \cdot 10^5$	$4,8 \cdot 10^4$	$6,1 \cdot 10^4$	$0,8 \cdot 10^3$	$0,3 \cdot 10^2$
	D _J	24	$7,4 \cdot 10^5$	$2,8 \cdot 10^4$	$4,4 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^3$	$0,2 \cdot 10^2$
Blida	A _B	24	$7,2 \cdot 10^5$	$2,2 \cdot 10^4$	$4,7 \cdot 10^4$	$0,6 \cdot 10^3$	$0,2 \cdot 10^2$
	B _B	24	$8,1 \cdot 10^5$	$3,6 \cdot 10^4$	$4,9 \cdot 10^4$	$0,8 \cdot 10^3$	$0,5 \cdot 10^2$
	C _B	24	$7,1 \cdot 10^5$	$2,1 \cdot 10^4$	$4,9 \cdot 10^4$	$0,6 \cdot 10^3$	$0,2 \cdot 10^2$
	D _B	24	$7,2 \cdot 10^5$	$3,8 \cdot 10^4$	$6,2 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^3$	$0,6 \cdot 10^2$
Moyenne			$7,2 \cdot 10^5$	$2,8 \cdot 10^4$	$4,6 \cdot 10^4$	$0,9 \cdot 10^3$	$0,3 \cdot 10^2$
NE<CR			3 (1,6%)	115 (59,9%)	91 (47,4%)	158 (82,3%)	169 (88,0%)
NE>CR			189 (98,4%)	77 (40,1%)	101 (52,6%)	34 (17,7%)	23 (12,0%)

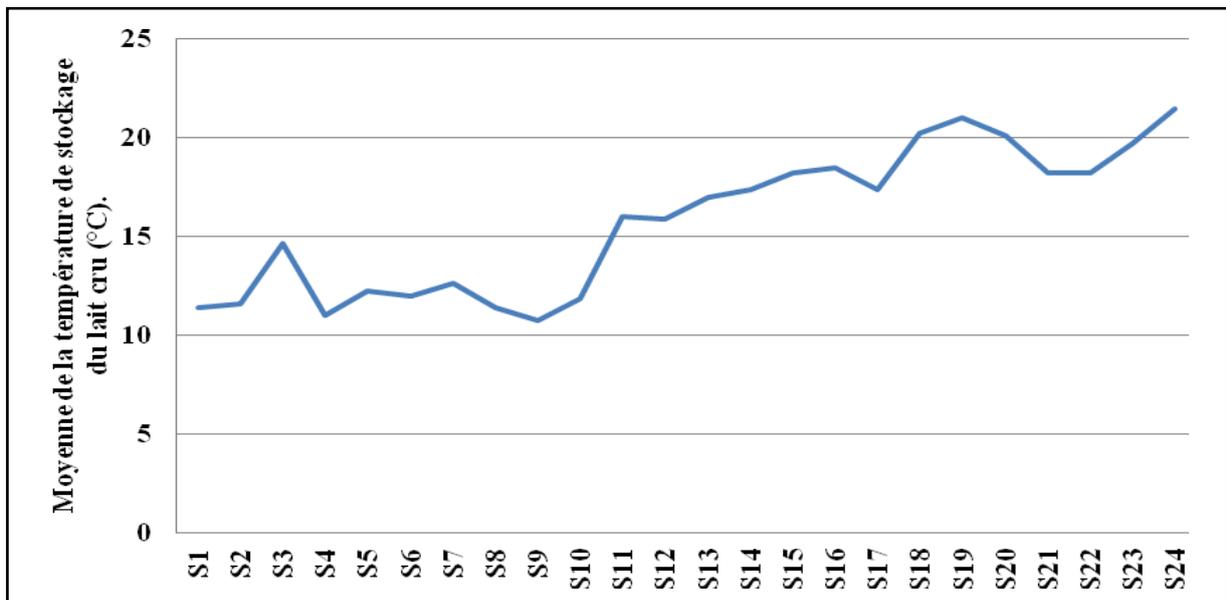
PV : Point de vente, NP : Nombre de prélèvements effectués, Moy : Moyenne, FMAT : Flore mésophile aérobie totale, EC : Entérocoques, CT : Coliformes thermotolérants, S. aureus : Staphylococcus aureus, CSR : Clostridium sulfito-réducteurs, NE<CR : nombre des échantillons qui présentent une charge inférieure au critère légal, NE>CR : Nombre d'échantillons qui présentent une charge supérieure au critère légal.

IV.2.2.2. Température de stockage du lait cru dans les différents points de vente

La température de stockage dans les points de vente variait entre 10,8 °C et 21,5 °C, avec une moyenne de $15,8 \pm 3,6$ °C (tableau XX et fig. 18).

Tableau XX : Valeurs moyennes de température de stockage du lait cru dans les deux régions.

Semaines	Température (°C)	Semaines	Température (°C)
S1	11,4	S13	17,0
S2	11,6	S14	17,4
S3	14,6	S15	18,3
S4	11,0	S16	18,5
S5	12,3	S17	17,4
S6	12,0	S18	20,3
S7	12,6	S19	21,0
S8	11,4	S20	20,1
S9	10,7	S21	18,3
S10	11,9	S22	18,3
S11	16,0	S23	19,8
S12	15,9	S24	21,5



La température évolue de façon irrégulière en hiver (12 premières semaines), et continue à augmenter graduellement en printemps (12 dernières semaines).

Figure 18 : Variation des valeurs moyennes de température de stockage du lait cru en fonction des semaines d'étude dans les deux régions.

IV.2.2.3. Relation entre les indicateurs bactériens et entre ces indicateurs et la température de stockage du lait cru vendu

Le tableau XXI reprend, pour les cinq groupes de bactéries étudiés, l'analyse entre la contamination et la température de stockage du lait. Il n'y a que deux corrélations qui sont statistiquement significatives, l'une pour les coliformes thermotolérants et l'autre pour les *S. aureus* par rapport à la température de stockage du lait (tableau XXI).

Tableau XXI : Corrélation entre les dénombrements bactériens et entre ces dénombrements et la température de stockage

Relation entre les paramètres	r	Valeur de p
FTAM-EC	0,060	0,40
FTAM-CT	-0,032	0,65
FTAM-SA	0,068	0,34
FTAM-CSR	-0,066	0,35
FTAM-TS	-0,017	0,80
EC-CT	0,076	0,29
EC-SA	-0,032	0,64
EC-CSR	0,094	0,19
EC-TS	0,092	0,20
CT-SA	0,035	0,62
CT-CSR	-0,012	0,86
CT-TS	0,168	0,01*
SA-CSR	-0,074	0,30
SA-TS	0,163	0,02*
CSR-TS	0,046	0,52

FTAM : Flore mésophile aérobie totale, SA : *Staphylococcus aureus*, CT : Coliformes thermotolérants, EC : Entérocoques, CSR : *Clostridium sulfito-réducteurs*, TS : Température de stockage de lait, r : Coefficient de corrélation, * : statistiquement significatif pour $p < 0,05$.

IV.3. Fréquence d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru

Pour le lait cru de la ferme, 134 prélèvements se sont avérés positifs aux inhibiteurs. Ils sont répartis comme suit : 30,6 % (soit : 110/360) des prélèvements du lait de pis, 26,4 % (soit : 14/53) des prélèvements du lait du chariot trayeur et 18,9 % (soit : 10/53) des prélèvements du lait des cuves (tableau XXII et annexe 4).

Les fréquences de ces inhibiteurs bactériens varient significativement selon les sites ($P < 0,05$).

Pour le lait cru des points de vente, sur un total de 192 échantillons du lait cru analysés, 28,7 % (soit 55/192) se sont avérés positifs aux inhibiteurs bactériens. La fréquence la plus élevée

a été enregistrée dans les laits crus issus du point de vente A_B avec une proportion de 54,2 % (soit 13/24), alors que les échantillons issus du site C_J n'ont pas permis de détecter d'inhibiteur. Il y a donc de nettes différences entre points de vente pour ce paramètre (tableau XXII et fig. 19).

➤ **Relation entre les bactéries dénombrées et la présence d'inhibiteurs bactériens** : l'étude de la relation entre la contamination du lait et la présence des inhibiteurs bactériens a permis de mettre en évidence que le niveau de contamination du lait cru par les bactéries est significativement inférieur ($p < 0,05$) suite à la présence des inhibiteurs bactériens pour les *S. aureus*, EC, CT et CSR (tableau XXIII et XXIV).

Tableau XXII : Fréquence de détection d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru de la ferme et pour chacun des points de vente (PV).

1. Lait cru de la ferme				
Lait cru		NEP / NEE	Prévalence (%)	IC 95 (%)
Lait de pis		110 / 360	30,6	[25,8 ; 35,3]
Lait du chariot trayeur		14 / 53	26,4	[14,5 ; 38,3]
Lait des cuves		10 / 53	18,9	[8,3 ; 29,4]
Total		134 / 466	28,7	[24,6 ; 32,9]
2. Lait cru des points de vente				
Région	PV	NEP / NEE	Prévalence (%)	IC95 (%)
Jijel	A _J	10 / 24	41,7	[21,9 ; 61,4]
	B _J	8 / 24	33,3	[14,5 ; 52,2]
	C _J	0 / 24	0,0	[0,0 ; 14,3]
	D _J	6 / 24	25,0	[7,7 ; 42,3]
Blida	A _B	13 / 24	54,2	[34,2 ; 74,1]
	B _B	5 / 24	20,8	[4,6 ; 37,1]
	C _B	9 / 24	37,5	[18,1 ; 56,9]
	D _B	4 / 24	16,7	[1,8 ; 31,6]
Total		55 / 192	28,7	[22,3 ; 35,0]

PV : Point de vente, NEE : Nombre des échantillons examinés, NEP : Nombre des échantillons positifs, IC95 : Intervalle de confiance à 95 %.

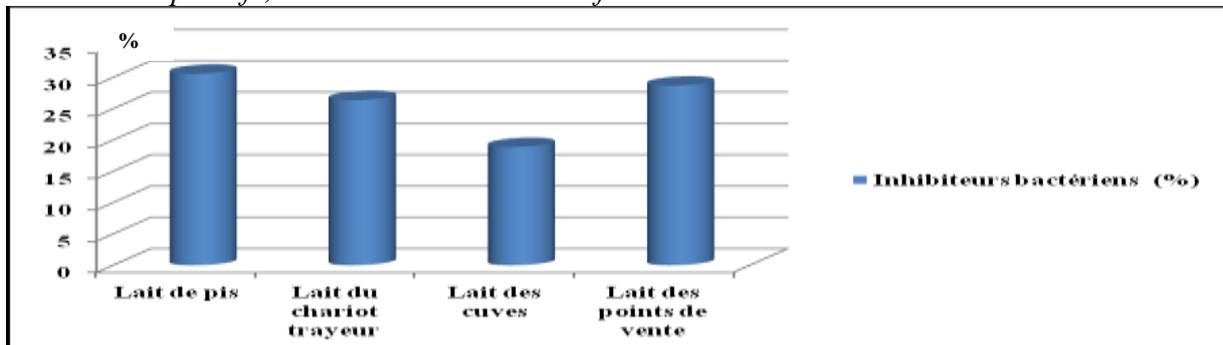


Figure 19 : Fréquence des inhibiteurs bactériens dans le lait cru.

Tableau XXIII : Relation entre la détection des bactéries indicatrices et la présence d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru de la ferme.

1. Lait de pis				
Flore bactérienne détectée		Inhibiteurs bactériens		Total n (%)
		Présence	Absence	
Flore mésophile aérobie totale	+	110 (100 %)	250 (100 %)	360 (100 %)
	-	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Entérocoques	+	77 (70,0 %)	8 (3,2 %)	85 (23,6 %)
	-	33 (30,0 %)	242 (96,8 %)	275 (76,4 %)
Coliformes thermotolérants	+	69 (62,7 %)	49 (19,6 %)	118 (32,8 %)
	-	41 (37,3 %)	201 (80,4 %)	242 (67,2 %)
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	41 (37,3 %)	17 (6,8 %)	58 (16,1 %)
	-	69 (62,7 %)	233 (93,2 %)	302 (83,9 %)
<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	+	10 (9,1 %)	2 (0,8 %)	12 (3,3 %)
	-	100 (90,9 %)	248 (99,2 %)	348 (96,7 %)
2. Lait du chariot trayeur				
Flore bactérienne détectée		Inhibiteurs bactériens		Total n (%)
		Présence	Absence	
Flore mésophile aérobie totale	+	14 (100 %)	39 (100 %)	53 (100 %)
	-	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Entérocoques	+	14 (100 %)	0 (0,0 %)	14 (26,4 %)
	-	0 (0,0 %)	39 (100 %)	39 (73,6 %)
Coliformes thermotolérants	+	12 (85,7 %)	10 (25,6 %)	22 (41,5 %)
	-	2 (14,3 %)	29 (74,4 %)	31 (58,5 %)
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	10 (71,4 %)	2 (5,1 %)	12 (22,6 %)
	-	4 (28,6 %)	37 (94,9 %)	41 (77,4 %)
<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	+	2 (14,3 %)	0 (0,0 %)	2 (3,8 %)
	-	12 (85,7 %)	39 (100 %)	51 (96,2 %)
3. Lait des cuves				
Flore bactérienne détectée		Inhibiteurs bactériens		Total n (%)
		Présence	Absence	
Flore mésophile aérobie totale	+	10 (100 %)	43 (100 %)	53 (100 %)
	-	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Entérocoques	+	8 (80,0 %)	26 (60,5 %)	34 (64,2 %)
	-	2 (20,0 %)	17 (39,5 %)	19 (35,8 %)
Coliformes thermotolérants	+	6 (60,0 %)	34 (79,1 %)	40 (75,5 %)
	-	4 (40,0 %)	9 (20,9 %)	13 (24,5 %)
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	7 (70,0 %)	24 (55,8 %)	31 (58,5 %)
	-	3 (30,0 %)	19 (44,2 %)	22 (41,5 %)
<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	+	2 (20,0 %)	1 (2,3 %)	3 (5,7 %)
	-	8 (80,0 %)	42 (97,7 %)	50 (94,3 %)

n : nombre.

Tableau XXIV : Relation entre la détection des bactéries indicatrices et la présence d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru des points de vente.

4. Lait des points de vente				
Flore bactérienne détectée		Inhibiteurs bactériens		Total n (%)
		Présence	Absence	
Flores mésophile aérobie totale	+	55 (100 %)	137 (100 %)	192 (100)
	-	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
Entérocoques	+	7 (12,7 %)	70 (52,1 %)	77 (40,1 %)
	-	48 (87,3 %)	67 (47,9 %)	115 (59,9 %)
Coliformes thermotolérants	+	13 (23,6 %)	88 (64,2 %)	101 (52,6 %)
	-	42 (76,4 %)	49 (35,8 %)	91 (47,4 %)
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	5 (9,0 %)	29 (21,2 %)	34 (17,7 %)
	-	50 (81,0 %)	108 (78,8 %)	158 (82,3 %)
<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	+	5 (9,0 %)	19 (13,9 %)	24 (12,5 %)
	-	50 (81,0 %)	118 (86,1 %)	168 (87,5 %)

n : nombre.

IV.4. Caractéristiques génotypiques et identification moléculaire des isolats de *S. aureus*

Les cent trente huit souches de staphylocoque à coagulase positive ont été analysées par PCR à l'aide d'amorces spécifiques des gènes *nuc* pour identifier et isoler que les souches de *S. aureus*. Les fragments de 664 pb caractéristiques du gène *nuc* ont été observés dans 97,8 % des souches (135/138). En revanche, ils ont été absents dans 2,2 % des souches (3/138, soit : 2 souches isolées à partir du lait cru des cuves de stockage et une souche isolée à partir du lait cru des points de vente) (tableau XXV, fig. 20 et annexe 6).

Tableau XXV : Origine et caractéristiques des souches de *S. aureus* isolées de lait cru de la ferme et des points de vente.

Lait cru	Effectifs des souches	Présence du gène <i>nuc</i>
Lait de pis	58	58
Lait du chariot trayeur	12	12
Lait des cuves de stockage	33	31
Lait des points de vente	35	34
Total (%)	138 (100%)	135/138 (97,8 %)

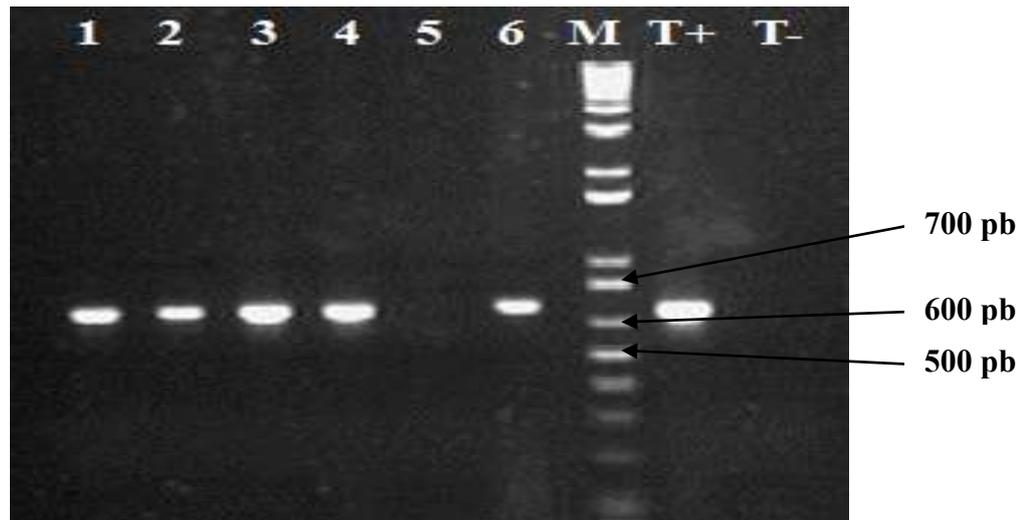


Figure 20 : Profil de gel d'agarose 1 % présentant le fragment de 664 pb du gène *nuc*.

Lignes 1 à 4 et 6 : souches positives (*S. aureus* possèdent le gène *nuc*), Lignes 5 : souches négatives (pas de gène *nuc*), T-: témoin négatif, T+ : Témoin positif, M : Marqueur moléculaire.

IV.5. Résistance des souches de *S. aureus* isolés dans le lait cru individuel aux antibiotiques

Les résultats à l'antibiogramme des 58 souches de *S. aureus*, selon la méthode de diffusion sur milieu Müller Hinton, sont reportés sur le tableau XXVI et la figure 21. Les résultats détaillés des cinquante huit souches sont portés en annexe 5.

Les résultats montrent que 100 % des souches de *S. aureus* sont résistantes à la pénicilline G. Par contre, très peu de résistance est observée vis-à-vis d'oxacilline (10,3 %). Aucune résistance n'a été observée pour les antibiotiques suivants : enrofloxacin, érythromycine, vancomycine et céfoxitine.

La résistance observée pour la tétracycline, amoxicilline et l'association de Triméthoprime / sulfaméthoxazole est peu élevée, elle est de 22,4 %, 32,8 % et 18,9 % (respectivement).

Tableau XXVI : Résultats de la lecture de l'antibiogramme des souches de *S. aureus* isolées à partir des échantillons de lait cru individuel.

Antibiotiques testés	Souches sensibles (S)		Souches intermédiaires (I)		Souches résistantes (R)	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Pénicilline G	0	0,0	0	0,0	58	100
Tétracycline	44	75,9	1	1,7	13	22,4
Amoxicilline	39	67,2	0	0,0	19	32,8
Enrofloxacin	58	100	0	0,0	0	0,0
Vancomycine	58	100	0	0,0	0	0,0
Trimeth/sulfameth	45	77,6	2	3,5	11	18,9
Oxacilline	43	74,2	9	15,5	6	10,3
Erythromycine	58	100	0	0,0	0	0,0
Céfoxitine	58	100	0	0,0	0	0,0

Trimeth/sulfameth : Triméthoprim / sulfaméthoxazole.

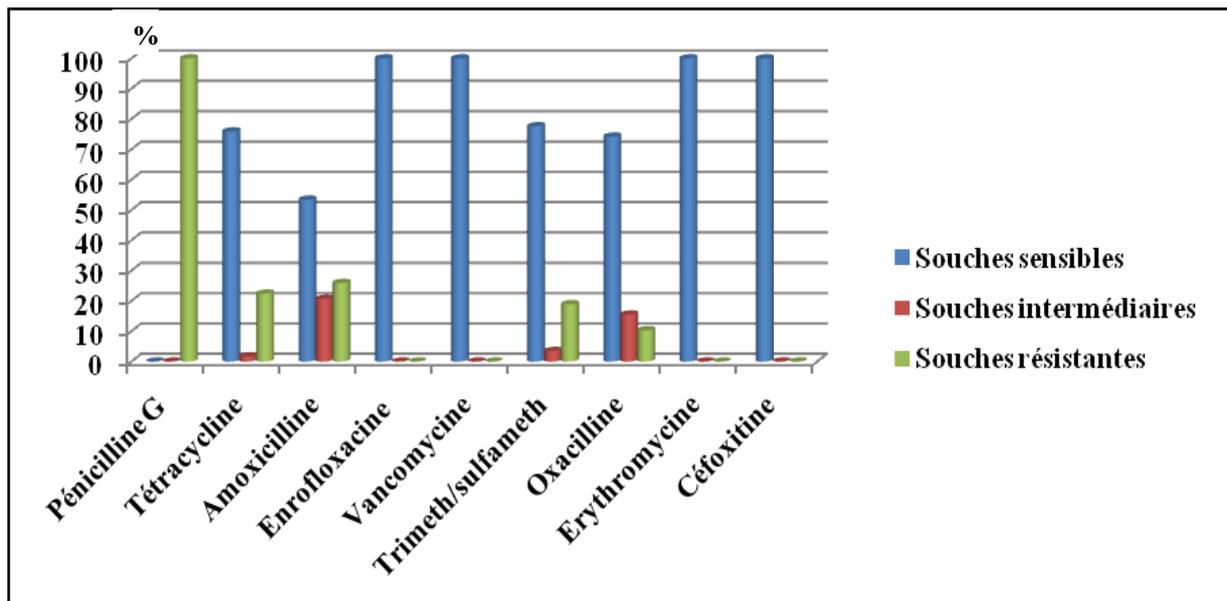


Figure 21 : Taux de sensibilité et de résistance des souches de *S. aureus* par rapport aux antibiotiques testés.

IV.6. Contamination du lait cru individuel par les *S. aureus* et facteurs de variation liés à la vache

IV.6.1. Répartition des résultats positifs selon les facteurs de variation

IV.6.1.1. L'âge

D'après le tableau et la figure ci-dessous, la fréquence la plus élevée est observée dans la tranche d'âge des 7-15 ans avec un pic pour les 13-15 ans.

Tableau XXVII : Répartition des résultats selon l'âge.

L'âge (ans)	Nombre de prélèvements positifs		Total n (%)
	Jijel	Blida	
[1 - 3 [1	2	3 (5,2 %)
[3 - 5 [0	4	4 (6,9 %)
[5 - 7 [1	3	4 (6,9 %)
[7 - 9[4	5	9 (15,5 %)
[9 - 11[4	4	8 (13,8 %)
[11 - 13[2	9	11 (18,9 %)
[13 - 15[8	11	19 (32,8 %)
Total	20	38	58 (100 %)

n : nombre.

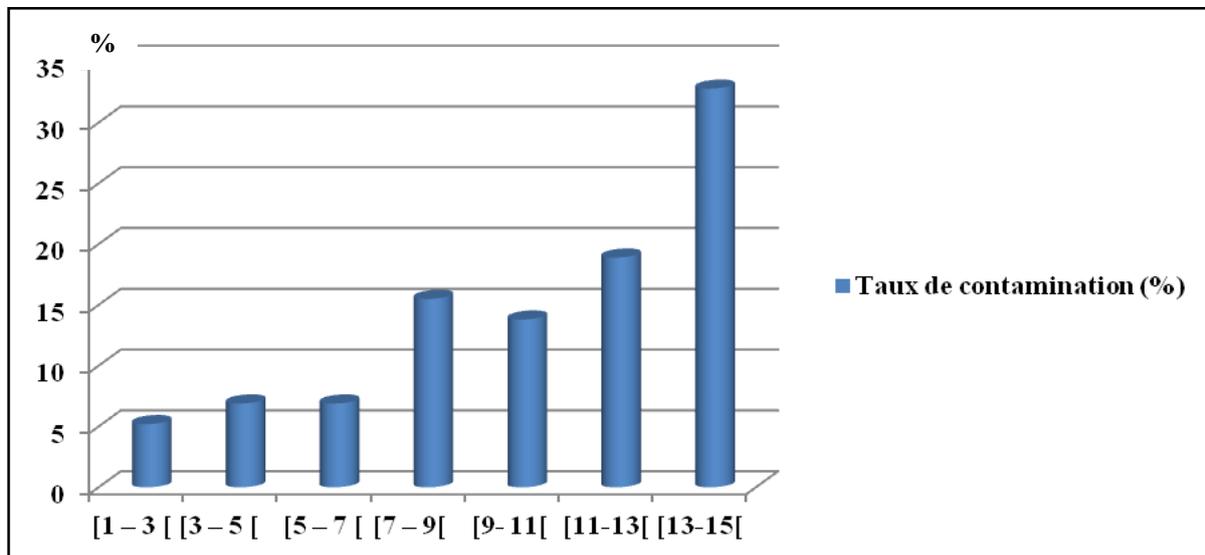


Figure 22 : Répartition de taux de contamination par groupe d'âge.

IV.6.1.2. Le niveau de production du lait

D'après notre étude, le nombre le plus élevé de prélèvements positifs est observé dans la tranche de production lactée de 15 à 20 litres par jour (39,7 %, soit : 23/58), ensuite nous avons observé un taux de 29,3 % dans celle qui est située entre 10 et 15 litres par jour. Le taux de positivité augmente avec le niveau de la production lactée (tableau XXVIII et la figure 23 ci-dessous).

Tableau XXVIII : Répartition des résultats selon le niveau de la production laitière.

La production lactée (l/j).	Nombre de prélèvements positifs		Total n (%)
	Jijel	Blida	
[0 - 5[0	7	7 (12,1 %)
[5 - 10[5	6	11 (18,9 %)
[10 - 15[6	11	17 (29,3 %)
[15 - 20[8	15	23 (39,7 %)
Total	19	39	58 (100 %)

n : nombre.

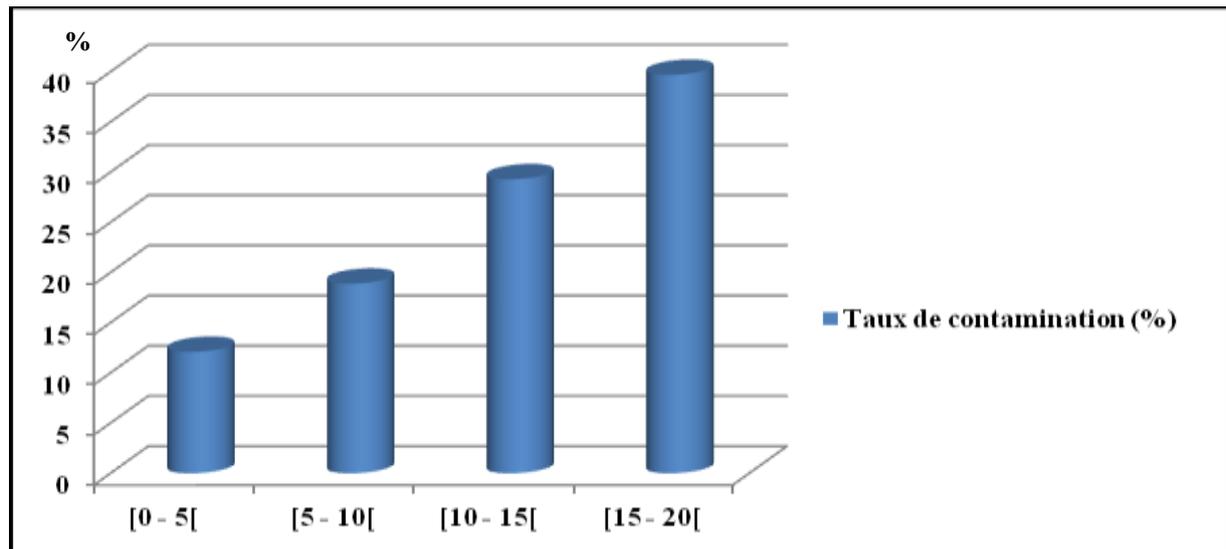


Figure 23 : Répartition de taux de contamination selon le niveau de la production laitière.

IV.6.1.3. Le numéro de lactation

Le taux de contamination du lait individuel par les *S. aureus* augmente avec le numéro de lactation (tableau XXIX et figure 24 ci-dessous) :

- ✓ Pour les vaches dont le numéro de lactation est compris entre [9 - 11[, le taux de contamination du lait est de 36,2 % (soit : 21/58).
- ✓ Le taux de contamination le plus faible (6,9 %, soit : 4/58) est observé dans le lait des vaches dont le numéro de lactation est compris entre [1 - 5[.
- ✓ Le taux de contamination augmente avec le numéro de lactation.

Tableau XXIX : Répartition des résultats selon le numéro de lactation.

Numéro de lactation	Nombre de prélèvements positifs		Total n (%)
	Jijel	Blida	
[1 - 3[2	2	4 (6,9 %)
[3 - 5[3	1	4 (6,9 %)
[5 - 7[7	7	14 (24,1 %)
[7 - 9[5	10	15 (25,9 %)
[9 - 11[8	13	21 (36,2 %)
Total	25	33	58 (100 %)

n : nombre.

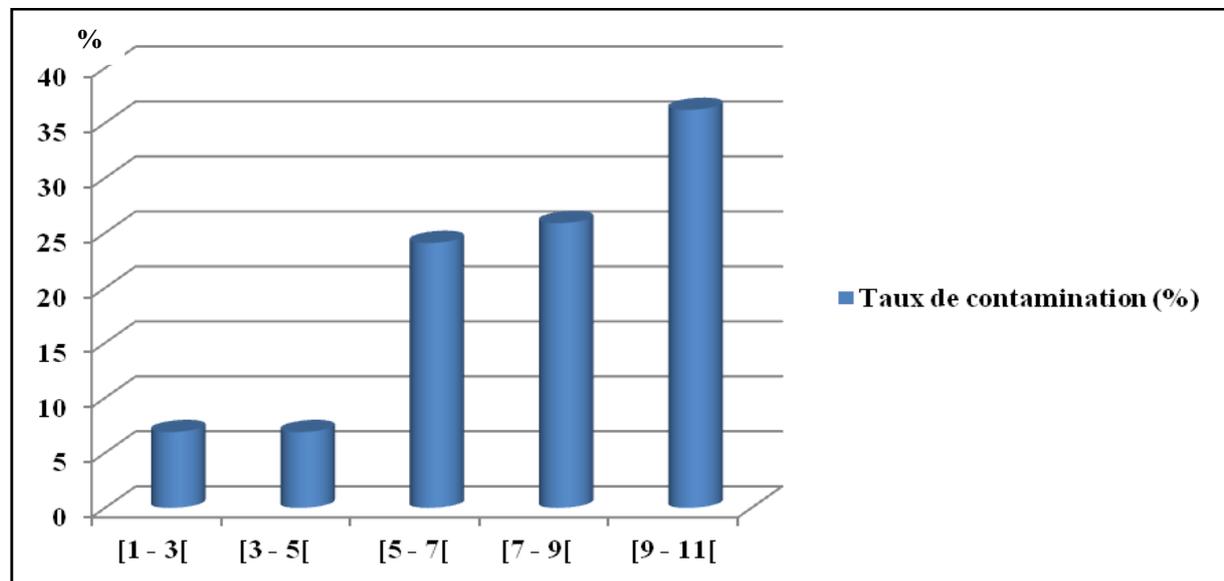


Figure 24 : Répartition de taux de contamination selon le numéro de lactation.

IV.6.1.4. Le stade de lactation

Le taux le plus élevé de contamination par les *S. aureus* est observé dans le lait des vaches en fin de lactation : 37,9 %, alors que le plus faible taux de contamination est observé dans le lait des vaches en pic de lactation : 27,6 % (tableau XXX et figure 25 ci-dessous).

Tableau XXX : Répartition des résultats selon le stade de lactation.

Stade de lactation	Nombre de prélèvements positifs		Total n (%)
	Jijel	Blida	
Début	10	10	20 (34,5 %)
Pic	7	9	16 (27,6 %)
Fin	12	10	22 (37,9 %)
Total	29	29	58 (100 %)

n : nombre.

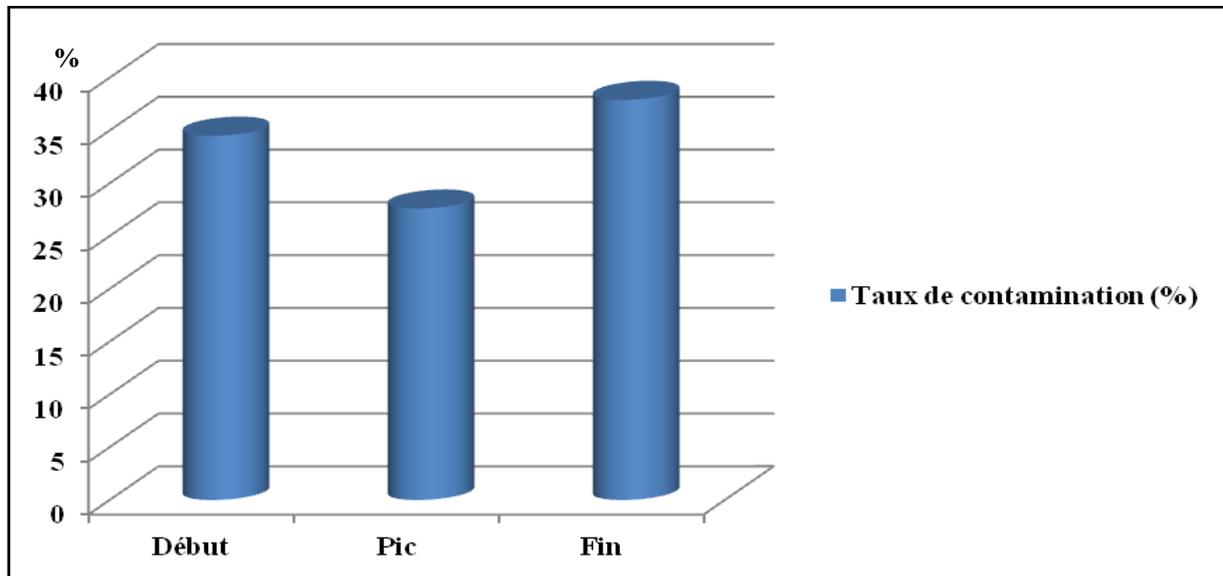


Figure 25 : Répartition de taux de contamination selon le stade de lactation.

IV.6.1.5. La race

Selon nos résultats (tableau XXXI et la figure 26 ci-dessous), on observe que le lait des vaches améliorées est plus contaminé (62,1 %) par rapport au lait des vaches locales (37,9 %).

Tableau XXXI : Répartition des résultats selon la race.

La race	Nombre de prélèvements positifs		Total n (%)
	Jijel	Blida	
Améliorée	13	23	36 (62,1 %)
Locale	15	7	22 (37,9 %)
Total	28	30	58 (100 %)

n : nombre.

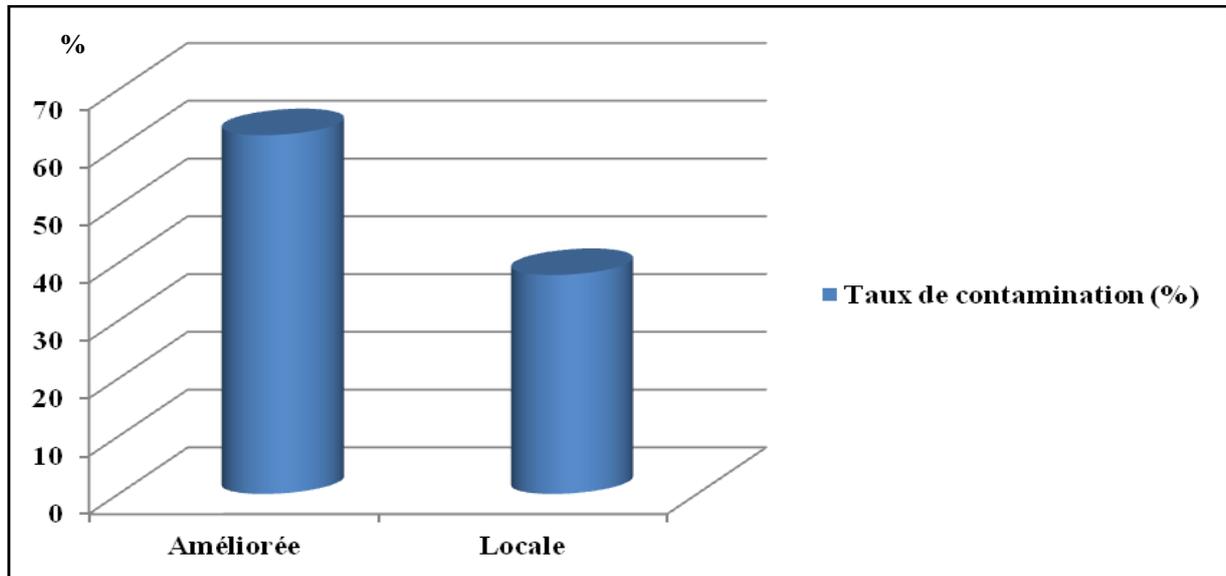


Figure 26 : Répartition de taux de contamination selon la race.

IV.6.1.6. La forme des trayons

Le taux le plus élevé de la contamination est observé dans le lait provenant à partir des vaches dont les trayons soit en forme cylindrique (56,9 %, soit : 33/58), alors que 43,1 % (soit : 25/58) de contamination, est observé dans le lait de vaches dont les trayons en forme d'entonnoir (tableau XXXII et figure 27 ci-dessous).

Tableau XXXII : Pourcentage de la prévalence en fonction de la forme des trayons.

la forme des trayons	Nombre de prélèvements positifs		Total n (%)
	Jijel	Blida	
Entonnoir	11	14	25 (43,1 %)
Cylindriques	15	18	33 (56,9 %)
Total	26	32	58 (100 %)

n : nombre.

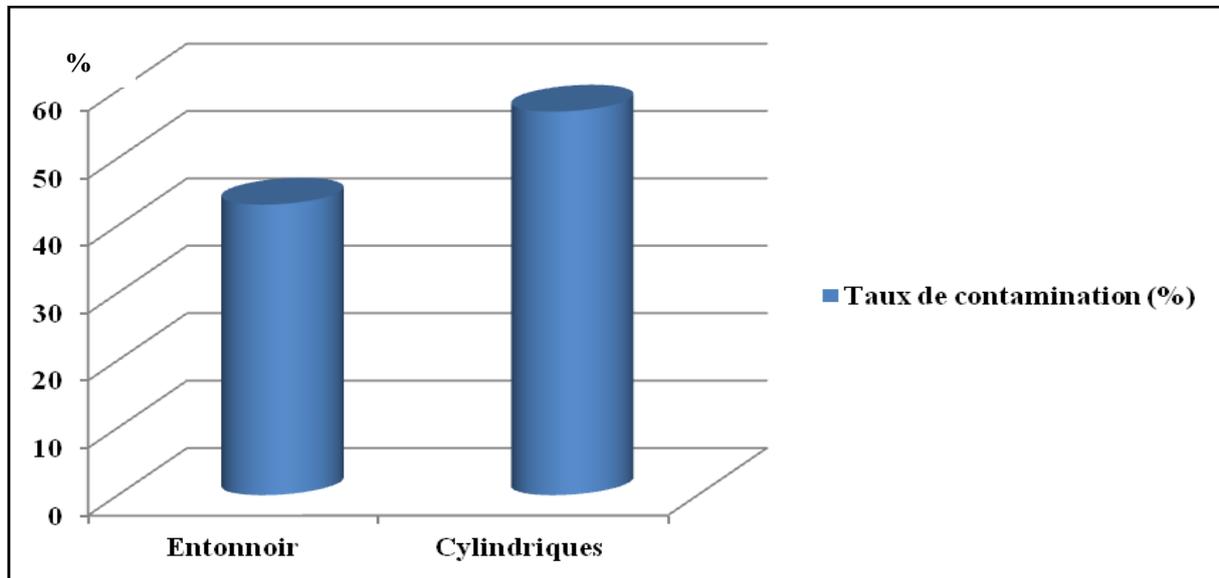


Figure 27 : Répartition de taux de contamination selon la forme des trayons.

IV.6.2. Comparaison entre les facteurs de variations dans les deux régions

IV.6.2.1. Relation entre le niveau de la production laitière et l'âge sur la contamination du lait individuel par les *S. aureus*

Tableau XXXIII : Répartition des prélèvements contaminés par production laitière et par âge.

Prod-lactée (l/j) \ Age (ans)	[0 - 10[[10 - 20[Σ
[1 - 9[8 6,2	12 13,8	20
[9 - 17[10 11,8	28 26,2	38
Σ	18	40	58

H_0 : il y a une indépendance entre l'âge et le niveau de la production laitière sur la contamination de lait par les *S. aureus*.

$$X^2 = 1,14 ; \quad X^2_{\alpha} = 3,84 ; \quad (\alpha = 0,05 \text{ et } \text{ddl} = 1).$$

$$X^2 < X^2_{\alpha} \rightarrow H_0 : \text{acceptée.}$$

Conclusion : ces résultats de contamination permettent d'affirmer qu'il n'y a pas une relation entre l'âge et le niveau de la production laitière sur la contamination du lait par les *S. aureus*.

IV.6.2.2. Relation entre la race et le niveau de la production laitière sur la contamination du lait par les *S. aureus*

Tableau XXXIV : Répartition des prélèvements contaminés par race et par production laitière.

Race \ Prod-lactée (l/j)	Améliorée	Locale	Σ
[0 - 10[11 11,2	7 6,8	18
[10 - 20[25 24,8	15 15,2	40
Σ	36	22	58

H_0 : il y a une indépendance entre la race et le niveau de la production laitière sur la contamination du lait par les *S. aureus*.

$$X^2 = 0,04 ; \quad X^2_{\alpha} = 3,84 ; (\alpha = 0,05 \text{ et } \text{ddl} = 1).$$

$$X^2 < X^2_{\alpha} \rightarrow H_0 : \text{acceptée.}$$

Conclusion : ces résultats de contamination permettent d'affirmer que la race et le niveau de la production laitière n'ont pas la même influence sur la contamination du lait par les *S. aureus*.

IV.6.2.3. Relation entre la race et la forme des trayons sur la contamination du lait par les *S. aureus*

Tableau XXXV : Répartition des prélèvements contaminés par race et par forme des trayons.

Race Forme-trayons	Améliorée	Locale	Σ
Cylindriques	20 20,5	13 12,5	33
Entonnoirs	16 15,5	9 9,5	25
Σ	36	22	58

H₀ : il n'existe pas une relation entre la race et la forme des trayons sur la contamination du lait par les *S. aureus*.

$$X^2 = 0,06 ; \quad X^2_{\alpha} = 3,84 ; (\alpha = 0,05 \text{ et } \text{ddl} = 1).$$

$$X^2 < X^2_{\alpha} \rightarrow H_0 : \text{acceptée.}$$

Conclusion : ces résultats de contamination ne permettent pas d'affirmer l'existence d'une relation entre la race et la forme des trayons sur la contamination du lait par les *S. aureus*.

IV.6.2.4. Relation entre l'âge et le nombre de gestation sur la contamination du lait par les *S. aureus*

Tableau XXXVI : Répartition des prélèvements contaminés par âge et par nombre de gestation.

Nmb-gést Age (ans)	[1 - 7[[7 - 13[Σ
[1 - 9[9 7,6	11 12,4	20
[9 - 17[13 14,4	25 23,6	38
Σ	22	36	58

H_0 : les répartitions observées (nombre de prélèvements contaminés) diffèrent significativement par rapport au taux de contamination du lait par les *S. aureus*.

$$X^2 = 0,61 ; \quad X^2_{\alpha} = 3,84 ; (\alpha = 0,05 \text{ et } \text{ddl} = 1).$$

$$X^2 < X^2_{\alpha} \rightarrow H_0 : \text{acceptée.}$$

Conclusion : ces résultats de contamination permettent d'affirmer que les deux facteurs n'ont pas une influence significative sur la contamination du lait par les *S. aureus*.

IV.7. Impact de la consommation du lait cru sur la santé des consommateurs

Le résultat de l'enquête réalisée sur le mode de consommation du lait cru a montré que 57,2 % (soit 119/208) des personnes enquêtées consomment le lait cru directement après achat sans traitement thermique (moyenne de 0,75 litre/jour/personne dans les zones d'étude). Plus de 45 pourcents des personnes enquêtées ont déclaré avoir souffert de symptômes compatibles avec des toxi-infections d'origine alimentaire après la consommation de ce lait sans traitement thermique (soit 54/119) contre 5,6 % pour ceux qui ont traité thermiquement le lait avant consommation (soit 5/89) (tableau XXXVII et fig. 28).

Les manifestations cliniques sont des vomissements (6,8 % soit 4/59), de la fièvre (16,9 % soit 10/59), des douleurs abdominales (16,9 % soit 10/59) et de plusieurs symptômes associés en même temps (10,2 % soit 6/59), alors que la diarrhée était le symptôme le plus rencontré avec une prévalence de 49,2 % (soit 29/59) chez les consommateurs.

L'analyse statistique a permis de mettre en évidence que l'apparition de maladies gastro-intestinales suite à la consommation de lait cru est significativement réduite par le traitement thermique du lait ($p < 0,05$).

Tableau XXXVII : Impact du traitement thermique du lait sur l'expression de maladies gastro-intestinales.

Traitement thermique du lait	Troubles gastro-intestinaux après consommation du lait		Total
	Absence de symptômes	Présence de symptômes	
Non	65 (54,6 %)	54 (45,4 %)	119
Oui	84 (94,4 %)	5 (5,6 %)	89
Total	149 (71,6 %)	59 (28,4 %)	208

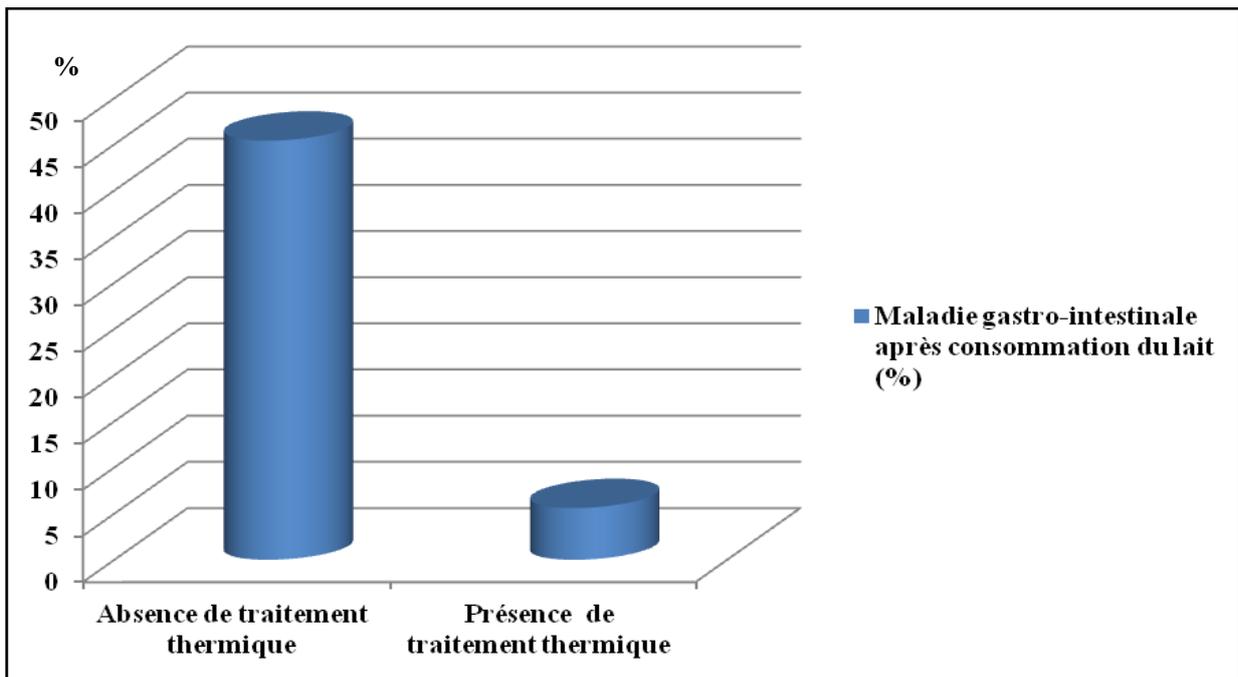


Figure 28 : Fréquence d'apparition des troubles gastro-intestinaux après consommation du lait avec ou sans traitement thermique.

V. Discussion

Les mauvaises conditions d'hygiène observées lors de la traite et le manque d'entretien accordé aux trayeurs (mains sales, eau de traite de mauvaise qualité, ... etc) et aux matériels impliqués dans la production et le stockage du lait sont certes à l'origine de la mauvaise qualité hygiénique du lait produit. En effet, la contamination bactérienne du lait devienne plus importante tout en allant en aval de la chaîne de production c'est-à-dire de plus en plus qu'on avance dans cette chaîne.

V.1. Evaluation de l'état hygiénique des pratiques de traite

D'après l'enquête effectuée à travers ces élevages laitiers, il ressort globalement que ni les conditions de traite, ni l'entretien du matériel impliqué dans la traite et le stockage du lait ne se faisaient de manière correcte. En effet, sur l'ensemble des élevages concernés par l'étude, la traite s'effectue dans des conditions sales et le recours à l'utilisation des produits nettoyants pour la préparation de la mamelle et pour le nettoyage du matériel est très insuffisant :

➤ **Le nettoyage de la machine à traire** : nous avons remarqué que la majorité des trayeurs (86,8 %) ont eu recours au rinçage de la machine avec de l'eau seulement, contre 13,2 % qui ont utilisé un mélange d'eau avec un produit nettoyant. Ces résultats ont été mauvais que celui trouvé lors de l'étude faite à Monastir (M'SADAK et *al.*, 2012), où 10,0 % des éleveurs utilisent l'alternance des détergents acide et alcalin dans l'opération de nettoyage.

➤ **Lavage des mains des trayeurs** : seulement 17,0 % des trayeurs ont lavé ses mains avant chaque traite, et la majorité (83,0 %) n'ont eu recours au lavage des mains. Ceci renseigne que l'état d'hygiène du trayeur était non admissible dans la plupart des cas. Ceci montrait que le trayeur n'accordait pas d'importance à l'hygiène des mains.

D'après THOMELIN (2009), les meilleures conditions d'hygiène permettent de réduire la contamination des mamelles par les bactéries qui peuvent pénétrer lorsque les sphincters sont ouverts.

➤ **Lavage des mamelles et des trayons avant la traite** : les résultats obtenus permettent de constater que 83,0 % des trayeurs pratiquent un lavage collectif des trayons et des mamelles avant la traite. Ces résultats sont rapprochés à ceux trouvés par M'SADAK et *al.*, (2011) qui sont remarqué que la majorité des éleveurs (93,0 %) ont préparé la mamelle à la traite par un pré-lavage à l'aide de l'eau et une lavette collective utilisée pour toutes les vaches.

Selon NOIRETERRE (2006), cette méthode de préparation de la mamelle à la traite favorise le risque de transmission des germes pathogènes d'un quartier infecté à un autre quartier sain et donc l'apparition des mammites par la suite.

➤ **Essuyage des trayons** : elle permet de minimiser les risques de mammites, d'améliorer la qualité du lait et d'éviter le "glissement" et l'entrée d'air (la fluctuation du niveau de vide) dans les unités de traite (WATTIAUX, 2004).

La fréquence de prévalence constatée, dans notre étude, pour l'essuyage des trayons (11,3 %) est nettement inférieure à celle rapportée par M'SADAK et *al.*, (2010) dans une étude sur l'effet des conditions de traite sur la santé mammaire des vaches laitières dans la région de Mahdia en Tunisie.

➤ **Désinfectons des trayons** : dans cette étude, peu des trayeurs (26,4 %) ont désinfecté les trayons après la traite, contre 73,6 % qui n'ont pas pratiqué cette opération. Ces résultats sont nettement inférieurs à ceux rapportés par M'SADAK et *al.*, (2012) lors d'une récente enquête réalisée dans la région de Monastir où 59,0 % des éleveurs ont pratiqué cette opération.

D'après BAREILLE et LEMARCHAND (2004), la désinfection des trayons après la traite permet de réduire de 50 % à 95 % la fréquence des nouvelles infections intra mammaires dues aux staphylocoques. En effet, Selon HANZEN (2010), la désinfection des trayons après la traite permet de réduire le nombre de germes qui, transférés au canal du trayon pendant la traite, pourraient se développer à son extrémité entre deux traites et enfin à traiter les lésions éventuelles du trayon.

➤ **Elimination des 1^{ers} jets** : malgré ses avantages sur le dépistage précoce des mammites et l'élimination des germes présents dans le canal du trayon (HANZEN, 2010), nous avons remarqué que 26,4 % des trayeurs pratiquent l'élimination des premiers jets du lait sur le sol. Ce taux concorde à celui rapporté par M'SADAK et *al.*, (2012) dans la région de Monastir où 28,0 % des éleveurs l'ont pratiqué.

V.2. Contamination bactériologique des échantillons

V.2.1. Qualité bactériologique globale du lait cru de la ferme et sources de contamination

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que le lait des cuves de stockage est plus contaminé que celui du chariot trayeur. Donc du pis à la cuve de stockage du lait, la proportion du lait de bonne qualité avait chuté.

En effet, cette dégradation rapide de la qualité bactériologique du lait tout au long de la chaîne de production à la ferme, n'est que le résultat de contaminations successives, des ustensiles, des mamelles, des gobelets trayeurs, de l'environnement de la traite et des mains des trayeurs. C'est au cours de la collecte que le lait peut se contaminer et plus il est manipulé, plus le risque de contamination bactérienne augmente.

La recherche des bactéries a révélé que la surface externe des mamelles, les ustensiles et les gobelets trayeurs portaient tous les germes recherchés. Les mamelles de certaines vaches seraient plus contaminées que d'autres et l'effet additif contribue à la baisse de la qualité du lait de mélange (lait de cuve).

En outre, les staphylocoques à coagulase positive étaient apportés secondairement dans le lait par l'eau utilisée dans les différentes étapes de la traite (50,9 %), les mains des trayeurs (39,6 %) et les mamelles (28,9 %). Les entérocoques et les coliformes thermotolérants proviennent des ustensiles (60,4 % et 66,1 % respectivement), des mamelles (51,9 % et 57,8 % respectivement), des gobelets trayeurs (41,5 % et 45,3 % respectivement) et l'environnement de la traite (13,2 % et 18,9 % respectivement). Les *Clostridium* sulfite-réducteurs sont véhiculés par l'eau utilisée dans les différentes étapes de la traite (18,9 %), par les mamelles (10,8 %), par les ustensiles (9,4 %) et par les gobelets trayeurs (5,7 %), mais avec des proportions faibles.

Dans les élevages, la présence de la flore mésophile aérobie totale dans le lait cru, nous renseigne sur la qualité hygiénique globale de ce dernier. Celle-ci renferme les microorganismes d'altération ou de contamination, la flore lactique acidifiante et parfois les bactéries pathogènes. Le dénombrement de cette flore, constitue la méthode la plus commune pour les unités de transformation du lait pour évaluer la qualité bactérienne du lait et par conséquent elle constitue un indicateur important des conditions d'hygiène lors de la traite (MHONE et *al.*, 2011). Cette flore importante observée au niveau des échantillons du lait des

cuves de stockage est probablement le résultat d'une multiplication bactérienne intense, favorisée par la non maîtrise des conditions d'hygiène lors de la traite et le stockage du lait.

La présence des coliformes thermotolérants et des entérocoques dans le lait cru indiquent une source environnementale de contamination. Leurs abondances dans le lait cru reflètent le non observance des dispositions sanitaires requises au cours de la traite pour la récolte du lait, et probablement une contamination au cours du stockage du lait. Les principaux vecteurs sont fortuitement liés aux téguments de la peau des trayons, souillée par les fèces et le matériel de traite mal conçu et mal nettoyé (MHONE *et al.*, 2011). En effet, BONFOH *et al.*, (2006), ont pu signaler que le mauvais nettoyage des récipients en contact du lait à la ferme laisse des niveaux résiduels de contamination de l'ordre $4.1 \log_{10}$ ufc/ml.

Les staphylocoques à coagulase positive (principalement *S. aureus*) sont des agents contagieux vivant sur le pis de la vache et qui se transmettent d'une vache à l'autre (MAKOVEC et RUEGG, 2003). Ces bactéries peuvent se retrouver dans le lait de mamelles atteintes de mammite staphylococcique clinique ou subclinique ou par contamination de l'environnement lors de la manipulation et de la transformation du lait cru (DONKOR *et al.*, 2007 ; PELES *et al.*, 2005). Lorsque le pis est infecté, ces bactéries passent dans le lait et on observe une variation dans la concentration bactérienne allant de zéro à 10^8 ufc/ml (ASPERGER et ZANGERL, 2003).

V.2.2. Qualité bactériologique globale du lait cru des points de vente et température de stockage

Le lait a été distribué préalablement par des collecteurs dans des citernes jusqu'à des vendeurs proches des fermes. Dans les points de vente, le lait est conservé dans des cuves de stockage sans réfrigération. La qualité bactériologique du lait a été appréciée selon les critères algériens relatifs aux spécifications microbiologiques de lait cru.

Les résultats obtenus au cours de ce travail indiquent que la majorité des échantillons de lait prélevés sont de piètre qualité microbiologique, seulement trois échantillons répondent aux critères applicables en Algérie.

La flore mésophile aérobie totale, bon indicateur de contamination globale, renseigne sur la qualité hygiénique du lait cru (GUINOT-THOMAS *et al.*, 1995). L'énumération de cette flore pour les 192 échantillons de lait cru a permis de relever que la moyenne des dénombrements est de $7,2 \cdot 10^5$ ufc/ml pour tous les échantillons analysés. Nos résultats sont en

accord avec ceux d'AGGAD et *al.*, (2009) où le niveau de contamination moyen avoisine $8,3 \cdot 10^5$ ufc/ml.

La majorité de nos échantillons (98,4 %) sont de mauvaise qualité au vu des critères algériens qui fixent le seuil de contamination à 10^5 ufc/ml. Selon AMHOURI et *al.*, (1998), Ils révèlent un manque de respect des bonnes pratiques de production et de stockage du lait.

Les coliformes thermotolérants indiquent en général une contamination fécale et leur nombre est généralement proportionnel au degré de pollution produit par des matières fécales (AGGAD et *al.*, 2010).

La moyenne des dénombrements de ces bactéries d'origine fécale est de $4,6 \cdot 10^4$ ufc/ml. Ces résultats sont très variables et supérieurs à la norme 10^3 ufc/ml (ARRETE INTERMINISTERIEL, 1998) pour 52,6 % des échantillons.

Les présents résultats sont supérieurs à ceux rapportés par GHAZI et NIAR (2011), dans la région de Tiaret avec une moyenne de $1,7 \cdot 10^4$ ufc/ml, ils sont néanmoins similaires aux résultats obtenus par AFIF et *al.*, (2008) dans l'une des coopératives laitières à Tadla (Maroc) avec $3,2 \cdot 10^5$ ufc/ml, mais sont nettement inférieurs aux résultats rapportés par OUIINE et *al.*, (2004) avec $2,0 \cdot 10^6$ ufc/ml.

Selon MOCQUOT et GUITTONNEAU (1939), les coliformes du genre *Escherichia* contaminent le lait directement (par contact direct avec le pis), ou se multiplient suite à un mauvais nettoyage des ustensiles laitiers.

La charge moyenne en entérocoques est de $2,8 \cdot 10^4$ ufc/ml et elle est très variable. Le critère algérien pour les entérocoques est l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru ; 40,1 % des échantillons présentent une charge supérieure. Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par AFFIF et *al.*, (2008) où la moyenne des résultats obtenus était 10^2 ufc/ml. En revanche, ils sont inférieurs aux résultats de LABIOUI et *al.*, (2009) avec $4,0 \cdot 10^4$ ufc/ml. Selon WAES (1973), ils sont des indicateurs de contaminations fécales, et de manipulations non hygiéniques.

S. aureus contamine le lait soit par excrétion directe des mamelles d'animaux atteints de mammites ou par l'environnement lors de la manipulation et de la transformation du lait cru (AFIF et *al.*, 2008).

Les résultats obtenus présentent une moyenne de $0,9 \cdot 10^3$ ufc/ml. La fréquence des résultats supérieurs au critère légal est de 17,7 % contre 82,3 % des laits analysés conformes.

Ces taux de contamination sont inférieurs à ceux décrits par AFFIF et *al.*, (2008) et MENNANE et *al.*, (2007) au Maroc qui présentent des moyennes de $8,0 \cdot 10^4$ ufc/ml et $1,2 \cdot 10^6$ ufc/ml respectivement, mais restent proches des résultats obtenus par AGGAD et *al.*, (2009) dans l'ouest algérien avec une moyenne de $3,5 \cdot 10^3$ ufc/ml.

La charge moyenne des laits crus analysés en *Clostridium*s sulfite-réducteurs est de $0,3 \cdot 10^2$ ufc/ml. Le critère algérien concernant ces bactéries étant fixée à 50 germes/ml, nous constatons que celle-ci est dépassée dans 12,0 % des échantillons.

Les résultats de cette étude montrent que 12,5 % du lait analysé est contaminé par cette flore. Ils sont nettement inférieurs à ceux de AGGAD et *al.*, (2009) dans l'ouest algérien avec un taux de contamination de 29,4 %. En revanche ils restent supérieurs à ceux de FAROUGOU et *al.*, (2011) avec une moyenne de $0,4 \cdot 10^1$ ufc/ml. En parallèle, MICHEL et *al.*, (2001), ont été montré que 72,0 % des laits contiennent moins de 180 spores de *Clostridium* par litre.

Selon CHYE et *al.*, (2004), les bactéries peuvent entrer dans le lait pendant qu'il est encore dans la mamelle mais la plupart des microorganismes retrouvés dans le lait cru sont des contaminants provenant de la surface externe de la mamelle, des ustensiles de traite et des trayeurs.

La corrélation entre les différentes flores d'une part et entre ces flores et la température de stockage des 192 échantillons de lait cru est relativement faible, seules deux corrélations significatives positives entre des niveaux élevés en coliformes thermotolérants ou en *S. aureus* et la température de stockage du lait sont démontrées. Le temps qui sépare l'arrivage du lait dans les points de vente et la réalisation des prélèvements, est identique pour tous les échantillons et dans les deux régions (trois heures et demie). C'est pour cette raison, que nous n'avons pas étudié l'influence de la durée de conservation du lait sur la croissance bactérienne.

Ces faibles corrélations enregistrées entre les différentes flores dénombrées lors de cette étude ont été observées par plusieurs auteurs (JAYARAO et *al.*, 2004 ; EL MOSLEMANY et *al.*, 2009). Elles supposent que chaque dénombrement fournit des informations variables en relation avec les pratiques de la traite et les sources possibles des contamination ou de multiplication bactérienne et qu'aucun dénombrement ne permet de prédire l'autre (EL MOSLEMANY et *al.*, 2009).

La température de stockage du lait joue un rôle primordial sur la croissance bactérienne. *S. aureus* se cultive à des températures comprises entre 6 °C et 46 °C (température optimale :

37 °C) et la toxinogénèse intervient dans des conditions un peu plus restrictives que celles requises pour la croissance (DE BUYSER, 1996). Les déjections des bovins constituent le principal réservoir des coliformes thermotolérants en particulier de l'espèce *Escherichia coli* qui se multiplie à des températures comprises entre 4 °C et 46 °C, avec un optimum de croissance à 37 °C (FEDERATION INTERNATIONALE DE LAITERIE, 1993).

V.3. Contamination du lait par les inhibiteurs bactériens

Selon l'arrêté interministériel (1998), un lait de bonne qualité ne doit pas contenir des inhibiteurs bactériens. Mais les résultats de cette étude ont montré que : 30,6 % (soit 110/360) des prélèvements du lait de pis, 26,4 % (soit 14/53) des prélèvements du lait du chariot trayeur, 18,9 % (soit 10/53) des prélèvements du lait des cuves et 28,7 % (soit : 55/192) des échantillons de lait cru des points de vente contenaient des inhibiteurs bactériens. Ces chiffres traduisent l'ampleur de l'utilisation des antibiotiques dans les fermes laitières où le lait est collecté, et donc le risque lié majeur sur la santé des consommateurs.

La méthode de détection des résidus utilisée dans cette étude repose sur le Delvotest SP-NT, ce test a été validée conformément à la norme internationale ISO / IDF 183. Les limites de détection pour 10 substances antimicrobiennes (pénicilline, l'ampicilline, l'amoxicilline, céphapirine, ceftiofur, la cloxacilline, la sulfadiazine, l'oxytétracycline, la néomycine et érythromycine) ont été trouvés comparables avec les limites maximales européennes de résidus (STEAD et *al.*, 2008). Cependant cette méthode basée sur l'inhibition microbienne peut donner des résultats faux positives en cas présence des agents antimicrobiens naturels dans le lait à des concentrations supérieures tel que rapporté par NAVRATILOVA (2008).

Ces résultats rejoignent ceux annoncés par SRAIRI et *al.*, (2004) qui signalent un taux de l'ordre de 25,0 % d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru. En revanche, ils sont nettement inférieurs à ceux de ZINEDINE et *al.*, (2007) au Maroc, où 42,87 % des échantillons sont contaminés par des inhibiteurs bactériens.

La présence d'inhibiteurs bactériens à un taux élevé dans le lait, peut probablement s'expliquer, d'une part, par l'usage massif et incontrôlé des préparations pharmaceutiques intra-mammaires et, d'autre part, par un ajout volontaire des inhibiteurs de croissance des bactéries tels les antibiotiques et ce, pour stabiliser le lait.

V.4. Identification et caractéristiques des isolats de *S. aureus*

La caractérisation des souches étudiées a été principalement faite par la recherche de gène *nuc* et la détermination de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).

La méthode de diffusion en milieu gélosé de Mueller Hinton a été utilisée en routine pour la sélection de souches sensibles et résistantes aux antibiotiques testés.

Le *S. aureus* est considérée parmi les bactéries Gram positif qui offre le plus de résistance à l'antibiothérapie, 60 % de souches sont productrices de β -lactamase (PERRIN-COULLILOUD et al., 1991).

La résistance des souches isolées vis-à-vis de la pénicilline G est confirmée pour toutes les souches avec 100 % de taux de résistance, les mêmes résultats ont été rapportés par BOUAZIZ (2005) à l'Est algérien et par BEN HASSEN et al., (2003) en Tunisie. En effet selon GUERIN-FAUBLEE et BRUN (1999), certaines souches de *S. aureus* synthétisent des pénicillinases, enzymes limitant l'action de certains antibiotiques.

La résistance à l'oxacilline est de 10,3 %, cette faible résistance du germe a été confirmée par les deux études menées par BEN HASSEN et al., (2003) et BOUAZIZ (2005).

Aucune résistance n'a été observée pour les 4 antibiotiques : céfoxitine, érythromycine, enrofloxacin et vancomycine. Les résultats obtenus sur l'antibiorésistance de ce germe vis à vis des 3 derniers antibiotiques testés par BEN HASSEN et al., (2003) sont identiques, 100 % des souches sont sensibles aux antibiotiques testés. Même résultat concernant l'érythromycine a été obtenu par BOUAZIZ (2005). En revanche, MERCIER et PELLET (2003), rapportent que des souches d'origine bovine en Grèce, ont présenté des résistances face à l'érythromycine. Les niveaux d'antibiorésistance varient suivant les pays et suivant les époques (MECIER et PELLET, 2003).

Une résistance remarquable est enregistrée vis-à-vis de la tétracycline, soit un taux de 22,4 %. Ce taux semble être inférieur à ceux rapportés par MORONI et al., (2006) qui affichent des taux de résistance à la tétracycline de l'ordre de 58,5 %. La tétracycline est largement utilisé sous forme de préparation intra-mammaires pour prévenir contre les mammites bovines, ce qui peut accroître la résistance des souches de *S. aureus* vis-à-vis de ce type d'antibiotique. En outre, cette molécule selon BEN MAHDI et OUSLIMANI (2009), occupe une place prépondérante dans la thérapeutique

Les souches de *S. aureus*, sont résistantes vis-à-vis de l'association triméthoprim + sulfaméthoxazole avec un taux de 18,9 %, par contre 77,6 % d'entre elles en sont sensibles.

Ce résultat diffère du résultat obtenu par BEN HASSEN (2003), 0 % de résistance. La résistance observée pour l'amoxicilline est de 32,8 %. Cette valeur reste inférieure à celle rapportée par ADWAN (2006), qui annonce un taux de résistance de l'ordre de 53 % contre l'amoxicilline. Selon MORONI *et al.*, (2006), cette résistance est due probablement à la production de β -lactamase, enzyme inactivant les antibiotiques appartenant à la famille de β -lactamine.

La recherche de gène *nuc* a été mise en évidence chez 135 des 138 souches de staphylocoque à coagulase positive. Ce qui corrobore les résultats de DEWANAND *et al.*, (2007) qui ont retrouvé ce gène chez 36 des 37 souches et de KRYSZYNA *et al.*, (2003) qui l'a identifié sur toutes les souches. Selon BRAKSTAD *et al.*, (1992), ce gène est spécifique pour *S. aureus*. Par contre une différence entre la longueur des amplicons probablement liée à la région du gène amplifiée et aux amorces spécifiques utilisées, a été notée (KIM *et al.*, 2001). En parallèle, nos résultats montrent que trois souches de staphylocoque à coagulase positive ne possèdent pas ce gène *nuc* (soit : deux souches isolées à partir du lait cru des cuves de stockage et une souche isolée à partir du lait cru des points de vente). Ces derniers résultats peuvent être expliqués que ces souches sont d'origine exogènes qui ont été contaminées le lait lors de mauvaises conditions hygiéniques de matériel et de la manipulation non hygiénique du lait.

V.5. Contamination du lait cru individuel par les *S. aureus* et facteurs de variation liés à la vache

➤ **Âge** : la présente étude montre l'augmentation de la fréquence des contaminations du lait chez les vaches âgées de 7 à 15 ans, avec un pic dans la tranche d'âge 13-15 ans. Parmi les facteurs qui pourraient expliquer la plus grande sensibilité des mamelles aux infections chez les vaches âgées de 7 à 15 ans, on peut signaler l'augmentation de la production de lait ainsi que l'accroissement du diamètre du canal du trayon. D'après BOUCHARD (2003), le risque de contamination du lait bovin augmente avec l'âge des vaches.

➤ **Niveau de production laitière** : nos résultats ont fait apparaître des taux de contamination de 39,7 % chez les vaches hautes productrices (volumes compris entre 15 et 20 litres par jour) et de 12,1 % à 29,3 % chez les vaches faibles productrices (de 0 à 15 litres de lait par jour). Il existe donc une corrélation entre l'augmentation de la fréquence des infections et le niveau de production laitière. Ainsi, malgré les mesures d'hygiène et la mise

en place du plan de lutte contre les contaminations, les infections mammaires restent un des problèmes majeurs en élevage laitier.

➤ **Numéro de lactation** : les échantillons les plus fréquemment rencontrés contaminés étaient ceux issus de vaches multipares (5 à 11 gestations), qui présentaient un taux de contamination oscillant entre 24,1 % et 36,2 % avec un pic chez les vaches dont le numéro de lactation était compris entre 9 et 11 (36,2 %). Le taux de contamination diminuait avec la diminution du numéro de lactation. Ces résultats peuvent être expliqués par :

- ✓ la diminution de la défense immunitaire liée à l'augmentation du numéro de lactation.
- ✓ La forme de la mamelle, les mamelles très développées de type pendulaire étant plus sensibles aux infections car plus exposées aux souillures et traumatismes.

➤ **Stade de lactation** : les fréquences respectives de contaminations observées pendant les différentes phases de lactation étaient les suivantes : 34,5 % en début de lactation, 27,6 % en pic de lactation, 37,9 % avant le tarissement. Ces résultats sont confirmés par d'autres auteurs:

- ✓ En cours de lactation (mis à part le début), le risque de contamination par les staphylocoques augmente avec la progression de la lactation (GUERIN, 2003).
- ✓ La période de lactation est surtout caractérisée par l'augmentation très nette du taux de nouvelles infections liées aux germes d'origine mammaire. On observe que 80 % des infections persistent jusqu'au tarissement et 10 % de quartiers assainis durant la lactation le demeurent pendant le reste de la lactation (HANZEN et CASTAIGNE, 2002).

➤ **La race** : les résultats de l'analyse bactériologique conduite dans le cadre de la présente étude ont montré que 62,1 % des prélèvements de lait contaminés provenaient de vaches laitières améliorées, et 37,9 % de vaches locales. GUERIN en 2003, estime que le bétail hautement laitier pie rouge est davantage exposé à un plus grand nombre de contaminations. La fréquence de contamination est en relation avec le niveau de production laitière.

➤ **Forme des trayons** : la fréquence de contamination du lait par les *S. aureus* variait selon la forme des trayons, avec les fréquences respectives suivantes : 56,9 % (soit 33/58) chez les vaches qui possédaient des trayons cylindriques et 43,1 % (soit 25/58) chez les vaches qui possédaient des trayons en forme d'entonnoir. Cette dernière forme évite les phénomènes de « grimpage » des gobelets trayeurs.

V.6. Impact de la consommation du lait cru sur la santé des consommateurs

L'étude de l'impact de la consommation du lait cru sur la santé des consommateurs montre que 45,4 % (soit 54/119) d'entre eux ont présenté des toxi-infections alimentaires (TIA) après consommation du lait cru sans aucun traitement thermique contre seulement 5,6 % après traitement thermique.

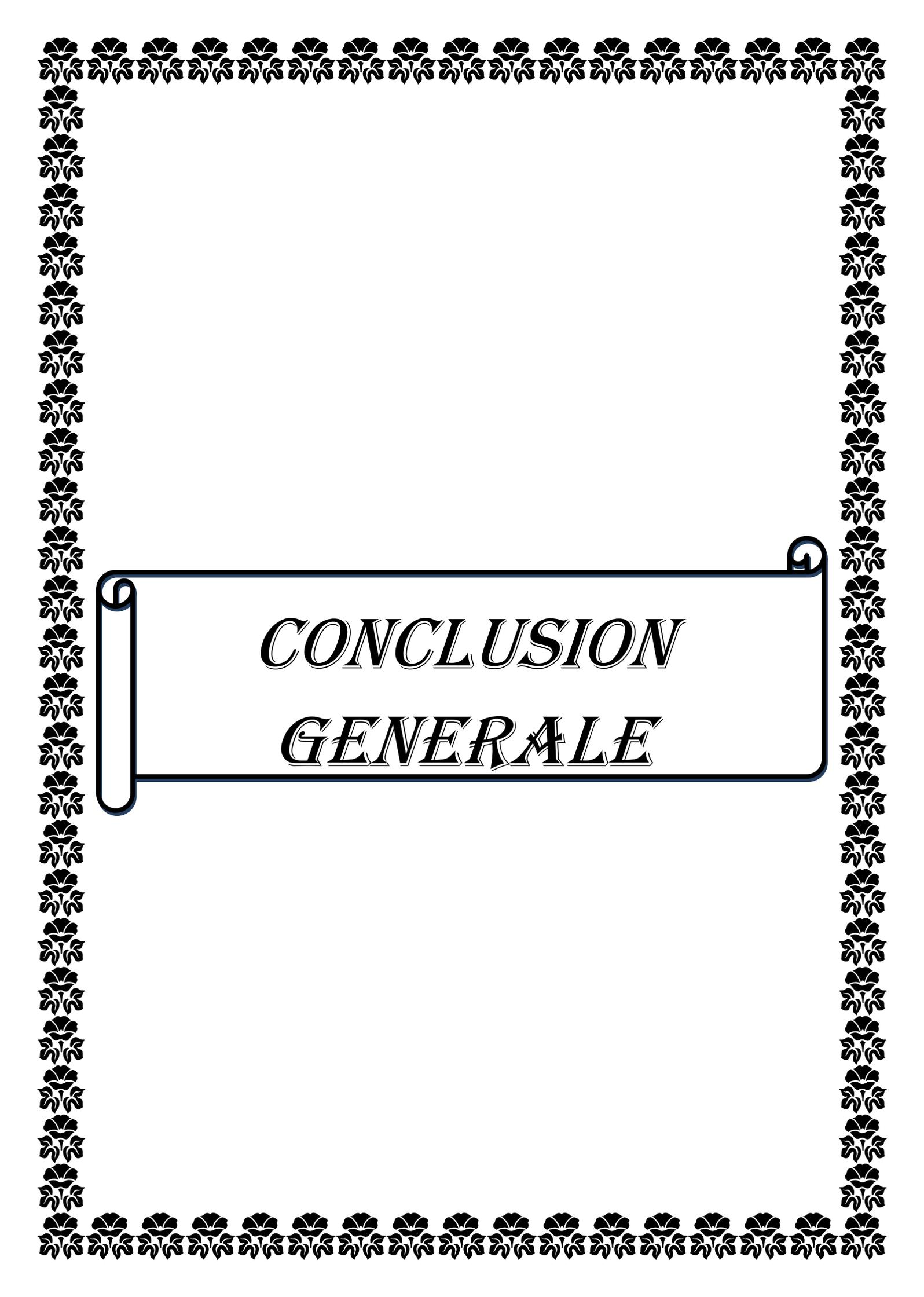
Selon CHAUBEAU (1992), les TIAC liées à la consommation du lait cru résultent de l'action des toxines produites directement dans l'aliment (les entérotoxines staphylococciques) ou après l'ingestion de l'aliment.

La gravité des symptômes est en relation avec la dose des toxines et de la sensibilité individuelle (DE BUYSER et *al.*, 1997).

La présence des coliformes thermotolérants dans le lait indique la présence possible de micro-organismes entéropathogènes responsables d'une gastroentérite. Certains *Escherichia coli* font partie de ce groupe (COMMISSION DES COMMUNAUTES EUROPEENNES, 1992).

Des critères de différenciation basés sur leurs sérotypes, leurs virulences et leurs conséquences cliniques ont permis de classer ces souches pathogènes en quatre groupes : les *E. coli* entéropathogènes (EPEC), les *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC), les *E. coli* entéro-invasifs (EIEC) et les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) (GOUALI et WEILL, 2012).

Le respect des règles d'hygiène à la ferme et le contrôle des laits lors de leurs mises sur le marché peut permettre de réduire le nombre de toxi-infections d'origine alimentaire dues à la consommation de ces produits (COMMISSION DES COMMUNAUTES EUROPEENNES, 1992). Le traitement thermique du lait cru avant la consommation constitue ainsi une des méthodes efficaces pour diminuer le nombre de ces TIA.

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the page. The motifs are stylized, symmetrical designs, possibly representing flowers or leaves, arranged in a continuous line.

CONCLUSION
GENERALE

CONCLUSION GENERALE

A la lumière de cette étude, l'importance de la charge bactérienne du lait cru prélevé tout le long de la chaîne de production à la ferme et aux points de vente, n'est que le résultat de contaminations et multiplications successives associées aux mauvaises conditions hygiéniques lors de la traite à la ferme, au cours du transport et sur les lieux de vente.

Au vu des normes algériennes, la qualité hygiénique de tous les échantillons analysés, est mauvaise. Sur le plan nutritionnel, l'accroissement des activités métaboliques microbiennes conduit à un abaissement de la valeur nutritionnelle du lait et de ses dérivés, du fait de la dégradation de ses constituants. Sur le plan technologique, ces laits crus sont considérés comme fortement pollués et risquent de compromettre le bon déroulement des opérations de transformation fromagère, notamment lors de la pasteurisation, avec un risque de coagulation du lait. Sur le plan sanitaire, la présence de germes responsables d'intoxication alimentaire tels que *S. aureus* peut devenir un problème de santé publique même pour le lait traité thermiquement par la suite, si des mesures ne sont pas prises pour éviter les contaminations.

La recherche des niches de contamination sur tout le circuit du lait cru a montré que les contaminations bactériennes primaires proviennent des mamelles, des mains des trayeurs et les gobelets trayeurs. Les ustensiles, l'environnement et l'eau utilisée au cours de la traite constituent les sources de contamination secondaire du lait par les bactéries recherchées. De plus des inhibiteurs bactériens ont été détectés dans les échantillons de lait analysés avec des proportions remarquables qui peuvent s'expliquer d'une part par l'usage inapproprié et intense de médicaments vétérinaires en élevages bovins laitiers, mais d'autre part, par le non respect des délais d'attente entre l'administration de l'antibiotique à l'animal et la collecte du lait. De ce fait, le contrôle de ces inhibiteurs bactériens doit constituer une préoccupation future aussi bien pour les producteurs et les transformateurs que pour les autorités chargées de la santé publique et de la protection des consommateurs.

Les techniques de PCR utilisées nous ont permis d'identifier et de mettre en évidence les souches de *S. aureus* isolés de lait cru de la ferme et des points de vente. Ces méthodes, peuvent servir à valider l'identification rapide des isolats de *S. aureus*, élément, important dans le diagnostic étiologique rapide de cette espèce bactérienne, utile pour la mise en œuvre d'un traitement précoce.

Pour cela, pour améliorer la qualité du lait cru, différentes mesures d'hygiène dans les étables et lors de la traite doivent être appliquées d'autant plus rigoureusement et systématiquement par les éleveurs que l'environnement des animaux est très contaminé. La réduction de cette

contamination de l'environnement implique des pratiques de stockage et d'épandage des déjections permettant d'éviter le recyclage des bactéries et leur dissémination. Cela suppose être difficile sans la participation et la bonne vulgarisation de l'information auprès des éleveurs. La qualité hygiénique du lait cru à la vente peut être également améliorée par l'instauration d'une politique de traçabilité et de bonnes pratiques pour l'utilisation des antibiotiques dans la filière laitière afin d'assurer la salubrité durant toute la chaîne de production du lait.

De plus, les perceptions de la qualité du lait, le système de distribution actuel et les modes de consommation directe du lait non pasteurisé augmentent considérablement les risques sanitaires. Pour gérer ces risques deux stratégies ont été étudiées. Il s'agit de la mise en œuvre du contrôle systématique du lait en vue de baisser la prévalence de la commercialisation du lait contaminé et de la mise en œuvre d'une campagne de sensibilisation sur le chauffage du lait pour réduire le nombre de consommateurs de lait cru.

La prévention des toxi-infections d'origine alimentaires à staphylocoques passe par la mise en place d'un programme d'action contre les mammites bovines, le maintien du lait à température de réfrigération et le strict respect des règles d'hygiène lors des manipulations à la ferme et aux points de vente, afin de limiter le nombre de *S. aureus* présentes dans le lait.

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the page. The motifs are stylized, symmetrical designs with multiple petals and a central stem, arranged in a continuous line.

RECOMMENDATIONS

RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude, il est important de souligner la nécessité de lancer un programme de recommandations nécessaire pour la production, la commercialisation et la consommation du lait cru :

a). Aux éleveurs :

Il s'agit d'éviter les infections mammaires en agissant sur les germes, les mécanismes de leur transmission aux trayons et les facteurs de réceptivité de la mamelle :

- ✓ Réaliser l'épreuve du bol de la traite si la présence de grumeaux (mammite clinique).
- ✓ Information des éleveurs par les vétérinaires sur les incidences de la contamination du lait sur la production des vaches.
- ✓ Séparer les espèces animales différentes par des enclos.
- ✓ Veiller à un approvisionnement convenable en eau propre. Faire en sorte que l'eau donnée aux animaux soit de bonne qualité.
- ✓ Traiter le quartier après trois traites consécutives minimum.
- ✓ Ne tarir la vache que lorsque le lait est redevenu normal.
- ✓ Ne jamais tarir un quartier atteint de mammite clinique.
- ✓ S'assurer de la bonne santé des animaux produisant du lait par un suivi sanitaire efficace.
- ✓ Appliquer les substances et les médicaments vétérinaires conformément aux prescriptions et respecter les délais d'attente requis.
- ✓ Veiller à ce que les pratiques de traite n'entraînent pas de contamination du lait.
- ✓ Laver et essuyer les trayons de chaque vache avant la traite.
- ✓ Désinfecter l'ostium des quatre trayons pendant 20 secondes (tampon imbibé d'alcool 70° ou serviette désinfectante présentes dans certaines préparations).
- ✓ Veiller à maintenir propre le lieu de la traite et que les trayeurs suivent bien les règles de base d'hygiène.
- ✓ Procéder à une dernière traite complète en évitant l'égouttage qui sera remplacé par l'élimination manuelle des derniers jets de lait (lait résiduel).
- ✓ Pendant la période sèche surveiller régulièrement la mamelle (qui doit rester souple et sans inflammation apparente). Cette surveillance est importante pendant les deux premières semaines du tarissement.
- ✓ Jeter le lait des animaux malades ou sous traitement.
- ✓ Veiller à ce que les ustensiles de traite soient correctement lavés et désinfectés.

- ✓ Procéder à un dernier trempage des quatre trayons afin d'éviter une contamination ascendante pendant les 30 min qui suivent la traite.
- ✓ Mettre en place un système de refroidissement rapide du lait après la traite.
- ✓ Réduire au minimum le risque de pollution de l'environnement par les déchets.

b). Aux vendeurs :

- ✓ Éviter le mélange du lait provenant de fermes différentes.
- ✓ Entreposer des laits à des températures et dans des conditions adéquates au cours de la vente.
- ✓ Hygiène des manipulateurs des laits destinés à la consommation humaine.
- ✓ Bien laver les ustensiles de vente du lait.

c). Aux vétérinaires praticiens :

- ✓ Contrôle du lait depuis la production jusqu'à la consommation.
- ✓ Analyses bactériologiques pour déterminer les bactéries responsables de la contamination du lait au cours de la vente et élimination des laits de vache en cas de la positivité.
- ✓ Amélioration de l'encadrement des acteurs de la filière laitière locale et améliorée par une initiation aux Bonnes Pratiques d'Hygiène (BPH) et aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) liées à la propreté des animaux, de leur environnement et la salubrité de la traite (trayeur, ustensiles de traite).

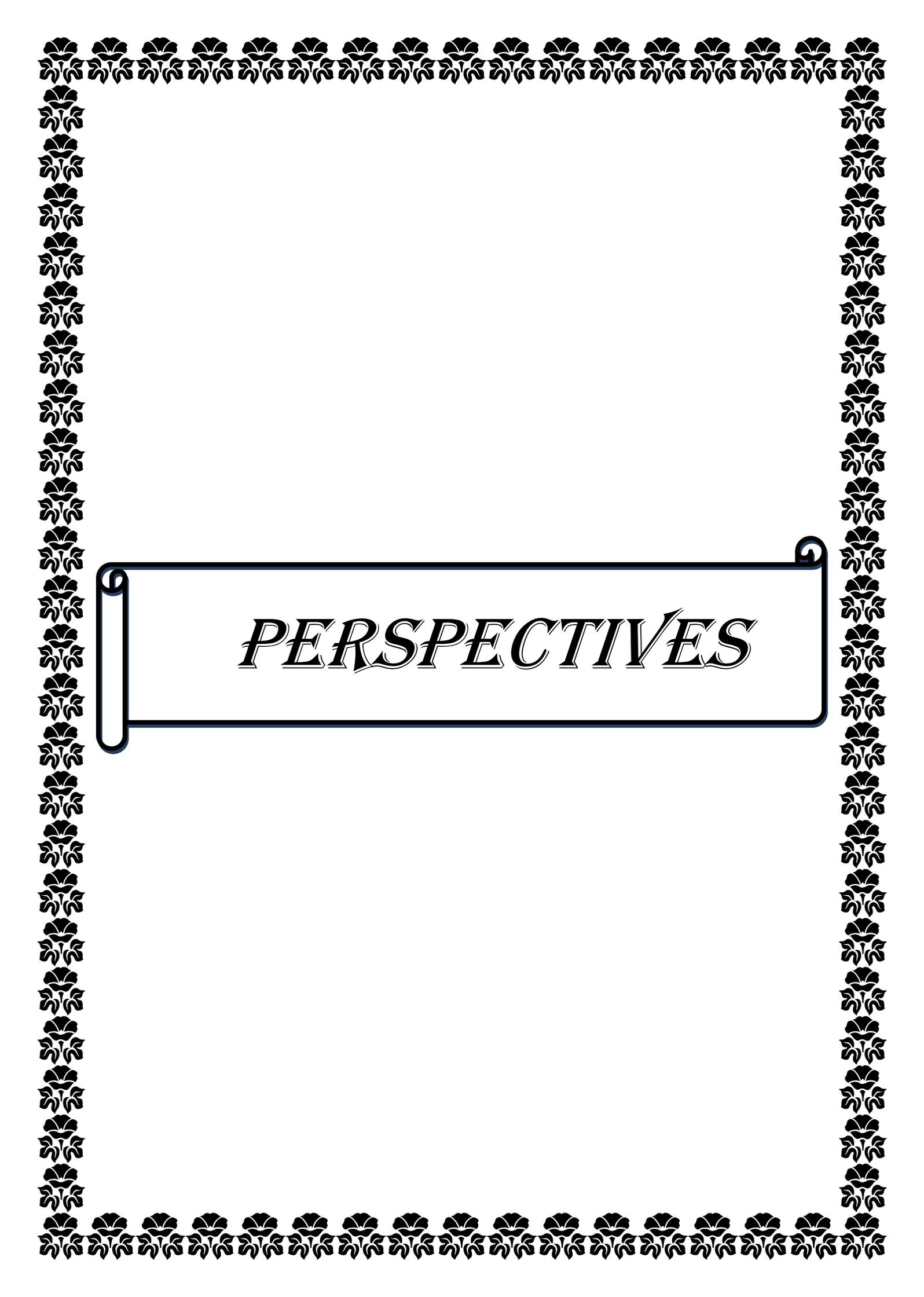
d). Aux consommateurs :

La lutte intensive contre les accidents alimentaires doit être entreprise, par des mesures d'hygiène bien appliquées, à savoir la sensibilisation de la population sur les règles d'hygiène élémentaires par tous les moyens d'information.

Enfin, une collaboration entre les services de la santé publique et ceux de la santé animale est indispensable et complémentaire pour un meilleur contrôle de la contamination du lait par les bactéries responsables des TIAC.

❖ Cette étude présente plusieurs avantages que sont :

- ✓ L'utilisation d'une approche inter et transdisciplinaire (la microbiologie, la biologie moléculaire, l'épidémiologie, la santé publique, la sociologie).
- ✓ L'évaluation des risques prenant en compte plusieurs agents pathogènes à la fois.

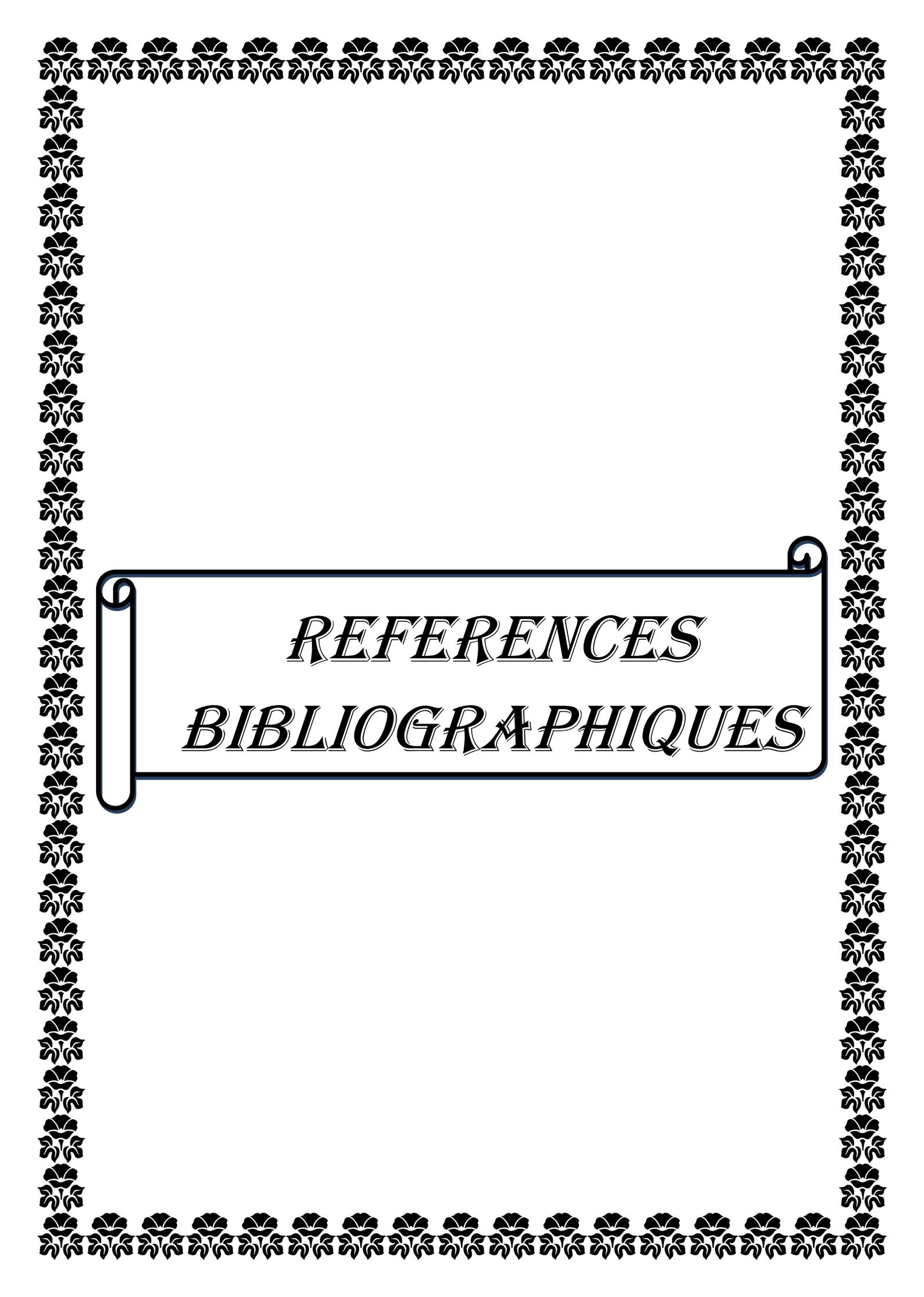
A decorative border consisting of a repeating pattern of stylized floral motifs, possibly roses or similar flowers, arranged in a rectangular frame around the page.

PERSPECTIVES

PERSPECTIVES

Nous proposons enfin, comme perspectives à ce travail :

1. Une continuation des études se rapportant à des contaminations du lait cru tout au long de la chaîne de production laitière, à la nature et à la fréquence des germes responsables dans un but d'évaluer leur évolution dans le temps (diminution ou recrudescence) et de savoir les facteurs de risque responsables de différentes contaminations.
2. Une enquête ultérieure serait intéressante afin d'étudier, d'une part, les corrélations entre les conditions de conservation du lait cru et les contaminants bactériens, et d'autre part, le risque de la présence de ces contaminants sur la santé de consommateurs.
3. Une étude de l'influence des facteurs de variation liés à la vache sur le taux de contamination bactériens du lait cru individuel.
4. Une évaluation de l'importance des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de tank de chaque producteur ou dans chaque point de vente.
5. Réaliser l'évaluation de l'utilisation de la technique de PCR pour la détection rapide des *S. aureus* dans le lait cru par la recherche de gène *nuc*.
6. Une diffusion des données que nous avons recueillies au cours de cette étude.

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the page. The motifs are stylized, symmetrical designs, possibly representing flowers or leaves, arranged in a continuous line.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ADWAN G.M. 2006.** Antibiotic resistance against Staphylococcal isolates recovered from subclinical mastitis in the north of Palestine ». *The Islamic University Journal.*, 14, 1-9.
2. **AFIF A., FAID M. & NAJIMI M. 2008.** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Rev. Biol. Biotechnol.*, 7, 2-7.
3. **AFSSA. 2005.** Fiche sécurité alimentaire de *S. aureus*. Site : www.afssa.fr/ftp/afssa/fiches/mic/staphiloquoque/Fiche.htm. Date de consultation : 04/11/2013.
4. **AGENCE NATIONALE DE DEVELOPPEMENT DE L'INVESTISSEMENT (ANDI). 2015.** Situation géographique de la région de Blida et de Jijel. Site : www.andi.dz/PDF/monographies/Blida & Jijel.pdf. Date de consultation : 20/03/2015.
5. **AGGAD H., MAHOUZ F., AHMED A.Y. & KIHAL M. 2009.** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Rev. Méd. Vét.*, 160, 590-595.
6. **AGGAD H., BRIDJA M., AEK B., BENAOUALI M. & DJEBLI A. 2010.** Some quality aspects of pasteurized milk in Algeria. *World J. Dairy Food Sci.*, 5, 21-24.
7. **AMHOURI, F., SAID B., HAMAMA, A., ZAHAR M. 1998.** Qualité microbiologique du lait cru : Cas de la région d'Errachidia. *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc).*, 18, 31-35.
8. **ANONYME 1, 2014 :** Staphylocoques. Site: www.google.staphylocoques/image. Date de consultation : 06/12/2014.
9. **ANONYME 2, 2014 :** Colonie de staphylocoque sur le milieu de Baird Parker. Site: www.google.colonies staphylocoques/image. Date de consultation : 06/12/2014.
10. **ANONYME 3, 2015 :** La carte géographique de l'Algérie. Site: www.google.carte d'Algérie/ image. Date de consultation : 13/2/2015.
11. **ARNAL GUY. 2003.** Sources et caractère entérotoxigènes des staphylocoques en élevage bovin laitier. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, l'Université Paul-Sabatier, 14-17.
12. **ARRETE INTERMINISTERIEL. 1993.** Spécifications et présentation de certains laits de consommation. *JORADP.*, 35. 16 p.
13. **ARRETE INTERMINISTERIEL. 1998.** Spécifications microbiologiques de certaines denrées. Ministère du commerce. *JORADP.*, 35. 18 p.
14. **ASPERGER H. & ZANGERL P. 2003.** *Staphylococcus aureus*. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Amsterdam, Boston, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo pp: 2563-2569.

15. **AWWA. 1990.** Water quality and treatment. American Water Works Association, 4e édition, 1194 p.
16. **BALABAN N. & RASOOLY A. 2000.** Staphylococcal enterotoxins.- *Int J Food Microbiol.*, 61, 1-10.
17. **BAREILLE N. & LEMARCHAND F. 2004.** La désinfection des trayons avant et après la traite ; comment choisir les méthodes et les produits ? Dossier spécial : hygiène de la mamelle et traitement des mammites. *Bull. GTV.*, 24, 21–27.
18. **BARKEMA H.W., SCHUKKEN Y.H., LAM T.J., BEIBOER H.L., WILMINK H., BENEDICTUS G. & BRAND A. 1998.** Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell count. *J. Dairy Sci.*, 81, 411-9.
19. **BEN HASSEN S., MESSADI L. & BEN HASSEN A. 2003.** Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. *Ann. Méd. Vét.*, 147. 41-47.
20. **BEN MAHDI M. & OUSLIMANI S. 2009.** Mise en évidence des résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'Algérois. *European Journal of Scientific Research.*, 3, 357-362.
21. **BERGONNIER D., BLANC M.C., FLEURY B., LAGRIFFOUL G., BARILLET F. & BERTHELOT X., 1997.** Les mammites des ovins et des caprins laitiers : étiologie, épidémiologie et contrôle. *Renc. Rech. Rum.*, 4, 251-260.
22. **BERTHELOT X., LEBRET P. & PETIT C. 1987.** Les infections mammaires de la vache laitière. Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 192 pages.
23. **BERRY E. A., HILLERTON J. E. 2002.** The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. *J. dairy Sci.*, 85, 112-121.
24. **BLOOD D.C.& RADOSTITS O.M. 2000.** Veterinary Medicine. A text book of the disease of cattle, cheep, pigs, goats and horses. 7^{ième} édition. London : Baillière Tindall.
25. **BONFOH B., ROTH C., TRAORE A.N., FANE A., SIMBE C.F., ALFAROUKH I.O., NICOLET J., FARAH Z. & ZINSSTAG J. 2006.** Effect of washing and disinfecting containers on the microbiological quality of fresh milk sold on Bamako. *Food Control.*, 17, 153-161.

- 26. BOUAZIZ O. 2005.** Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat en pathologie de la reproduction. Département des Sciences Vétérinaires. Université de Constantine. 156-188.
- 27. BOUCHARDE. 2003.** Cours de pathologie mammaire, Faculté de Médecine Vétérinaire de Montréal, 11, 15-20.
- 28. BOUDRY BENJAMIN. 2005.** Journée d'étude des AREDB d'Aubel, de Herve- Fléron- Visé et de Montzen et de la Région wallonne - DGA - Direction du Développement et de la vulgarisation. Henri Chapelle le 29 novembre 2005.
- 29. BOURGEOIS C.M. 1996.** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Tome 1. Editions Tec et Docs, Paris, 672 p.
- 30. BRAKSTAD O.G., AASBAKK K., & MAELAND J.A. 1992.** Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 1654 -1660.
- 31. BRETT M.M. 1998.** Kits for the detection of some bacterial food poisoning toxins: problems, pitfalls and benefits. *J Applied Microbiology Symposium Supplement.*, 84, 110 - 118.
- 32. BRISABOIS A., LAFARGE V., BROUILLAUD A., DE BUYSER M.L., COLLETTE C., GARIN B.B. & THOREL M.F. 1997.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. *Rev. Sci. Tech., Off. Int. Epiz.*, 16, 2, 452-471.
- 33. CEAEQ. 2000.** Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24 p.
- 34. CELINE PUJOL-DUPUY. 2004.** Accidents alimentaires d'origine bactérienne liés à la consommation de laits et produits laitiers. Thèse de doctorat vétérinaire, ENV, Lyon, 191.
- 35. CHAUBEAU D.C. 1992.** Toxi-infections alimentaires d'origine staphylococcique. *Point Vét.*, 148, 33-40.
- 36. CHIKAHIRA M. & HAMADA K. 1998.** *Jpn. J. Vet. Sci.*, 50, 865-873.
- 37. CHYE F., ABDULLAH A. & AYOB M. 2004.** Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiol.*, 21, 535-541.

- 38. COMMISSION DES COMMUNAUTES EUROPEENNES. 1992.** Les règles sanitaires pour la production et la mise sur le marché du lait cru, de lait traité thermiquement et de produits à base de lait : directive 92/46/CEE. *J. off. Comm. Européennes.*, L 268/1, 14.09.1992.
- 39. CORPET D., 2014.** Cours HIDAOA, les Toxi-infection Alimentaires collectives. Site : <http://Corpet.net/Denis>. Date de consultation: 24/08 2015
- 40. DE BUYSER M.L. LAPEYRE C. 1994.** Mammites à staphylocoques et sécurité alimentaire.- *Le Point Vétérinaire*, 26, numéro spécial « Ruminants et santé publique », 79-82.
- 41. DE BUYSER M.L. 1996.** Les staphylocoques. In : Bourgeois C., Mesclé J.F. (édit), *Microbiologie alimentaire*. Tome 1. Lavoisier, Paris, 106-119.
- 42. DE BUYSER M.L., LAPEYRE C., DILASSER F., JANIN F. 1997.** Le point sur les TIAC à staphylocoques : foyers déclarés et résultats de l'analyse d'aliments suspects. In : (P. Colin P., (édit), *Actes du colloque « Faut-il craindre les microorganismes présents dans les aliments ? »*, Paris, 13-14 mars 1997, 7-16.
- 43. DEWANAND R.K., YUVARAJ S., NIYIN V.K. & KAPILK.C. 2007.** sukhadeo B.B. PCR-based detection of gens encoding virulence determinants in *Staphylococcus aureus* from bovine subclinical mastitis cases. *J.Vet. Sci.*, 8, 151-154.
- 44. DINGES M., ORWIN P., SCHLIEVERT P. 2000.** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev.*, 13 : 16-34.
- 45. DONKOR E S., ANING K. & QUAYE J. 2007.** Bacterial contaminations of informally Marketed raw milk in Ghana. *Ghana Med. J.*, 41, 58-61.
- 46. EDBERG S.C, RICE E.W., KARLIN R.J. & ALLEN M.J. 2000.** *Escherichia coli* : the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microb.*, 88, 106-116.
- 47. EICHER R., SUTTER L.B. & GERBER L. 2002.** Mammites subcliniques dans les troupeaux laitiers. Contrôler les mammites à *Staphylococcus aureus*. *Le point vét.*, 228, 50-54.
- 48. EL MOSLEMANY A.M., KEEFE G.P., DOHOO I.R. & DINGWELL R.T. 2009.** Microbiological quality of tank raw milk in Prince Edward Island dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 92, 4239 - 4248.
- 49. ELMUND G.K., ALLEN M.J. & RICE E.W. 1999.** Comparison of *Escherichia coli*, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency. *Water Environ. Res.*, 71, 332-339.

- 50. EUZEBY J.P. 2005.** Index alphabétique des taxons. Site : www.bacterio.cict.fr/baccico/nomstaxons.html. Date de consultation : 11/05/2012.
- 51. FABRE J.M., MORVAN H., LEBREUX B., HANFFSCHMITT P., BERTHELOT X. 1997.** Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France. Article 2. Mammite subclinique. *G T V.*, 573, 9-15.
- 52. FABRE J.M., BERTHELOT X., BOUSQUETE., LAUMONNER G. & SEEGER H. 1999.** Traitement des mammites subcliniques en lactation. *Bulletin des GTV.*, 01, 49-56.
- 53. FAO. 1995.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.
- 54. FAROUGOU S., KPODEKON T.M., SESSOU P., YOUSAO I., BOKO C., YEHOUENOU B. & SOHOUNHLOUE D. 2011.** Qualité microbiologique du lait cru de vache élevée en milieu extensif au Bénin. In : Université d'Abomey-Calavi, Acte du 3e colloque des sciences, cultures et technologies de l'UAC-Bénin, Akassato, 6-10 juin 2011, 323-336.
- 55. FAYE B. & LOISEAU G. 2000.** Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. In : Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, Montpellier, 11-13 décembre 2000, 11-13.
- 56. FEDERATION INTERNATIONALE DE LAITERIE F40. 1993.** Microbiological safety of raw and unpasteurized milk and milk products. Document n° 223, supplément. Fédération internationale de laiterie : Bruxelles, 32 p.
- 57. FETHERSON C.M., LEE C. & HARTMANN P.E. 2001.** Mammary gland defense : the role of colostrums, milk and involution secretion. *Advances in nutritional research.*, 10, 8, 167-198.
- 58. FLEURETTE J. 2000.** Taxonomie et écologie des staphylocoques à coagulase négative. *Méd. Mal. Inf.*, 90, 6-15.
- 59. FLEMING A. 2014.** Toxi-infections alimentaires (TIAC) en région Rhône-Alpes. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, université Claude-Bernard - Lyon I, 306 p.
- 60. FOURNIER C., KUHNERT P., FREY J., MISEREZ R., KIRCHHOFER M., KAUFMANN T., STEINER A., GRABER H.U. 2008.** Bovine *Staphylococcus aureus*: Association of virulence genes, genotypes and clinical outcome. *Research in Veterinary Science.*, 85, 439-448
- 61. GHAZI K. & NIAR A. 2011.** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura.*, 29, 193-196.

- 62. GOUALI M. & WEILL F.X. 2012.** Les *Escherichia coli* entérohémorragiques : des entérobactéries d'actualité. *Presse Med.*, 42, 68-75.
- 63. GOURREAU J.M. 2001.** Machines à traire et mammites, Editions France Agricole, élevage rentabilité, 67-72.
- 64. GUERIN A. 2003.** Mise en place d'une démarche de rationalisation du traitement des mammites des vaches laitières. Description des pratiques des éleveurs et des vétérinaires à la mise en place de l'action GTV partenaire en région Rhône-alpes. Thèse Médecine vétérinaire, Nantes, 2003.
- 65. GUERIN-FAUBLEE V. & BRUN Y. 1999.** La résistance aux antibiotiques chez les staphylocoques d'origine animale. *Revue Med. Vet.*, 150, 299-312.
- 66. GUINOT-THOMAS P., AMMOURY M. & LAURENT F. 1995.** Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *Int. Dairy J.*, 5, 211-223.
- 67. GUIRAUD J.P. 2003.** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, Paris, 651 pages.
- 68. HANZEN C.H. 2006.** Pathologie infectieuse de la glande mammaire. Chapitre 24, 2ème doctorat 2005-2006: p 45. www.fmv.ulg.ac.Be/oga/index.
- 69. HANZEN C.H. 2007.** Lait et production. Chapitre 4, p 11. Site : www.fmv.ulg.ac.Be/oga/index. Date de consultation : 15/06/2013.
- 70. HANZEN C.H. 2010.** Pathologie infectieuse de la glande mammaire, étiopathogénie et traitements, approche individuelle et de troupeau, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège. Page web : www.fmv.ulg.ac.be/oga/formation, page 36-38. Date de consultation : 16/07/2014.
- 71. HANZEN C.H. & CASTAIGNE J. L. 2002.** Faculté de Médecine Vétérinaire. université de Liège, chapitre 30 : pathologie infectieuse de la glande mammaire, dernière mise à jour : 02/02/2002. Site : www.fmv.ulg.ac.Be/oga/index. Date de consultation : 16/07/2014.
- 72. HOGAN J.S. & SMITH K.L. 2003.** Coliform mastitis. *Vet. Res.*, 34, 507-519.
- 73. I.N.S.P. 2012.** Info-santé. Bulletin d'information de santé publique, Algérie.
- 74. INTERNATIONAL STANDARD ORGANISATION Norme ISO 6887-1. 1999.** Preparation of samples, the mother suspension and decimal dilutions to review microbiology – Part 1: general rules for the preparation of the stock suspension and decimal dilutions.
- 75. JAYARAO B.M., PILLAI S.R., SWANT A.A., WOLFGANG D.R. & HEGD N.V. 2004.** Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell count and bacterial count. *J. Dairy Sci.*, 87, 3561-3573.

76. **JEAN L.A. 1997.** Nouveau dictionnaire de bactériologie clinique. Nouvelle édition. Paris, 133-1137.
77. **KHALLAF M., BENBAKHTA B., NASRI I., SARHANE B., SENOUCI S., ENNAJI M. 2014.** Prévalence du *Staphylococcus aureus* isolé à partir de la viande de poulet commercialisée au niveau de Rabat, Maroc. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 7 (4) : 1665-1670.
78. **KIM C.H., KHAN M., MORIN D.E., HURELY W.L., TRIPATHY D.N., & KEHRLI J.M. 2001.** Optimisation of the PCR detection of *Staphylococcus aureus* nuc gene in bovine milk. *J. Dairy. Sci.*, 84, 74-83.
79. **KLOOS W.E. & BANNERMAN T.L. 1994.** Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin. Microbial. Rev.*, 7, 117-140.
80. **KOUAMÉ-SINA S.M., BASSA A., DADIÉ A., MAKITA K., GRACE D., DJE M., BONFOH B. 2010.** Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales.*, 8, 35-42.
81. **KOUAR F. 1979.** Intoxications alimentaires collectives en France. Thèse de doctorat en médecine vétérinaires, Lyon, 35-56.
82. **KRYSTYNA K., EDWARD M., HENRYKA L., & ANNA K. 2003.** Specific detection of *Staphylococcus aureus* by PCR in intrammary infection. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.*, 47, 183-190.
83. **LABIOUI H., LAAROUI E., BENZAKOUR A., EL YACHIOUI M., BERNY E. & OUHSSINE M. 2009.** Étude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*, 148, 7-16.
84. **LAMARCHE A., MARTIN B., HAUWUY A., BAPSTISTE COULON J., POUTREL B. 2000.** Evolution of milk somatic cell count of cows grazing an alpine pasture according to the infection of udder by pathogens. *Ann. Zootech.*, 49, 45-54.
85. **LAURENT S., MICHEL F. & JEAN L.J. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. Paris, 53-80.
86. **LEBRET P., BERTHELOT X. & PETIT C. 1986.** Les infections mammaires de la vache laitière. Tome I connaissances fondamentales, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 89pp.
87. **LEBRET P., BERTHELOT X. & PETIT C. 1990.** Connaissances fondamentales. Les infections mammaires de la vache laitière, 1, 49 pp.

- 88. LEDERER J. 1977.** Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. Tome II. Hygiène des aliments. 2^{ème} édition. Edition Maloine, Paris, 310.
- 89. LESCURT. 1951.** Pathogénie de certains empoignements alimentaires d'origine bactérienne. Thèse pour Doctorat Vétérinaire, Toulouse : 33.
- 90. LEYRAL G. et VIERLING É. 2007.** Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4^e édition Biosciences et techniques. 87 p.
- 91. M'SADAK Y., MIGHRI L. & KRAIEM K. 2010.** Étude de l'effet des conditions de traite sur la santé mammaire des vaches laitières et estimation des pertes en lait consécutives dans la région de Mahdia en Tunisie. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 63, 35-39.
- 92. M'SADAK Y., MIGHRI L. & KRAIEM K. 2011.** Etude de la situation sanitaire mammaire à partir des taux cellulaires de troupeau et estimation des pertes lactées engendrées chez des ateliers bovins hors sol en Tunisie. *Revue «Nature & Technologie».*, 04, 08-14.
- 93. M'SADAK Y., MIGHRI L., BEN OMRANE H. & KRAIEM K. 2012.** Evaluation des chantiers et des équipements de traite chez des élevages bovins laitiers hors sol dans la région de Monastir, *Revue «Nature & Technologie».*, 07, 96-101.
- 94. MAKOVEC J.A. & RUEGG P.L. 2003.** Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *Journal of Dairy Sci.*, 86, 3466 – 3472.
- 95. MAÏDI A., 2012.** L'Observatoire national de la sécurité alimentaire sera-t-il un jour opérationnel?. El Watan du samedi 6 octobre 2012.
- 96. MAURY M. 1987.** Milieux et réactifs de laboratoire. Microbiologie et immunologie Diagnostic Pasteur : Paris, 727 p.
- 97. MERCIER P. & PELLET M.P. 2003.** Evolution de l'antibiorésistance de souches de *Staphylococcus aureus* d'origine caprine en France. *Revue Méd. Vét.*, 4, 277-280.
- 98. MENNANE Z., OUHSSINE M., KHEDID K. & ELYACHIOUI M. 2007.** Hygienic quality of raw cow's milk feeding from waste in two regions in Morocco. *Int. J. Agric. Biol.*, 9, 46-48.
- 99. MEYRAND A. 1999.** Analyse et maîtrise du danger lié aux staphylocoques dans les fromages au lait cru de chèvre. Thèse Doc. Univ., Lyon, 107pp.

- 100. MHONE T A., MATOPE G. & SAIDI P T. 2011.** Aerobic bacterial, coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. *International J. of Food Microbiol.*, 151, 223 – 228.12.
- 101. MIALOT J.P. 1983.** Technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique. *Rec. Méd. Vét.*, 159, 1057–1058.
- 102. MICHEL M., ROMAIN J. & GERARD. 2000.** Initiation à la technologie fromagère. Edition technique et documentation. Lavoisier. Paris. Cedex 08. 180 pages.
- 103. MICHEL V., HAUWUY A. & CHAMBA J.F. 2001.** La flore microbienne de laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. *INRA, EDP Sci.*, 81, 575-592.
- 104. MIETON B., DESMAZEAUD M., DE ROISSARD H. & WEBER F. 1994.** In : les bactéries lactiques (1994), vol II, Edition Loriga, Uriage, France, p 55-133.
- 105. MOCQUOT G. & GUITTONNEAU G. 1939.** Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée aux contrôles de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. *Le lait.*, 19, 113-139.
- 106. MOCUȚA N. 2015.** Implication of Powdered Milk in Staphylococcal Intoxication: A Case Study. *Bulletin UASVM Food Science and Technology.*, 72(2), 311-312
- 107. MOUFFOK F. 2011.** Situation en matière de TIA en Algérie de 2010 à 2011. 2ème congrès Maghrébin sur les TIA, 14 - 15 décembre 2011, Tunis.
- 108. MORONI P., PISONI G., ANTONINI M., VILLA R., BOETTCHER P. & CARLI S. 2006.** « Short Communication: Antimicrobial Drug Susceptibility of *Staphylococcus aureus* from Subclinical Bovine Mastitis in Italy ». *Journal of Dairy Sci.*, 89, 2973 – 2976.
- 109. NAVRATILOVA P. 2008.** Screening methods used for the detection of veterinary drug residues in raw cow milk: a review. *Czech J. Food Sci.*, 26, 393 - 401.
- 110. NOIRETERRE P.H. 2006.** Suivi de comptages cellulaires et d'examen bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière, Thèse Vét. Lyon, 98.
- 111. NORME F V08 - 057 - 01. 1994.** Microbiologie des aliments : méthode horizontale pour dénombrement de Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autre espèce) par comptage des colonies à 37 °C –1 : technique avec confirmation des colonies. Association française de normalisation : Paris, 12 p.
- 112. NORME F V08-060. 1996.** Microbiologie alimentaire : dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies à 44 °C : méthode de routine. Association française de normalisation : Paris, 10 p.

- 113. NORME F V 08 - 061. 2009.** Microbiologie des aliments : dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfite-réductrices par comptage des colonies à 46 °C. Association française de normalisation : Paris, 11 p.
- 114. NORME ISO 4833 2003 (F). 2003.** Microbiologie des aliments : méthode horizontale pour le dénombrement des microorganismes : technique par comptage des colonies à 30°C. Association française de normalisation : Paris, 9 p.
- 115. OFFICE NATIONAL INTERPROFESSIONNEL DU LAIT ET PRODUITS LAITIERS. 2014.** La production laitière en Algérie. Site : [www.google.Onil/production laitiere en 2014](http://www.google.Onil/production_laitiere_en_2014). Date de consultation : 20/02/2016.
- 116. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (OMS). 2010.** Maladies transmises par les aliments, p.3-4.
- 117. ORLANDINI .1999.** Les bactéries pathogènes à l'origine d'accidents alimentaires en France: rappels généraux et méthodes de détection rapide. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 185 pages +annexes.
- 118. OUNINE K., RHOUTAÏSSE A. & EL HALOU N.E. 2004.** Caractérisation bactériologique du lait cru produit dans les étables de la région du Gharb. *Al Awamia.*, 109-110, 187-204.
- 119. PELES F., WAGNER M., VARGA L., HEIN I., RIECK P., GUTSER K., KERESZTURI P., KARDOS G., TURCSANYI I., BERI B. & A. SZABO. 2005.** Coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, 98, 73-79.
- 120. PERRIN G. & BAUDRY C. 2004.** Numérations cellulaires du lait de vache. *Lait*, 73, 489-497.
- 121. PERRIN C.I. MARTEL J.L., BROUILLET P. & FEDIDA M. 1991.** Identification et sensibilité aux antibiotiques des diverses espèces de staphylocoques associées a des mammites bovines inapparentes et subcliniques. *Résultats d'une enquête régionale.*, 1, 39 - 47.
- 122. POPPOFF M.R. 1996.** Entérotoxines bactériennes : structure, mode d'action et approche vaccinale. *Revue Méd. Vét.*, 147, 6, 425-438.
- 123. POUTREL B. 1985.** Généralités sur les mammites de la vache laitière. Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthode de contrôle. Les mammites bovines. *Rec. Méd. Vét.*, 161, 495-512.

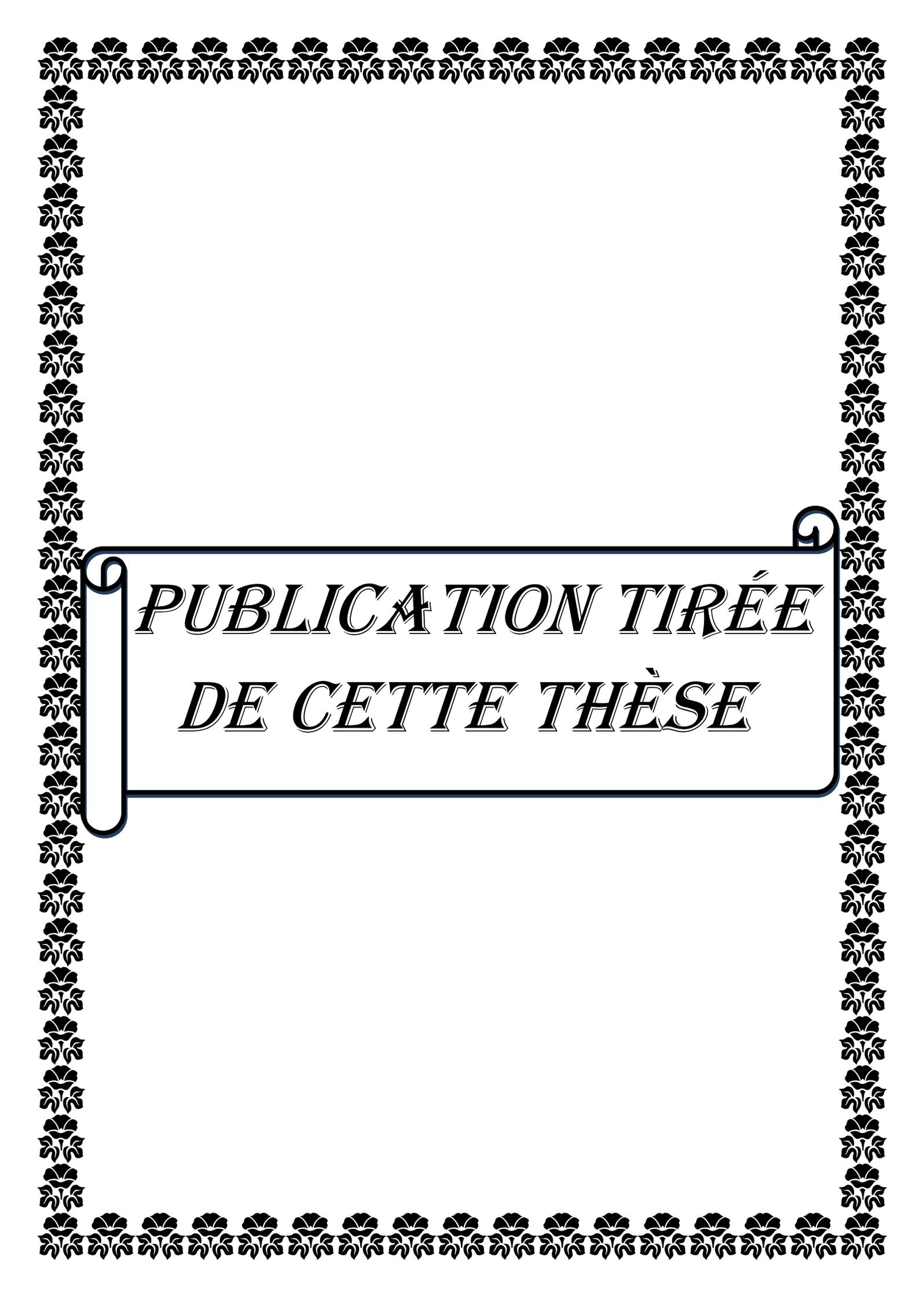
- 124. POUTREL. B. 2002.** Actualités sur les méthodes de diagnostic des mammites. Journées nationales GTV, INRA. Tours : 157-162.
- 125. RAMOND D. 2015.** Les mammites chez les petits ruminants : étude bibliographique. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, 28-35
- 126. ROBERTSON W. 1995.** Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. Dans : Air intérieur et Eau potable, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois, Presses de l'Université Laval, 179-193.
- 127. ROSSET R. & POUMEYROL G. 2004.** Entretiens Bourgelat. Tome 2.
- 128. SALSBERG E. MEEK A.H. & MARTIN S.W. 1984.** Somatic cell counts: associated factors and relationship to production. *Can. J. Comp.Med.*, 48, 251-257.
- 129. SERIEYS F. 1985.** Les mammites bovines. *Rec. de Méd. Vét.*, 161, 553-566.
- 130. SRAIRI M.T., HASNI A.I. & HAMAMA A. 2004.** Qualité physicochimique et contamination par les antibiotiques du lait de mélange en étables intensives au Maroc. *Renc. Rech. Ruminants.*, 11, 115.
- 131. STEAD S.L., ASHWIN H., RICHMOND S.F, SHARMAN M., LANGEVELD P.C., BARENDSE J.P., STARK J. & KEELY B.J. 2008.** Evaluation and validation according to international standards of the Delvotest(R) SP-NT screening assay for antimicrobial drugs in milk. *Int. Dairy J.*, 18, 3-11.
- 132. SUTRA L, FEDERIGHI M. & JOUVE J.L. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. édition Polytechnica, Paris, 308 pages.
- 133. SVENNERSTEN S.K. 2004.** The Science behind Milk Ejection. NMC. *Annual Meeting Proceeding.*, 215-228.
- 134. THIBERT B. 1996.** De la mamelle aux mammites, A la pointe de l'élevage bovin, 21-23.
- 135. THOMELIN R. 2009.** Mammites-Cellules : Tous les conseils pour lutter efficacement, GIE Élevage des Pays de la Loire, 57.
- 136. VIGNOLA C. 2002.** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.
- 137. WAES G. 1973.** Les streptocoques D dans le lait cru réfrigéré. *Le lait.*, 528, 520-528.
- 138. WALLACE J.A., SCHUKKEN Y.H. & F.WELCOME. 2003.** Measuring stimulation's Effect with Milk Flow Curves. National Mastitis Council. *Annual Meeting Proceedings.*, 86-97.

139. WATTIAUX M. 2004. Lactation et récolte du lait : procédure de traite. Institut Babcock pour la recherche et le développement international du secteur laitier. Site : <http://babcock.wisc.edu/node/216>. Date de consultation: 25/08/2014.

140. WIENEKE A.A. 1991. Comparison of four kits for the detection of staphylococcal enterotoxin in foods from outbreaks of food poisoning. *Int J Food Microbiol.*, 14, 305-312.

141. ZIANE M. 2014. Caractérisation, identification et étude de la thermorésistance de souches de *Bacillus cereus* isolées de semoule de couscous. Thèse Doctorat, Univ. Aboubekr Belkaid, Tlemcen, 78 p.

142. ZINEDINE A., FAID M. & BENLEMLIH M. 2007. Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique. *Rev. Microbiol. indust. sanit. Environ.*, 1, 1-9.

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the page. The motifs are stylized, symmetrical designs, possibly representing flowers or leaves, arranged in a continuous line.

*PUBLICATION TIRÉE
DE CETTE THÈSE*

Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique

HAMIROUNE M.¹, BERBER A.², BOUBEKEUR S.²

(1) École Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV), B.P. 161, El Harrach, Alger, Algérie

(2) Département des Sciences vétérinaires, Université SAAD Dahleb, B.P. 270, Route de Soomâa, Blida, Algérie

Correspondance : Mourad Hamiroune – Email : mouradhamiroune@gmail.com

RÉSUMÉ : En vue d'apprécier les risques liés à la consommation du lait cru de vache de race locale et améliorée, 192 échantillons du lait ont été prélevés dans huit points de vente entre décembre 2013 à juin 2014 et une enquête a été menée parallèlement auprès des consommateurs. L'analyse a montré une présence significative de bactéries en trop grand nombre et d'inhibiteurs bactériens (28,7 % des échantillons). De plus, l'enquête a mis en évidence un taux élevé de symptômes digestifs chez les personnes qui consomment du lait cru sans traitement thermique préalable (26,0 %).

Ces résultats témoignent du risque que représentent la commercialisation et la consommation de lait cru dans ces régions d'Algérie et la nécessité de mettre en œuvre un programme de vulgarisation des bonnes pratiques d'hygiène et un encadrement zootechnique de tous les acteurs de la filière afin d'assurer la salubrité durant toute la chaîne de production du lait cru.

1. Introduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de trois milliards de litres par an (Kirat, 2007). Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part des protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière lait connaît une croissance annuelle de 8 % en Algérie (Salon international du lait, 2008).

La production du lait de vache se heurte souvent au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs. Les conditions d'hygiène au niveau des fermes et tout le long du circuit de la production jusqu'à l'arrivée du lait à la laiterie, comportent autant de sources de contaminations à maîtriser afin de préserver la qualité hygiénique du lait (Faye et Loiseau, 2000).

Afin de surveiller l'innocuité des aliments, il est impératif de déterminer la

qualité bactériologique du lait cru destiné à la consommation humaine, ce qui nous a poussé à réaliser ce travail, dont l'objectif principal a été la mise en évidence de la qualité hygiénique du lait cru de vaches dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et son risque sur la santé des consommateurs.

2. Matériel et méthodes

2.1. Échantillonnage

Des prélèvements de lait cru ont été effectués chaque semaine pendant 24 semaines (de décembre 2013 à juin 2014) dans huit points de vente, situés dans deux régions différentes (quatre points de vente dans la région de Blida et quatre dans la région de Jijel).

Les échantillons (100 ml), conditionnés dans des flacons stériles étanches en matière plastique, ont été identifiés par étiquette et directement placés dans une glacière contenant des blocs réfrigérants congelés. Ces échantillons ont été acheminés directement vers les

laboratoires d'analyses : le laboratoire de contrôle de qualité et d'emballage (CACQE) à Jijel et le laboratoire d'analyse vétérinaire, contrôle de la qualité, la conformité et de la recherche appliquée (AVCQ-LAB) à Baraki d'Alger. Une fois au laboratoire, les échantillons ont été immédiatement analysés. Le délai maximal entre le prélèvement et l'analyse des échantillons a été d'une heure pour tous les échantillons.

En parallèle, la température du lait au moment du prélèvement au point de vente était enregistrée. La mesure était effectuée au moyen d'un thermomètre à usage alimentaire.

2.2. Recherche et dénombrement des germes de contamination

À partir du lait homogénéisé préalablement par des mouvements de rotations (100 ml), des dilutions sériées ont été réalisées dans une solution de tryptone sel (TSE) (Institut Pasteur, Algérie).

Pour chaque échantillon, cinq groupes de bactéries ont été étudiés : la flore mésophile aérobie totale à 30 °C, les entérocoques, les coliformes thermotolérants, les *S. aureus* et les *Clostridium* sulfito-réducteurs à 46 °C.

Le dénombrement de ces bactéries a été effectué suivant des normes internationales quand disponibles.

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) a été dénombrée sur gélose PCA (*Plate Count Agar*) (Institut Pasteur, Algérie), incubée à 30 °C pendant 48 h-72 h (Association française de normalisation, 2003).

Les *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ont été dénombrés sur la gélose de Baird Parker (Institut Pasteur, Algérie) additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium et incubée 48 h à 37 °C. La confirmation a été réalisée par la coloration de Gram, la recherche de la catalase et de la coagulase (Association française de normalisation, 1994).

Les coliformes thermotolérants (CT) ont été dénombrés sur gélose biliée lactosée au rouge neutre et cristal violet (VRBL) (Institut Pasteur, Algérie), incubée 24 h à 44 °C. Toutes les colonies rouges (lactose +) d'un diamètre de 0,5 mm minimum apparues sont considérées comme étant des coliformes thermotolérants (Association française de normalisation, 1996).

Les entérocoques (EC) ont été dénombrés selon la méthode du nombre le plus probable en milieu de Rothe (Institut Pasteur, Algérie) après incubation 48 h à 37 °C. Les contenus des tubes positifs, c'est-à-dire présentant un trouble, ont ensuite été ensemencés sur milieu BEA (*Bile Esculine Azide*) utilisé pour la confirmation et soumis à une incubation à 37 °C pendant 24 h et 48 h. Les colonies d'entérocoques sont petites, translucides et entourées d'un halo noir (esculine positive) (Maury, 1987).

Pour les spores de clostridium sulfitoréducteurs à 46 °C (CSR), le lait placé dans des tubes a été préalablement chauffé 10 minutes à 80 °C puis refroidi rapidement afin d'activer les spores des clostridies et de détruire les germes sous forme végétative.

Ensuite, elles ont été dénombrées sur le milieu de culture tryptose-sulfite à la cyclosérine (TSC) (Institut Pasteur, Algérie). Après l'incubation à 46 °C pendant 20 ± 2 h, seules les colonies caractéristiques entourées d'un halo noir ont été comptées (Association française de normalisation, 2009).

L'interprétation des résultats été réalisée en fonction de l'Arrêté interministériel n° 35-1998 du 24 janvier 1998, relative aux spécifications microbiologiques de lait cru. Le nombre maximal accepté pour les bactéries dénombrées dans le lait cru sont : 10^5 ufc/ml pour les FTAM, 10^3 ufc/ml pour les CT, 50 ufc/ml pour les CSR et l'absence de germe dans 0,1 ml pour les *S. aureus* et les EC (Secrétariat général du Gouvernement, 1998).

2.3. Détection des inhibiteurs bactériens dans le lait

Les inhibiteurs bactériens ont été recherchés en utilisant le DelvoTest® SP-NT (DSM Food Specialties B.V., Delft, Pays-Bas). Un échantillon de lait (100 microlitres) est placé dans une ampoule contenant un milieu gélosé ensemencé par *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* et enrichi en éléments nutritifs de croissance. Les ampoules sont mises à incuber pendant trois heures à 64 ± 1 °C dans un bain-marie. L'interprétation finale des résultats a été réalisée à l'œil nu selon le changement de couleur : si l'échantillon vire nettement du violet au jaune, cela signifie que l'échantillon ne contient pas des inhibiteurs bactériens. En présence des inhibiteurs bactériens, une couleur violette est observée.

2.4. Enquête sur le mode de consommation du lait

Un questionnaire a été créé afin d'identifier des consommateurs de lait cru et de suivre leur santé sur une période d'étude de six mois.

La participation à l'enquête était sur une base volontaire. Les personnes ont été sollicitées lors des échantillonnages dans les points de vente.

La première partie des informations récoltées consistait en des informations relatives aux données personnelles (nom, âge) et des données de

contact (adresse et numéro de téléphone). La quantité de lait achetée le jour de l'enquête était aussi répertoriée. Il leur était également demandé ce qu'ils faisaient du lait avant la consommation.

Ces personnes ont ensuite été recontactées périodiquement par téléphone mobile et des questions relatives à leur état de santé ont été posées, notamment la présence de symptômes après la consommation du lait. Des informations quant à la quantité de lait consommée ont été également obtenues en précisant si le lait en question avait préalablement subi un traitement et si les symptômes ont nécessité une hospitalisation. Le cas échéant, il a été demandé si des analyses bactériologiques qui ont été réalisées, avec quels résultats.

2.5. Analyses statistiques

La moyenne et l'écart type des nombres de bactéries, exprimées en unités formant colonies (ufc) par ml, ont été calculés pour chaque type de flore et chaque échantillon.

Une analyse factorielle de la variance et le test de *Student* ont été utilisés pour la comparaison entre les résultats des dénombrements.

Le coefficient de corrélation (r) a été calculé à partir des dénombrements bactériens, pour estimer, d'une part, le lien entre les différentes flores bactériennes et, d'autre part, entre ces flores et la température de stockage des échantillons. Un lien est considéré comme significatif au seuil de 5 %.

Le test du χ^2 de Pearson a été utilisé pour l'étude de l'impact de la consommation du lait qui subi un traitement thermique ou non sur la santé des consommateurs.

Tous les calculs ont été effectués avec le logiciel STATISTICA version 2007, après transformation logarithmique décimale des résultats exprimés en ufc/ml pour normaliser la distribution.

3. Résultats

Une totalité de 192 échantillons de lait cru ont été prélevés dans les huit points de vente pris en considération :

Tableau I : taux de contamination moyens des échantillons de lait cru analysés pour les cinq indicateurs bactériens (ufc/ml)

Région	PV	NP	flore mésophile aérobie totale	entérocoques	coliformes thermotolérants	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs
Jijel	A _J	24	6,6 10 ⁵	1,4 10 ⁴	3,0 10 ⁴	0,1 10 ³	0,1 10 ²
	B _J	24	7,4 10 ⁵	1,9 10 ⁴	2,4 10 ⁴	1,0 10 ³	0,2 10 ²
	C _J	24	6,5 10 ⁵	4,8 10 ⁴	6,1 10 ⁴	0,8 10 ³	0,3 10 ²
	D _J	24	7,4 10 ⁵	2,8 10 ⁴	4,4 10 ⁴	1,2 10 ³	0,2 10 ²
Blida	A _B	24	7,2 10 ⁵	2,2 10 ⁴	4,7 10 ⁴	0,6 10 ³	0,2 10 ²
	B _B	24	8,1 10 ⁵	3,6 10 ⁴	4,9 10 ⁴	0,8 10 ³	0,5 10 ²
	C _B	24	7,1 10 ⁵	2,1 10 ⁴	4,9 10 ⁴	0,6 10 ³	0,2 10 ²
	D _B	24	7,2 10 ⁵	3,8 10 ⁴	6,2 10 ⁴	2,2 10 ³	0,6 10 ²
Moyenne			7,2 10 ⁵	2,8 10 ⁴	4,6 10 ⁴	0,9 10 ³	0,3 10 ²
NE<CR			3 (1,6 %)	115 (59,9 %)	91 (47,4 %)	158 (82,3 %)	169 (88,0 %)
NE>CR			189 (98,4 %)	77 (40,1 %)	101 (52,6 %)	34 (17,7 %)	23 (12,0 %)

PV : point de vente, NP : nombre de prélèvements effectués, NE<CR : nombre des échantillons qui présentent une charge inférieure au critère légal, NE>CR : nombre d'échantillons qui présentent une charge supérieure au critère légal.

96 échantillons dans quatre points de vente différents de la région de Jijel et 96 échantillons dans quatre points de vente différents de la région de Blida. Tous les prélèvements ont été effectués dans un délai constant de trois heures et demie après l'arrivée du lait aux différents points de vente.

3.1. Qualité bactériologique globale du lait cru

Le tableau I rapporte le taux de contamination des échantillons de lait cru par les différentes flores selon les quatre points de vente dans les deux régions de Jijel et Blida. Pour un marqueur bactérien donné, le tableau I donne la concentration moyenne en bactéries des 24 prélèvements du site considéré, exprimée en ufc/ml.

La totalité des échantillons ont été infectés par la flore mésophile aérobie totale avec un nombre moyen varié de 6,5 10⁵ à 8,1 10⁵ ufc/ml selon les sites.

Sur les 192 échantillons, 52,6 % ont présenté une charge en coliformes thermotolérants supérieure aux normes exigées ; selon les sites de prélèvement, leur concentration moyenne varie de 2,4 10⁴ à 6,2 10⁴ ufc/ml.

De même, 40,1 % des échantillons ont montrés une charge en entérocoques

supérieure aux normes, le nombre moyen variant de 1,4 10⁴ à 4,8 10⁴ ufc/ml selon les sites.

Seulement 34 échantillons sont infectés par des *S. aureus*, avec une charge variant de 0,1 10³ à 2,2 10³ ufc/ml. Les *clostridium* sulfito-réducteurs sont présents dans 12,5 % des prélèvements, soit d'un à six prélèvements selon les sites avec des concentrations de 10 à 60 ufc/ml.

Les moyennes géométriques des bactéries dénombrées sont supérieures aux critères légaux pour tous groupes

bactériens, exceptés les *clostridium*s sulfito-réducteurs.

La comparaison des résultats obtenus dans les deux régions ne montre pas de différence significative ($p > 0,05$) pour toutes les bactéries dénombrées.

3.2. Température de stockage du lait cru dans les différents points de vente

La température de stockage dans les points de vente variait entre 10,8 °C et 21,5 °C, avec une moyenne de 15,8 ± 3,6 °C (figure 1).

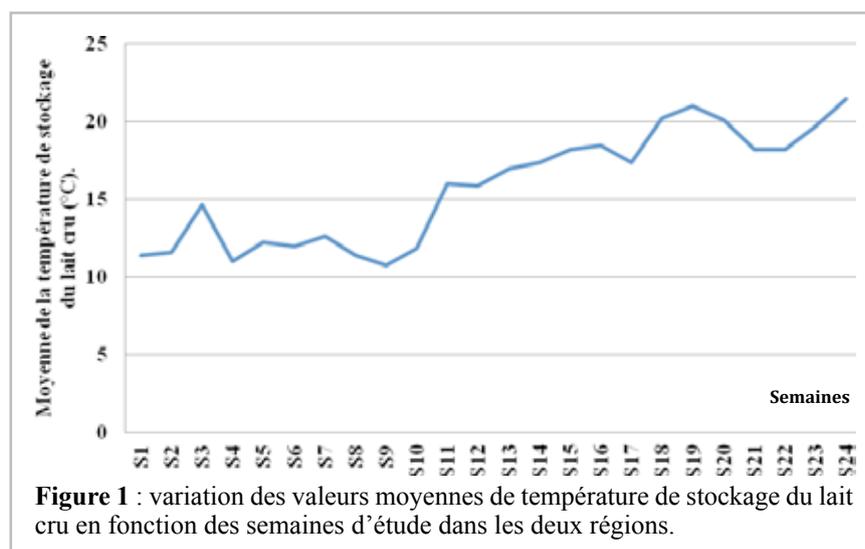


Figure 1 : variation des valeurs moyennes de température de stockage du lait cru en fonction des semaines d'étude dans les deux régions.

3.3. Relation entre les indicateurs bactériens et entre ces indicateurs et la température de stockage du lait cru vendu

Le tableau II reprend, pour les cinq groupes de bactéries étudiés, l'analyse entre la contamination et la température de stockage du lait. Il n'y a que deux corrélations qui sont statistiquement significatives, l'une pour les coliformes thermotolérants et l'autre pour les *S. aureus* par rapport à la température de stockage du lait.

Tableau II : corrélation entre les résultats de dénombrements des cinq groupes bactériens étudiés et entre ces résultats de dénombrements et la température de stockage

Relation entre les paramètres	r	valeur de p
FTAM-EC	0,060	0,40
FTAM-CT	-0,032	0,65
FTAM-SA	0,068	0,34
FTAM-CSR	-0,066	0,35
FTAM-TS	-0,017	0,80
EC-CT	0,076	0,29
EC-SA	-0,032	0,64
EC-CSR	0,094	0,19
EC-TS	0,092	0,20
CT-SA	0,035	0,62
CT-CSR	-0,012	0,86
CT-TS	0,168	0,01 *
SA-CSR	-0,074	0,30
SA-TS	0,163	0,02 *
CSR-TS	0,046	0,52

FTAM : flore mésophile aérobie totale, SA : *Staphylococcus aureus*, CT : coliformes thermotolérants, EC : entérocoques, CSR : *Clostridium sulfito-réducteurs*, TS : température de stockage de lait, r : coefficient de corrélation.

3.4. Fréquence d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru

Sur un total de 192 échantillons du lait cru analysés, 28,7 % (soit 55/192) se sont avérés positifs aux inhibiteurs bactériens. La fréquence la plus élevée a été enregistrée dans les laits crus issus du point de vente A_B avec une proportion de 54,2 % (soit 13/24), alors que les échantillons issus du site C_J n'ont pas permis de détecter de résidu. Il y a donc de nettes différences entre points de vente pour ce paramètre (tableau III).

3.5. Relation entre les bactéries dénombrées et la présence d'inhibiteurs bactériens

L'étude de la relation entre la contamination du lait et la présence des inhibiteurs bactériens a permis de mettre en évidence que le niveau de contamination du lait cru par les bactéries est significativement inférieur ($p < 0,05$) suite à la présence des inhibiteurs bactériens pour les *S. aureus*, EC, CT et CSR (tableau IV).

Tableau III : fréquence de détection d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru, pour chacun des points de vente (PV)

Région	PV	NEP/NEE	prévalence (%)	IC95 (%)
Jijel	A _J	10/24	41,7	[21,9 ; 61,4]
	B _J	8/24	33,3	[14,5 ; 52,2]
	C _J	0/24	0	[0,0 ; 14,3]
	D _J	6/24	25,0	[7,7 ; 42,3]
Blida	A _B	13/24	54,2	[34,2 ; 74,1]
	B _B	5/24	20,8	[4,6 ; 37,1]
	C _B	9/24	37,5	[18,1 ; 56,9]
	D _B	4/24	16,7	[1,8 ; 31,6]
Total		55/192	28,7	[22,3 ; 35,0]

PV : points de vente, NEE : nombre des échantillons examinés, NEP : nombre des échantillons positifs, IC95 : intervalle de confiance à 95 %

Tableau IV : relation entre la détection des bactéries indicatrices et la présence d'inhibiteurs bactériens

Flore bactérienne détectée		Inhibiteurs bactériens		Total n (%)
		présence	absence	
flore mésophile aérobie totale	+	55 (100 %)	137 (100 %)	192 (100 %)
	-	0	0	0
entérocoques	+	7 (12,7 %)	70 (52,1 %)	77 (40,1 %)
	-	48 (87,3 %)	67 (47,9 %)	115 (59,9 %)
coliformes thermotolérants	+	13 (23,6 %)	88 (64,2 %)	101 (52,6 %)
	-	42 (76,4 %)	49 (35,8 %)	91 (47,4 %)
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	5 (9,0 %)	29 (21,2 %)	34 (17,7 %)
	-	50 (81,0 %)	108 (78,8 %)	158 (82,3 %)
<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	+	5 (9,0 %)	19 (13,9 %)	24 (12,5 %)
	-	50 (81,0 %)	118 (86,1 %)	168 (87,5 %)

Tableau V : impact du traitement thermique du lait sur l'expression de maladies gastro-intestinales

Traitement thermique du lait	Troubles gastro-intestinaux après consommation du lait		Total
	absence de symptômes	présence de symptômes	
non	65 (54,6 %)	54 (45,4 %)	119
oui	84 (94,4 %)	5 (5,6 %)	89
Total	149 (71,6 %)	59 (28,4 %)	208

3.6. Impact de la consommation du lait cru sur la santé des consommateurs

Le résultat de l'enquête réalisée sur le mode de consommation du lait cru a montré que 57,2 % (soit 119/208) des personnes enquêtées consomment le lait cru directement après achat sans traitement thermique (moyenne de 0,75 litre/jour/personne dans les zones d'étude). Plus de 45 pourcents des personnes enquêtées ont déclaré avoir souffert de symptômes compatibles avec des toxi-infections d'origine alimentaire après la consommation de ce lait sans traitement thermique (soit 54/119) contre 5,6 % pour ceux qui ont traité thermiquement le lait avant consommation (soit 5/89) (tableau V).

Les manifestations cliniques sont des vomissements (6,8 % soit 4/59), de la fièvre (16,9 % soit 10/59), des douleurs abdominales (16,9 % soit 10/59) et de plusieurs symptômes associés en même temps (10,2 % soit 6/59), alors que la diarrhée était le symptôme le plus rencontré avec une prévalence de 49,2 % (soit 29/59) chez les consommateurs.

L'analyse statistique a permis de mettre en évidence que l'apparition de maladies gastro-intestinales suite à la consommation de lait cru est significativement réduite par le traitement thermique du lait ($p < 0,05$).

4. Discussion

Des échantillons de lait cru bovin (en nombre de 192) ont été prélevés de huit points de vente dans les régions de Jijel et de Blida. Le lait a été distribué préalablement par des collecteurs dans des citernes jusqu'à des vendeurs proches des fermes. Dans les points

de vente, le lait est conservé dans des cuves de stockage sans réfrigération. La qualité bactériologique du lait a été appréciée selon les critères algériens relatifs aux spécifications microbiologiques de lait cru.

Les résultats obtenus au cours de ce travail indiquent que la majorité des échantillons de lait prélevés sont de piètre qualité microbiologique, seulement trois échantillons répondent aux critères applicables en Algérie.

La flore mésophile aérobie totale, bon indicateur de contamination globale, renseigne sur la qualité hygiénique du lait cru (Guinot-Thoms *et al.*, 1995). L'énumération de cette flore pour les 192 échantillons de lait cru a permis de relever que la moyenne des dénombrements est de $7,2 \cdot 10^5$ ufc/ml pour tous les échantillons analysés. Nos résultats sont en accord avec ceux de Aggad et collaborateurs (2009) où le niveau de contamination moyen avoisine $8,3 \cdot 10^5$ ufc/ml.

La majorité de nos échantillons (98,4 %) sont de mauvaise qualité au vu des critères algériens qui fixent le seuil de contamination à 10^5 ufc/ml. Selon Amhour et collaborateurs (1998), Ils révèlent un manque de respect des bonnes pratiques de production et de stockage du lait.

Les coliformes thermotolérants indiquent en général une contamination fécale et leur nombre est généralement proportionnel au degré de pollution produit par des matières fécales (Aggad *et al.*, 2010).

La moyenne des dénombrements de ces bactéries d'origine fécale est de $4,6 \cdot 10^4$ ufc/ml. Ces résultats sont très variables et supérieurs à la norme

10^3 ufc/ml (Secrétariat général du Gouvernement, 1998) pour 52,6 % des échantillons.

Les présents résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Ghazi et Niar (2011), dans la région de Tiaret avec une moyenne de $1,7 \cdot 10^4$ ufc/ml, ils sont néanmoins similaires aux résultats obtenus par Afif et collaborateurs (2008) dans l'une des coopératives laitières à Tadla (Maroc) avec $3,2 \cdot 10^5$ ufc/ml, mais sont nettement inférieurs aux résultats rapportés par Ouinine et collaborateurs (2004) avec $2,0 \cdot 10^6$ ufc/ml.

Selon Mocquot et Guittonneau (1939), les coliformes du genre *Escherichia* contaminent le lait directement (par contact direct avec le pis), ou se multiplient suite à un mauvais nettoyage des ustensiles laitiers.

La charge moyenne en entérocoques est de $2,8 \cdot 10^4$ ufc/ml et elle est très variable. Le critère algérien pour les entérocoques est l'absence du germe dans 0,1 ml de lait cru ; 40,1 % des échantillons présentent une charge supérieure. Nos résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Afif et collaborateurs (2008) où la moyenne des résultats obtenus était 10^2 ufc/ml. En revanche, ils sont inférieurs aux résultats de Labioui et collaborateurs (2009) avec $4,0 \cdot 10^4$ ufc/ml. Selon Waes (1973), ils sont des indicateurs de contaminations fécales, et de manipulations non hygiéniques.

S. aureus contamine le lait soit par excrétion directe des mamelles d'animaux atteints de mammites ou par l'environnement lors de la manipulation et de la transformation du lait cru (Afif *et al.*, 2008).

Les résultats obtenus présentent une moyenne de $0,9 \cdot 10^3$ ufc/ml. La fréquence des résultats supérieurs au critère légal est de 17,7 % contre 82,3 % des laits analysés conformes.

Ces taux de contamination sont inférieurs à ceux décrits par Afif et collaborateurs (2008) et Mennane et collaborateurs (2007) au Maroc qui présentent des moyennes de $8,0 \cdot 10^4$ ufc/ml et $1,2 \cdot 10^6$ ufc/ml respectivement, mais restent proches des résultats obtenus par Aggad et collaborateurs (2009) dans l'ouest algérien avec une moyenne de $3,5 \cdot 10^3$ ufc/ml.

La charge moyenne des laits crus analysés en clostridiens sulfite-réducteurs est de $2,7 \cdot 10^1$ ufc/ml. Le critère algérien concernant ces bactéries étant fixée à 50 germes/ml, nous constatons que celle-ci est dépassée dans 12,0 % des échantillons.

Les résultats de cette étude montrent que 12,5 % du lait analysé est contaminé par cette flore. Ils sont nettement inférieurs à ceux de Aggad et collaborateurs (2009) dans l'ouest algérien avec un taux de contamination de 29,4 %. En revanche ils restent supérieurs à ceux de Farougou et collaborateurs (2011) avec une moyenne de $0,4 \cdot 10^1$ ufc/ml. En parallèle, Michel et collaborateurs (2001) ont été montré que 72 % des laits contiennent moins de 180 spores de *Clostridium* par litre.

Selon Chye et collaborateurs (2004), les bactéries peuvent entrer dans le lait pendant qu'il est encore dans la mamelle mais la plupart des microorganismes retrouvés dans le lait cru sont des contaminants provenant de la surface externe de la mamelle, des ustensiles de traite et des trayeurs.

La corrélation entre les différentes flores d'une part et entre ces flores et la température de stockage des 192 échantillons de lait cru est relativement faible, seules des corrélations significatives positives entre des niveaux élevés en coliformes thermotolérants ou en *S. aureus* et la température de stockage du lait sont démontrées. Le temps qui sépare l'arrivée du lait dans les points de vente et la réalisation des prélèvements, est identique pour tous les échantillons et dans les deux régions (trois heures et demie). C'est pour cette raison, que nous n'avons pas étudié l'influence de la durée de conservation du lait sur la croissance bactérienne.

Ces faibles corrélations enregistrées entre les différentes flores dénombrées lors de cette étude ont été observées par plusieurs auteurs (Jayarao *et al.*, 2004 ; El Moslemany *et al.*, 2009). Elles supposent que chaque dénombrement fournit des informations variables en relation avec les pratiques de la traite et les sources possibles des contamination ou de multiplication bactérienne et qu'aucun dénombrement ne permet de prédire l'autre (El Moslemany *et al.*, 2009).

La température de stockage du lait joue un rôle primordial sur la croissance bactérienne. *S. aureus* se cultive à des températures comprises entre 6 °C et 46 °C (température optimale : 37 °C) et la toxinogénèse intervient dans des conditions un peu plus restrictives que celles requises pour la croissance (De Buyser, 1996). Les déjections des bovins constituent le principal réservoir des coliformes thermotolérants en particulier de l'espèce *Escherichia coli* qui se multiplie à des températures comprises entre 4 °C et 46 °C, avec un optimum de croissance à 37 °C (Fédération internationale de laiterie, 1993).

Selon le Secrétariat général du Gouvernement algérien (1998), un lait de bonne qualité ne doit pas contenir des inhibiteurs bactériens. Mais les résultats de cette étude ont montré que, sur 192 échantillons de lait cru analysés, 28,7 % contenaient des inhibiteurs bactériens. Ces chiffres traduisent l'ampleur de l'utilisation des antibiotiques dans les fermes laitières où le lait est collecté, et donc le risque lié majeur sur la santé des consommateurs.

La méthode de détection des résidus utilisée dans cette étude repose sur le Delvotest SP-NT, ce test a été validée conformément à la norme internationale ISO/IDF 183. Les limites de détection pour 10 substances antimicrobiennes (pénicilline, l'ampicilline, l'amoxicilline, la céphapirine, le cefotiofur, la cloxacilline, la sulfadiazine, l'oxytétracycline, la néomycine et l'érythromycine) ont été trouvés comparables avec les limites maximales européennes de résidus (Stead *et al.*, 2008). Cependant cette méthode basée sur l'inhibition microbienne peut donner des résultats faux positifs en cas présence des agents antimicrobiens naturels dans le lait à des concentrations supérieures tel que rapporté par Navratilova (2008).

Ces résultats rejoignent ceux annoncés par Srairi et collaborateurs (2004) qui signalent un taux de l'ordre de 25,0 % d'inhibiteurs bactériens dans le lait cru. En revanche, ils sont nettement inférieurs à ceux de Zinedine et collaborateurs (2007) au Maroc, où 42,87 % des échantillons sont contaminés par des inhibiteurs bactériens.

La présence d'inhibiteurs bactériens à un taux élevé dans le lait, peut probablement s'expliquer, d'une part, par l'usage massif et incontrôlé des préparations pharmaceutiques intramammaires et, d'autre part, par un ajout volontaire des inhibiteurs de croissance des bactéries tels les antibiotiques et ce, pour stabiliser le lait.

L'étude de l'impact de la consommation du lait cru sur la santé des consommateurs montre que 45,4 % (soit 54/119) d'entre eux ont présenté des toxi-infections alimentaires (TIA) après consommation du lait cru sans aucun traitement thermique contre seulement 5,6 % après traitement thermique.

Selon Chaubeau (1992), les TIA à *S. aureus* sont directement liées à ses entérotoxines. Elles se caractérisent par un temps d'incubation très court. Les symptômes apparaissent en moyenne deux à trois h après la consommation directe du lait cru. La gravité des symptômes est en relation avec la dose des toxines et de la sensibilité individuelle (De Buyser *et al.*, 1997).

La présence des coliformes thermotolérants dans le lait indique la présence possible de micro-organismes entéro-pathogènes responsables d'une gastroentérite. Certains *Escherichia coli* font partie de ce groupe (Commission des Communautés Européennes, 1992).

Des critères de différenciation basés sur leurs sérotypes, leurs virulences et leurs conséquences cliniques ont permis de classer ces souches pathogènes en quatre groupes : les *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC), les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), les *E. coli* entéro-invasifs (EIEC) et les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) (Gouali et Weill, 2012).

Le respect des règles d'hygiène à la ferme et le contrôle des laits lors de leurs mises sur le marché peut permettre de réduire le nombre de toxi-infections d'origine alimentaire dues à la consommation de ces produits (Commission des Communautés européennes, 1992). Le traitement thermique du lait cru avant la consommation constituer ainsi une des méthodes efficaces pour diminuer le nombre de ces TIA.

5. Conclusion

À la lumière de cette étude, l'importance de la charge bactérienne du lait cru prélevé des points de vente n'est que le résultat de contaminations et multiplications successives associées aux mauvaises conditions hygiéniques et de température lors de la traite à la ferme, au cours du transport et sur les lieux de vente.

La présence de germes responsables d'intoxication alimentaire tels que *S. aureus* peut devenir un problème de santé publique même pour le lait traité thermiquement par la suite si des mesures ne sont pas prises pour éviter les contaminations.

La qualité hygiénique du lait cru à la vente peut être également améliorée par l'instauration d'une politique de traçabilité et de bonnes pratiques pour l'utilisation des antibiotiques dans la filière laitière afin d'assurer la salubrité durant toute la chaîne de production du lait.

La prévention des toxi-infections d'origine alimentaire à staphylocoques passe par la mise en place d'un programme d'action contre les mammites bovines, le maintien du lait à température de réfrigération et le strict respect des règles d'hygiène lors des manipulations à la ferme et aux points de vente, afin de limiter le nombre de *S. aureus* présents dans le lait.

Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble du personnel de laboratoire de contrôle de qualité et d'emballage (CACQE) à Jijel ainsi que le personnel de laboratoire d'analyse vétérinaire, contrôle de la qualité, la conformité et de la recherche appliquée (AVCQ-LAB) à Baraki d'Alger.

Bacteriological quality of raw milk from local and improved cows in the region of Jijel and Blida (Algeria) and impact on public health

Abstract

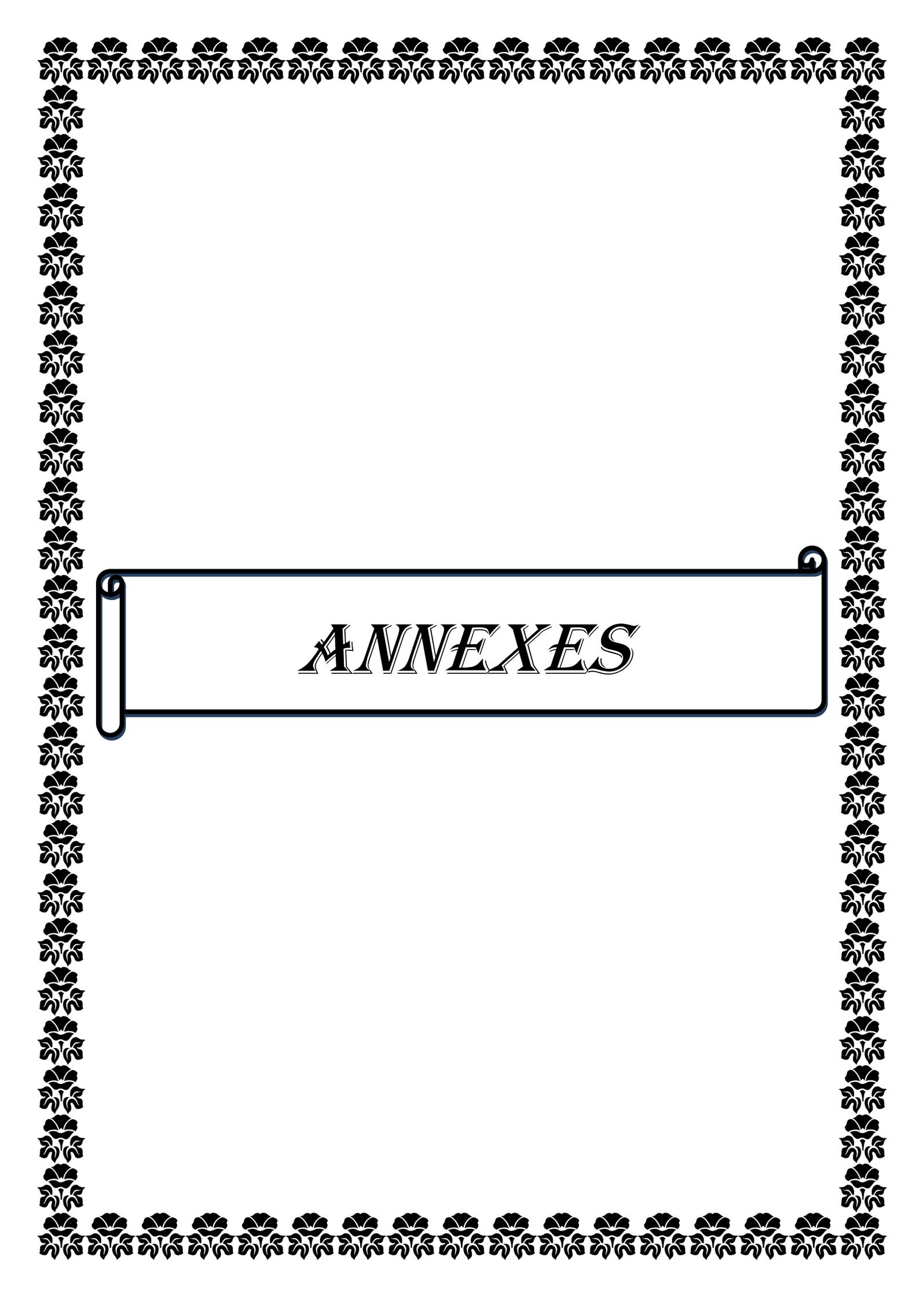
In order to assess the risks associated with the consumption of raw milk, 192 samples of raw milk were collected from 8 points of sale between December 2013 and June 2014 and a survey was conducted among consumers. The analysis showed a meaningful presence of too many bacteria and of bacterial inhibitors (28.7% of samples). In addition, the survey revealed a high rate of gastrointestinal symptoms in people who consume raw milk without heat treatment (26.0%).

These results reflect the risk associated with marketing and raw milk consumption in these regions of Algeria and the need to implement an outreach program of good hygiene practices and livestock management of all stakeholders in the sector to ensure the safety throughout the raw milk production chain.

BIBLIOGRAPHIE

- AFIF A., FAID M., NAJIMI M. Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. *Rev. Biol. Biotechnol.*, 2008, **7**, 2-7.
- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION Norme F V 0 8 - 0 5 7 - 0 1 : microbiologie des aliments : méthode horizontale pour dénombrement de Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autre espèce) par comptage des colonies à 37 °C -1 : technique avec confirmation des colonies. Association française de Normalisation : Paris, 1994, 12 p.
- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION Norme F V 0 8 - 0 6 1 : microbiologie des aliments : dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfite-réductrices par comptage des colonies à 46 °C. Association française de Normalisation : Paris, 2009, 11 p.
- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION Norme F V 0 8 - 0 6 0 : microbiologie alimentaire : dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies à 44 °C : méthode de routine. Association française de Normalisation : Paris, 1996, 10 p.
- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION Norme ISO 4833 2003(F) : microbiologie des aliments : méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes : technique par comptage des colonies à 30°C. Association française de Normalisation : Paris, 2003, 9 p.
- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION Norme NF V 0 8 - 0 6 1 : microbiologie des aliments : dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfite-réductrices par comptage des colonies à 46 °C. Association française de Normalisation : Paris, 2009, 11 p.
- AGGAD H., MAHOUZ F., AHMED AMMAR Y., KIHAL M. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Rev. Med. Vet.*, 2009, **160**, 590-595.
- AGGAD H., BRIDJA M., AEK B., BENAOUALI M., DJEBLI A. Some quality aspects of pasteurized milk in Algeria. *World J. Dairy Food Sci.*, 2010, **5**, 21-24.
- AMHOURI, F., SAID B., HAMAMA, A., ZAHAR M. Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la région d'Errachidia. *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc)*, 1998, **18**, 31-35.
- CHAUBEAU D.C. Toxi-infections alimentaires d'origine staphylococcique. *Point Vét.*, 1992, **148**, 33-40.
- CHYE F., ABDULLAH A., AYOB M. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiol.*, 2004, **21**, 535-541.
- COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPEENNES Les règles sanitaires pour la production et la mise sur le marché du lait cru, de lait traité thermiquement et de produits à base de lait : directive 92/46/CEE. *J. Off. Comm. Européennes.*, L 268/1, 14.09.1992.

- DE BUYSER M.L. Les staphylocoques. In : Bourgeois C., Mescle J.F. (Eds), Microbiologie alimentaire. Tome 1. Lavoisier : Paris, 1996, 106-119.
- DE BUYSER M.L., LAPEYRE C., DILASSER F., JANIN F. Le point sur les TIAC à staphylocoques : foyers déclarés et résultats de l'analyse d'aliments suspects. In : Colin P. (Ed.), Actes du colloque « Faut-il craindre les microorganismes présents dans les aliments ? », Paris, 13-14 mars 1997, 1997, 7-16.
- EL MOSLEMANY A.M., KEEFE G.P., DOHOO I.R., DINGWELL R.T. Microbiological quality of tank raw milk in Prince Edward Island dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 2009, **92**, 4239-4248.
- FAROUGOU S., KPODEKON T.M., SESSOU P., YOUSAO I., BOKO C., YEHOUENOU B., SOHOUNHLOUE D. Qualité microbiologique du lait cru de vache élevée en milieu extensif au Bénin. In : Université d'Abomey-Calavi, Acte du 3^e colloque des sciences, cultures et technologies de l'UAC-Bénin, Akassato, 6-10 juin 2011, 2011, 323-336.
- FAYE B., LOISEAU G. Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. In : Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement, Actes de l'atelier international, Montpellier, 11-13 décembre 2000, 2000, 11-13.
- FEDERATION INTERNATIONALE DE LAITERIE F40 microbiological safety of raw and unpasteurized milk and milk products. Document n° 223, supplément. Fédération internationale de laiterie : Bruxelles, 1993, 32 p.
- GHAZI K., NIAR A. Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura*, 2011, **29**, 193-196.
- GOUALI M., WEILL F.X. Les *Escherichia coli* entérohémorragiques : des entérobactéries d'actualité. *Presse Méd.*, 2012, **42**, 68-75.
- GUINOT-Thomas P., AMMOURY M., LAURENT F. Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *Int. Dairy J.*, 1995, **5**, 211-223.
- JAYARAO B.M., PILLAI S.R., SWANT A.A., WOLFGANG D.R., HEGD N.V. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell count and bacterial count. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87**, 3561-3573.
- KIRAT S. Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines : cas de la Wilaya de Jijel en Algérie. (Thèse pour l'obtention du titre de Master en Science). Institut agronomique méditerranéen : Montpellier, 2007, 139 p.
- LABIOUI H., LAAROUSI E., BENZAKOUR A., EL YACHIOUI M., BERNY E., OUHSSINE M. Étude physico-chimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2009, **148**, 7-16.
- MAURY M. Milieux et réactifs de laboratoire. Microbiologie et immunologie. Diagnostic Pasteur : Paris, 1987, 727 p.
- MENNANE Z., OUHSSINE M., KHEDID K., ELYACHIOUI M. Hygienic quality of raw cow's milk feeding from waste in two regions in Morocco. *Int. J. Agric. Biol.*, 2007, **9**, 46-48.
- MICHEL V., HAUWUY A., CHAMBA J.F. La flore microbienne de laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. *INRA EDP Sci.*, 2001, **81**, 575-592.
- MOCQUOT G., GUITTONNEAU G. Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée aux contrôles de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. *Le Lait*, 1939, **19**, 113-139.
- NAVRATILOVA P. Screening methods used for the detection of veterinary drug residues in raw cow milk: a review. *Czech. J. Food Sci.*, 2008, **26**, 393-401.
- OUNINE K., RHOUTAÏSSA A., EL HALOU N.E. Caractérisation bactériologique du lait cru produit dans les étables de la région du Gharb. *Al Awamia.*, 2004, **109-110**, 187-204.
- SALON INTERNATIONAL DULAIT Acte du 1^{er} salon international du lait et de ses dérivés du 27 au 29 mai 2008. [en ligne] (2008) Adresse URL : <http://www.agroligne.com/ou-se-rencontrent-ils/algerie/22292-silait-2008-1er-salon-international-du-lait.html>.
- SECRETARIAT GÉNÉRAL DU GOUVERNEMENT Spécifications microbiologiques de certaines denrées. *J. Off. Répub. Algérienne Démocr. Pop.*, 1998, **35**, 18 p.
- SRAIRIM.T., HASNIA.I., HAMAMA A. Qualité physicochimique et contamination par les antibiotiques du lait de mélange en étables intensives au Maroc. *Renc. Rech. Ruminants*, 2004, **11**, 115.
- STEAD S.L., ASHWIN H., RICHMOND S.F., SHARMAN M., LANGEVELD P.C., BARENDSE J.P., STARK J., KEELY B.J. Evaluation and validation according to international standards of the Delvotest(R) SP-NT screening assay for antimicrobial drugs in milk. *Int. Dairy J.*, 2008, **18**, 3-11.
- WAES G. Les streptocoques D dans le lait cru réfrigéré. *Le Lait*, 1973, **528**, 520-528.
- ZINEDINE A., FAID M., BENLEMLIH M. Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait et les produits laitiers par méthode microbiologique. *Rev. Microbiol. Indust. Sanit. Environ.*, 2007, **1**, 1-9.

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the page. The motifs are stylized, symmetrical designs with multiple petals and a central stem, arranged in a continuous line.

ANNEXES

ANNEXE 1

Questionnaire pour l'obtention des informations sur les méthodes des élevages étudiés et les principaux facteurs influençant la contamination.

Elevage N° :

Date :

Région :

Questionnaire N° :

I. Caractéristiques des vaches laitières prélevées :

- a). Nombre de vaches total :
- b). Type de stabulation :
- c). La ration alimentaire des vaches en lactation :
- d). Préciser les informations du tableau suivant :

N° de vache	Age (ans)	Nb gestations	Race	Quantité du lait (l/j)	Forme des trayons	Stade de lactation
.....						
.....						

II. Caractéristiques de la litière :

- a). Nature de la litière :
- b). Paillage (nature, fréquence de changement) :
- c). Fréquence d'enlèvement du fumier :
- d). Désinfection après enlèvement ? :

III. La traite : (Questions dirigées aux personnes qui pratiquent la traite)**a). La mamelle :**

- Vous intéressez-vous à la conformation de la mamelle de vos vaches ?
✓ Oui Non
- Portez-vous une attention particulière aux lésions éventuelles des trayons ?
✓ Si Oui, la quelle ? :

b). Type de la traite :

- ✓ Manuelle Mécanique

c). Pratiques de traite :

- Quelle est la date de la mise en service de votre machine ?.....
- Faites-vous contrôler régulièrement votre machine à traire ?
✓ Non Oui
- Préciser les informations du tableau suivant :

Paramètre		Oui ou non
Nettoyage de machine à traire	Eau seulement	
	Eau + produit nettoyant	
Lavage des mains des trayeurs	Pratiquée	
	Absente	
Lavage des mamelles et des trayons avant la traite	Absence	
	Lavage collectif	
Essuyage des trayons	Pratiquée	
	Absente	
Désinfectons des trayons après la traite	Pratiquée	
	Absente	
Elimination des 1 ^{ers} jets	Sans	
	Pratiquée	

IV. Destination du lait produit :

☒

ANNEXE 2

I. Matériel de laboratoire

Il s'agit du matériel habituel des laboratoires de microbiologie alimentaire. Il est constitué de :

I.1. Appareils

- ✓ Réfrigérateur.
- ✓ Hotte à flux laminaire.
- ✓ Stomacher pour le broyage ou homogénéisation.
- ✓ Agitateur de tube (Vortex).
- ✓ Bec bunsen.
- ✓ Spectrophotomètre, électrophorèse.
- ✓ Thermocycleur.
- ✓ Mixeur.
- ✓ Balance pour la pesée.
- ✓ Etuves.
- ✓ Compteur de colonies.
- ✓ Bain Marie.
- ✓ Autoclave Vertical, four Pasteur (stérilisateur).
- ✓ Distillateur d'eau.

I.2. Petit matériel

- ✓ Tube à essai.
- ✓ Thermomètre.
- ✓ Pipettes graduées (1 à 10ml).
- ✓ Sachets plastiques.
- ✓ Portoirs.
- ✓ Papiers hygiéniques.
- ✓ Boîtes de pétri.
- ✓ Couteaux, pince, ciseaux.
- ✓ Bécher.
- ✓ Pipette pasteur.
- ✓ Erlenmeyer.
- ✓ Flacons.
- ✓ Eprouvette.
- ✓ Etaleur.

II. Réactifs et milieux de dilution

Les réactifs sont constitués de :

- ✓ L'eau oxygénée (H₂O₂).
- ✓ Le plasma de lapin.
- ✓ Le jaune d'œuf.
- ✓ La tellurite de potassium.
- ✓ Le Bouillon cœur cerveau (BCC).
- ✓ La solution de tryptone sel (TSE).
- ✓ Bouillon TSB (Tryptone Soya Broth).
- ✓ Solution DPBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline).
- ✓ Lysis buffer (50Mm Tris-Hcl, 100 Mm EDTA, 1% SDS, pH 8).
- ✓ PK buffer.
- ✓ Phénol.
- ✓ Chloroforme.

- ✓ Butanol.
- ✓ TE buffer.
- ✓ Ethanol.
- ✓ NaCl.
- ✓ 10 XPCR buffer.
- ✓ MgCl₂ 4Mm.
- ✓ 200 µMdNTP.
- ✓ Nuc Primer-3' 300nm (1 :30).
- ✓ Nuc Primer-5' 300nm (1 :30).
- ✓ Primer-5'=G1 800nm (1 :12).
- ✓ Primer-3'=L1 800nm (1 :12)
- ✓ 2,5U Taq polymérase.
- ✓ L'eau.

III. Milieux d'isolement et d'identification

Les milieux d'isolement sont constitués essentiellement de :

III.1. La gélose Baird Parker (BP)

Composition et Préparation : Constituants	Quantité
Peptone pancréatique de caséine.	10,0 g.
Extrait de levure.	1,0 g.
Extrait de viande.	5,0 g.
Chlorure de lithium.	5,0 g.
Agar-agar bactériologique.	12 g à 22 g.
Eau.	900 ml.
Sulfaméthazine.	25,0 ml.
- Faire fondre le milieu de base, puis refroidir à environ 47 °C au moyen du bain d'eau.	
- Ajouter les réactifs (Tellurite de potassium et émulsion de jaune d'œuf du commerce), en mélangeant soigneusement après chaque addition de façon aseptique.	

III.2. La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL)

Composition et Préparation : Constituants	Quantité en g/l
Peptone pepsique de viande	10
Bile de bœuf desséchée	20
Lactose	10
Vert brillant	2ml
Dissoudre 40 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH=7,4	

III.3. La gélose (PCA)

Composition et Préparation : Constituants	Quantité en g/l
Digéré enzymatique de caséine	5
Extrait de levure	2,5
Glucose anhydre	1
Agar bactériologique	15
Dissoudre 48 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH =7,0±0,2	

III.4. Milieu de Rothe

Composition et Préparation : Constituants	Quantité en g/l
Peptone de caséine	20
Extrait de viande	1,5
Glucose	4
Chlorure de sodium	5
Phosphate dipotassique	2,7
Phosphate monopotassique	2,7
Azide de sodium	0,2
Dissoudre 36,1 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH =6,9±0,1	

III.5. Milieu Tryptose-Sulfite à la Cyclosérine (TSC)

Composition et Préparation : Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	15
Peptone de soja	5
Extrait de levure	5
Bisulfite de sodium	1
Citrate ferrique ammoniacal	1
Agar	18
Dissoudre 42 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH =7,6±0,2	

III.6. Bouillon cœur – cervelle (BHIB)

Composition et Préparation : Constituants	Quantité en g/l
Protéoses peptone	10
Infusion de cervelle veau	12,5
Infusion de cœur bœuf	5
Glucose	2
Chlorure de sodium	5
Hydrogénophosphate de sodium	2,5
Dissoudre 50 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,4±0,2	

IV. Milieu Mueller Hinton

Composition et Préparation : Constituants	Quantité en g/l
Extrait de viande	3
Hydrolysate acide de caséine	17,5
Amidon	1,5
Agar	16
Dissoudre 38 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH =7,4	

V. Gélose nutritive

Composition et Préparation : Constituants	Quantité en g/l
Peptone	10
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Agar	18
Dissoudre 39 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH =7,3±0,2	

VI. Eau physiologique

Composition et Préparation : Constituants	Quantité en g/l
Chlorure	9
Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7	

ANNEXE 3**I. Résultats de la recherche des cinq indicateurs bactériens dans le lait cru de la ferme des deux régions d'étude.****Tableau I : Répartition des résultats de la contamination du lait cru individuel selon les races dans les deux régions d'étude.**

Régions et races			FMAT	EC	CT	<i>S. aureus</i>	CSR
Jijel	Ra	Np/ Nt	110/110	30/110	38/110	13/110	4/110
		%	100	27,2	34,5	11,8	3,6
	Rl	Np/ Nt	59/59	6/59	9/59	15/59	1/59
		%	100	10,2	15,3	25,4	1,7
Blida	Ra	Np/ Nt	168/168	45/168	65/168	23/168	5/168
		%	100	26,8	38,7	13,7	3,0
	Rl	Np/ Nt	23/23	4/23	6/23	7/23	2/23
		%	100	17,4	26,1	30,4	8,7
Total (%)	Np/ Nt	360/360	85/360	118/360	58/360	12/360	
	%	100	23,6	32,8	16,1	3,3	

Rl : Race locale, Ra : Race améliorée, Np : Nombre des échantillons positifs, Nt : Nombre des échantillons testés.

Tableau II : Répartition des résultats de la contamination du lait cru des chariots trayeurs selon les deux régions d'étude.

Régions		FMAT	EC	CT	<i>S. aureus</i>	CSR
Jijel	Np/ Nt	29/29	6/29	9/29	5/29	1/29
	%	100	20,7	31,0	17,2	3,4
Blida	Np/ Nt	24/24	8/24	13/24	7/24	1/24
	%	100	33,3	54,2	29,2	4,2
Total	Np/ Nt	53/53	14/53	22/53	12/53	2/53
	%	100	26,4	41,5	22,6	3,8

Np : Nombre des échantillons positifs, Nt : Nombre des échantillons testés.

Tableau III : Répartition des résultats de la contamination du lait cru des cuves de stockage selon les deux régions d'étude.

Régions		FMAT	EC	CT	<i>S. aureus</i>	CSR
Jijel	Np/ Nt	29/29	15/29	19/29	14/29	1/29
	%	100	51,7	65,5	48,3	3,4
Blida	Np/ Nt	24/24	19/24	21/24	17/24	2/24
	%	100	79,2	87,5	70,8	8,3
Total	Np/ Nt	53/53	34/53	40/53	31/53	3/53
	%	100	64,2	75,5	58,5	5,7

Np : Nombre des échantillons positifs, Nt : Nombre des échantillons testés.

II. Résultats de dénombrement des cinq indicateurs bactériens dans le lait cru de la ferme et des points de vente des deux régions d'étude.

Tableau IV : Résultats des dénombrements bactériologiques des échantillons de lait cru individuel (en ufc/ml).

	FMAT (10^6)	EC (10^2)	CT (10^3)	<i>S. aureus</i> (10^3)	CSR (10^0)
1	1,5	0	0	0	0
2	1,3	0	0	0	0
3	1,1	0	0	0	0
4	1,2	0	7,9	0	0
5	0,2	0	0	0	0
6	1,5	0	0	0	0
7	0,2	5,4	10,2	0	0
8	1,3	16,2	0	38,2	0
9	1,4	0	5,0	0	0
10	1,6	0	0	0	0
11	0,5	7,8	0	25,5	0
12	0,8	0	7,8	0	0
13	1,6	9,1	5,2	0	0
14	1,8	0	0	0	0
15	0,4	0	0	0	0
16	1,9	0	9,5	10,9	0
17	1,2	0	0	0	0
18	1,7	0	0	0	0
19	0,4	18,4	0	0	0
20	0,1	0	0	0	0
21	1,1	2,1	0	0	0
22	1,5	22,5	0	0	0
23	2,1	0	0	0	0
24	2,4	0	9,2	0	0
25	0,9	0	0	0	0
26	0,9	0	0	0	0
27	2,4	15,1	0	11,8	0
28	0,6	0	8,5	0	0
29	2,2	0	0	0	0
30	1,5	0	0	0	0
31	1,4	14,3	11,5	0	0
32	1,2	21,1	0	0	0
33	0,4	0	0	0	0
34	1,5	0	0	0	0
35	1,2	13,5	6,8	22,7	200
36	0,6	0	0	0	0
37	0,6	0	12,4	0	0

38	0,3	0	0	0	0
39	0,3	0	0	0	9,1
40	1,3	0	0	0	0
41	0,7	0	0	0	0
42	2,1	13,5	7,9	0	0
43	1,3	18,4	4,3	0	0
44	1,7	0	0	38,2	0
45	1,1	0	0	0	0
46	2,3	0	0	0	0
47	2,3	0	13,2	0	0
48	0,05	19,0	0	0	0
49	1,9	0	0	48,2	0
50	0,9	0	1,2	0	0
51	0,8	0	0	0	0
52	1,9	0,8	0	0	0
53	2,1	0	1,7	0	0
54	1,6	0	0	0	0
55	2,1	0	8,2	0	0
56	1,9	0	4,7	0	0
57	1,3	22,9	0	0	0
58	1,5	0	0	8,2	0
59	1,2	0	2,3	0	0
60	2,2	18,9	0	0	0
61	1,9	0	0	0	0
62	1,8	0	10,5	0	0
63	1,5	0,3	6,1	0	0
64	1,3	4,0	0	0	0
65	1,6	0	0	0	0
66	2,9	0	0	0	0
67	1,5	0	12,5	0	0
68	1,4	9,0	0	0	0
69	1,5	0,9	2,5	0	0
70	1,3	0,2	0	0	0
71	1,2	0	10,2	11,8	0
72	1,9	0	0	0	0
73	3,2	0	0	0	0
74	1,6	0,6	9,2	0	90,9
75	1,2	0	2,5	0	0
76	1,7	0	7,6	0	0
77	1,6	0,3	0	0	0
78	2,1	0	0	0	0
79	1,8	0	0	0	0
80	1,9	18,2	2,1	0	0
81	0,7	0	3,7	16,4	0

82	0,8	0	4,9	0	0
83	1,1	0	0	0	0
84	0,5	0	0	0	0
85	0,7	18,1	8,2	0	0
86	1,5	0	0	0	0
87	2,3	0	5,3	0	0
88	1,7	0	0	0	0
89	1,5	11,5	0	16,4	0
90	0,4	0	0	0	0
91	0,3	0	4,6	0	0
92	1,4	0	0	0	0
93	1,6	11,8	6,2	0	0
94	2,0	0	3,2	0	0
95	0,1	0	0	0	0
96	0,2	0	9,3	0	0
97	0,1	0	10,5	0	0
98	2,3	0	0	6,4	0
99	0,4	12,9	0	0	0
100	1,3	11,0	0	0	0
101	1,5	0	0	0	0
102	0,2	0	0	0	0
103	0,3	0	0	0	0
104	2,3	0	0	14,5	27,3
105	0,4	0	4,5	0	0
106	0,4	0	0	0	0
107	1,6	0	0	0	0
108	1,3	0	0	0	0
109	0,3	0	0	0	0
110	0,2	0	0	0	0
111	0,2	0	0	0	0
112	0,2	19,2	9,5	0	0
113	0,1	0	0	0	0
114	0,3	0	0	4,5	0
115	2,2	0	0	0	0
116	2,9	0	0	0	0
117	0,4	0,4	0	0	0
118	0,5	0	0	0	0
119	0,3	0	0	0	0
120	1,1	0	1,3	101,8	0
121	2,1	0	0	0	0
122	0,2	0	0	0	0
123	0,3	0	0	0	0
124	2,5	10,1	0	0	0
125	0,5	0	10,2	0	0

126	0,2	0	0	7,3	0
127	0,1	0	0	0	0
128	0,2	0	0	13,6	0
129	2,1	0	0	0	0
130	0,3	0	0	0	0
131	1,4	0	9,3	5,5	0
132	0,4	0	0	45,5	0
133	0,4	23,5	0	0	0
134	6,0	0	0	0	0
135	0,5	0	0	0	0
136	0,7	0	8,3	0	0
137	0,7	0	0	0	0
138	0,6	0	0	0	0
139	0,4	0	0	0	0
140	0,7	0	0	0	0
141	1,2	0	0	0	0
142	1,4	0	0	0	0
143	2,0	0	0	0	0
144	0,4	0	0	11,8	0
145	1,2	0	8,4	0	0
146	2,0	0	0	0	0
147	1,2	0,5	0	56,4	0
148	0,3	0	0	0	0
149	0,5	0	0	0,9	0
150	0,5	0	0	0	0
151	0,6	0	7,4	0	0
152	0,3	0	0	80,0	0
153	0,3	0	0	0	109,1
154	0,1	0	0	92,7	0
155	1,5	0	0	0	0
156	0,2	0	0	0	0
157	0,4	0	0	15,5	0
158	0,6	0	0	0	0
159	0,3	0	0	0	0
160	0,4	0	0	10,0	0
161	1,8	0	0	0	0
162	1,5	98,7	10,9	0	0
163	0,6	0	0	0	0
164	0,5	0	0	64,5	0
165	0,3	0	0	0	0
166	0,5	0	0	0	0
167	0,6	0	0	54,5	0
168	0,7	0	0	0	0
169	0,5	0	3,6	0	0

170	0,6	0	6,7	35,5	0
171	0,5	0	0	0	0
172	2,3	12,2	11,3	0	0
173	2,4	0	3,2	0	0
174	0,6	0	0	0	0
175	0,1	0	0	0	0
176	1,1	20,4	0	0	0
177	0,4	23,2	9,0	0	0
178	0,4	0	7,6	0	0
179	0,4	0	0	30,0	0
180	0,1	17,4	12,0	0	0
181	0,1	0	13,7	0	0
182	1,9	19,8	0	0	0
183	2,3	0	0	0	0
184	0,4	0	0	26,4	0
185	0,4	20,0	6,3	0	0
186	2,1	21,4	8,4	0	0
187	1,4	22,0	0	0	0
188	0,3	0	0	0	0
189	1,8	0	11,7	0	0
190	0,5	0	0	0	0
191	0,3	19,4	1,8	0	0
192	1,5	0	0	0	0
193	1,8	10,4	6,1	0	0
194	1,5	0,8	3,4	24,5	0
195	0,4	0	0	0	72,7
196	0,5	13,5	0	0	0
197	0,6	0	7,0	0	0
198	0,7	0	0	0	0
199	2,3	0,7	0	0	0
200	1,1	0	6,1	0	0
201	1,1	0	0	58,2	0
202	0,3	0	0	0	0
203	0,6	13,5	0,9	0	0
204	1,9	14,6	0,5	0	0
205	1,1	0	0	0	0
206	1,1	15,2	10,2	0	0
207	0,2	0	0	0	0
208	0,4	0	0	0	0
209	0,4	0	8,9	0	0
210	1,1	0	0	0	0
211	1,9	0	1,7	0	0
212	1,8	18,0	0	0	0
213	0,2	0	5,2	126,3	0

214	0,1	0	0	0	0
215	1,2	0	0	0	0
216	0,4	16,0	0	0	0
217	0,7	0	11,8	113,6	0
218	1,1	0	13,5	0	0
219	1,5	0	0	0	0
220	0,1	14,8	0	0	0
221	0,6	14,3	0	0	0
222	1,1	12,4	12,1	0	0
223	0,5	0	10,4	0	0
224	1,4	0	0	0	36,4
225	1,1	0	0	0	0
226	2,3	21,3	0	0	0
227	0,9	16,0	10,7	0	0
228	1,4	0	13,1	0	0
229	1,5	0	0	0	0
230	1,0	0	0	0	0
231	0,1	0	0	41,8	0
232	0,6	0	9,3	0	0
233	1,2	13,0	6,6	0	0
234	1,7	0	2,3	0	0
235	1,7	0	0	0	0
236	1,1	0	0	0	0
237	0,3	0,7	0	0	0
238	0,7	0,6	7,2	0	0
239	0,5	0	0	0	0
240	1,9	0	0	36,4	0
241	1,2	0	0	0	0
242	0,4	0,3	9,1	0	0
243	0,4	0	0	7,3	0
244	0,4	0	0	0	0
245	0,5	0	3,5	0	0
246	0,3	0	0	0	0
247	1,8	0	0	21,8	0
248	1,7	16,0	8,8	0	0
249	0,3	0	0	0	0
250	0,1	13,3	0,5	0	0
251	1,6	0	0	0	0
252	0,1	0	0	0	0
253	1,8	11,3	7,2	0	0
254	1,1	0	0	0	0
255	0,1	0,5	7,4	0	0
256	2,0	0	6,4	0	0
257	0,3	0	0	35,5	0

258	0,2	0	5,3	0	0
259	0,4	0	0	0	200
260	0,5	0	8,6	0	0
261	1,7	0	0	0	0
262	0,5	0,7	0	0	0
263	0,1	0	2,3	0	0
264	1,7	0	0	0	0
265	1,8	0	7,5	0	0
266	0,7	0	0	97,3	0
267	0,7	0	0	0	0
268	0,4	0	3,2	0	0
269	2,2	0,8	0	0	0
270	0,4	0	0	0	0
271	1,4	0	0	0	0
272	1,4	0	0	0	0
273	0,2	0	0	0	0
274	0,5	0	0	0	0
275	0,2	0	0	0	0
276	1,4	0	0	0	0
277	1,3	0	2,3	0	0
278	1,8	0	0	0	200
279	0,5	0,5	0	100,9	0
280	0,6	0	0	0	0
281	0,4	0	2,6	0	0
281	1,3	0	0	0	0
283	1,4	0	0	0	0
284	1,2	0	0	69,1	0
285	0,9	12,4	0	0	0
286	1,3	0	0	0	0
287	1,9	0	9,6	72,7	0
288	0,3	0	0	0	0
289	0,5	10,9	0	0	0
290	1,0	0	0	0	0
291	0,6	0	9,8	0	0
292	0,3	0	9,8	0	0
293	1,8	0	7,8	0	0
294	1,7	10,8	0	28,2	0
295	1,4	0	0	0	0
296	1,0	0	0	0	0
297	0,9	16,4	4,2	0	0
298	1,3	0	0	0	0
299	1,43	0	7,9	0	0
300	1,3	0	2,2	0	0
301	1,5	0	4,5	27,3	0

302	0,5	0	0	0	0
303	0,6	0	10,0	0	0
304	1,2	0	0	0	0
305	1,5	0	1,5	6,3	0
306	1,1	11,6	6,5	0	0
307	1,5	0	0	0	0
308	1,7	0	0	0	0
309	1,8	0	0	0	318,2
310	1,3	0	9,3	0	0
311	1,7	0	0	0	0
312	1,2	0	0	0	0
313	0,2	19,6	0	0	0
314	1,8	0	0	0	0
315	1,9	0	0	0	0
316	1,5	0	0	0	0
317	1,8	0	0	87,3	0
318	1,4	0	0	0	0
319	0,2	0	4,0	0	0
320	0,4	17,1	9,1	0	0
321	1,4	0	0	0	0
322	1,5	0	0	101,8	0
323	2,1	19,2	0	0	0
324	0,2	0	9,8	0	0
325	0,7	0	0	0	0
326	1,4	0	6,7	0	0
327	0,4	0	7,5	0	0
328	2,7	21,8	0	0	0
329	1,9	0	1,5	0	0
330	1,5	0	0	0	0
331	2,2	17,0	11,2	0	0
332	1,5	0	0	115,5	0
333	1,7	0	0	0	0
334	2,2	0	0	0	0
335	2,1	0	0	0	0
336	2,4	0	0	0	0
337	1,2	19,7	2,0	90,9	0
338	1,1	0	0	0	0
339	1,8	0	0	93,6	145,5
340	1,6	0	0	148,2	0
341	1,3	0	4,4	0	0
342	1,1	0	0	0	0
343	0,8	0	0	0	0
344	1,8	0	2,7	134,5	0
345	2,4	0	0	0	0

346	1,6	0,6	1,5	0	0
347	0,4	0,7	0	0	0
348	0,5	0	0	104,5	0
349	1,6	0	0	0	0
350	0,5	0	0	90,9	0
351	1,4	0	0	0	0
352	1,3	0	0	0	0
353	0,7	0,2	0	0	0
354	1,6	0	11,8	47,3	0
355	0,9	0	5,2	0	181,8
356	1,9	0	0	0	0
357	2,0	0	0	44,5	0
358	1,4	0	0	0	0
359	1,3	18,7	3,3	0	0
360	1,4	0	0	0	0
Moyenne	1,1	3,1	2,2	7,9	4,4

Région de Jijel : de l'échantillon n°1 à l'échantillon n°169 (races améliorées : de l'échantillon n°1 à l'échantillon n°110 et les races locales : de l'échantillon n°111 à l'échantillon n°169).

Région de Blida : de l'échantillon n°170 à l'échantillon n°360 (races améliorées : de l'échantillon n°170 à l'échantillon n°337 et les races locales : de l'échantillon n°338 à l'échantillon n°360).

Tableau V : Résultats des dénombrements bactériologiques des échantillons de lait cru des chariots trayeurs (en ufc/ml).

	FMAT (10⁷)	EC (10³)	CT (10⁴)	<i>S. aureus</i> (10³)	CSR (10⁰)
1	2,5	0	0	0	0
2	1,9	0	0	0	0
3	2,2	0	4,5	0	0
4	2,4	0	0	18,2	0
5	2,3	4,7	0	0	0
6	1,9	0	1,5	0	0
7	2,6	0	0	0	0
8	1,8	0	2,2	29,1	0
9	2,2	0	0	0	0
10	1,8	0	1,8	0	0
11	2,1	1,5	0	0	0
12	2,3	0	0,9	0	0
13	1,5	0	0,5	0	0
14	2,1	0	0	19,1	0
15	2,4	1,4	4,4	0	0
16	2,2	0	0	0	0
17	2,3	0	0	0	0
18	2,3	0	0	0	0
19	2,2	0	0	49,1	0
20	1,7	0	0	0	0
21	2,6	0	6,7	0	0
22	2,5	2,5	0	0	0
23	2,2	0	0	0	0
24	2,6	0	0	0	0
25	2,1	0	0	0	0
26	1,5	0	2,4	0	0
27	2,4	5,1	0	0	0
28	2,2	0	0	0	0
29	1,3	8,5	0	38,2	136,4
30	2,0	0	0	0	0
31	1,8	0	3,0	0	0
32	2,5	0	3,8	0	0
33	2,7	9,1	5,2	0	0
34	1,6	0	0	27,3	0
35	2,0	0	2,8	0	0
36	2,6	0	0	0	0
37	2,8	7,9	6,0	0	0
38	1,4	0	0	0	0
39	2,3	1,2	1,8	55,5	0
40	2,2	0	0	0	0

41	2,1	0	0,8	30,9	0
42	1,7	0	1,3	0	0
43	1,8	8,6	0	0	0
44	1,9	0	1,2	35,5	0
45	1,4	1,9	0	0	0
46	1,3	0	3,2	0	190,9
47	0,6	8,2	3,1	43,6	0
48	1,9	0	0	0	0
49	2,6	1,2	10,0	78,2	0
50	2,3	2,0	0	0	0
51	2,5	0	0	0	0
52	1,7	0	2,5	0	0
53	1,2	0	0	96,4	0
Moyenne	2,1	1,2	1,3	9,8	6,1

Région de Jijel : de l'échantillon n°1 à l'échantillon n°29.

Région de Blida : de l'échantillon n°30 à l'échantillon n°53.

Tableau VI : Résultats des dénombrements bactériologiques des échantillons de lait cru des cuves de stockage (en ufc/ml).

	FMAT (10^8)	EC (10^5)	CT (10^6)	<i>S. aureus</i> (10^4)	CSR (10^0)
1	8,2	0	0	0	0
2	5,6	8,3	3,3	2,1	0
3	4,3	5,7	0	0	0
4	5,1	0	2,2	3,0	0
5	8,6	9,5	5,2	0	0
6	3,5	0	2,5	1,3	0
7	7,8	0	0	0	0
8	8,6	10,4	10,5	2,5	0
9	3,5	4,1	0	2,0	0
10	8,6	0	3,3	0,9	0
11	8,1	6,5	2,0	0	0
12	7,3	1,9	8,2	5,6	0
13	3,5	0	4,5	0	0
14	7,4	33,5	0	1,5	0
15	8,5	7,3	5,6	1,2	161,8
16	1,4	0	0	0	0
17	8,4	10,2	9,3	2,7	0
18	5,4	8,2	0	0	0
19	7,9	0	1,9	0	0
20	4,3	1,8	7,9	11,2	0

21	1,4	0	0	0	0
22	8,6	0	1,4	2,9	0
23	4,1	2,5	10,2	7,9	0
24	8,6	0	1,6	0	0
25	8,2	0	0	12,9	0
26	8,1	5,4	3,6	0	0
27	9,1	0	3,6	0	0
28	8,6	0	2,0	0	0
29	9,1	9,8	0	0	0
30	9,3	6,1	1,8	11,4	0
31	8,9	2,6	0	2,0	0
32	3,4	2,5	1,9	0	0
33	4,1	1,6	1,2	11,1	0
34	4,8	0	9,6	2,1	0
35	8,6	4,0	3,6	1,6	0
36	9,8	4,3	8,2	4,0	0
37	1,5	0	1,6	0	153,6
38	9,3	2,9	8,8	1,3	0
39	4,2	3,7	8,3	0	0
40	9,6	3,8	1,8	11,0	0
41	8,6	1,4	5,8	1,5	0
42	2,7	5,4	6,1	0	0
43	8,4	7,6	8,8	3,0	0
44	8,6	5,0	3,9	11,3	0
45	2,8	0	4,4	2,0	0
46	1,2	6,2	1,7	4,1	0
47	8,6	9,8	0,8	1,2	0
48	6,4	0	0	3,8	0
49	7,3	4,5	3,4	1,9	0
50	1,8	3,9	10,0	0	0
51	8,6	9,5	0	8,2	0
52	9,9	0	9,4	0	0
53	6,8	8,6	8,3	0	130,9
Moyenne	6,5	4,1	3,7	2,6	8,4

Région de Jijel : de l'échantillon n°1 à l'échantillon n°29.

Région de Blida : de l'échantillon n°30 à l'échantillon n°53.

Tableau VII : Résultats des dénombrements bactériologiques des échantillons de lait cru des points de vente (en ufc/ml).

	FMAT (10⁵)	EC (10⁴)	CT (10⁴)	<i>S. aureus</i> (10²)	CSR (10¹)
1	8,7	0	0	0	0
2	10,7	0	10,7	0	0
3	10,6	0	0	0	0
4	0,5	0	11,1	0	0
5	1,0	0	0	0	0
6	2,0	0	0	0	0
7	10,9	13,1	6,3	0	0
8	8,8	5,3	0	9,1	0
9	10,0	0	0	0	0
10	8,4	0	10,0	0	0
11	5,2	3,5	0	0	0
12	8,9	0	0	0	0
13	8,7	7,3	8,9	0	0
14	10,3	0	0	0	0
15	6,9	0	0	0	0
16	2,4	0	0	0	0
17	8,8	0	0	0	0
18	5,0	0	7,6	0	0
19	0,5	0,3	7,0	0	0
20	1,2	0	0	0	0
21	3,0	3,0	11,3	0	0
22	4,7	0	0	0	0
23	12,5	0	0	0	11,8
24	9,2	0	0	0	0
25	2,5	0	0	0	0
26	7,6	1,8	1,9	0	0
27	10,2	0	0	118,2	0
28	1,7	0	11,6	0	0
29	6,1	0	0	0	0
30	9,8	0	0	0	0
31	4,0	0	3,5	0	0
32	4,3	6,4	9,0	0	0
33	11,2	0	6,1	0	0
34	9,6	0	1,1	0	0
35	1,1	10,5	0	0	0
36	10,2	0	0	0	26,4
37	11,3	8,1	3,1	0	0
38	10,2	0	0	0	0
39	3,4	0	0	0	0
40	8,3	0	0	0	0

41	7,9	3,3	4,5	0	9,1
42	12,0	0	0	0	0
43	10,5	0	0	0	0
44	4,5	3,5	0	118,2	0
45	10,4	0	10,3	0	0
46	10,4	2,4	0	0	0
47	8,6	0	0	0	0
48	0,5	10,0	6,2	0	0
49	10,0	0	0	0	0
50	1,7	0	6,6	0	0
51	9,0	9,9	0	0	0
52	12,0	0	4,5	18,2	0
53	8,2	11,7	0	0	0
54	12,3	6,4	5,3	9,1	0
55	3,8	0	9,8	0	21,8
56	7,1	12,82	10,0	0	0
57	1,3	0	10,7	0	0
58	10,5	2,4	13,4	81,8	0
59	9,1	7,9	0	0	0
60	10,3	6,2	0	0	19,1
61	1,1	3,2	10,4	90,1	0
62	1,327	10,0	10,2	36,4	0
63	8,3	9,0	10,9	0	0
64	3,0	0	0	0	0
65	6,2	9,9	9,8	0	0
66	12,4	9,1	0	0	18,1
67	2,0	0	10,5	0	0
68	1,6	8,3	0	0	0
69	11,8	0	9,5	0	0
70	1,2	3,4	5,3	0	0
71	6,1	0	12,5	27,3	0
72	6,1	5,0	6,1	0	0
73	3,4	0	0	0	0
74	11,3	10,5	13,4	0	0
75	4,7	0	0	0	0
76	11,2	0	0	0	0
77	12,4	8,8	10,6	0	0
78	7,0	0	10,8	0	0
79	8,3	7,6	0	0	0
80	10,0	10,1	8,8	0	0
81	3,9	0	4,6	163,6	0
82	5,5	7,1	10,8	0	0
83	11,1	0	0	0	0
84	10,7	0	11,3	0	0

85	8,9	3,2	8,1	45,5	0
86	8,2	0	0	0	0
87	6,5	0	0	0	0
88	5,0	4,5	0	0	0
89	11,5	0	7,4	72,7	0
90	6,4	8,7	0	0	0
91	7,2	5,2	0	0	0
92	3,7	0	8,6	0	0
93	6,0	0	11,0	0	0
94	7,9	2,9	0	0	21,8
95	1,3	0	0	0	0
96	5,3	0	0	0	25,4
97	10,2	0	0	0	0
98	8,2	0	12,2	27,3	0
99	2,5	0	0	0	0
100	15,3	0	4,8	63,6	0
101	8,3	4,2	0	0	0
102	3,1	10,7	8,2	0	28,1
103	8,3	0	12,5	0	0
104	2,3	0	0	0	0
105	4,9	0	10,7	0	0
106	16,8	10,3	11,0	0	0
107	6,3	0	0	0	0
108	3,7	0	15,5	0	30,0
109	7,6	10,1	9,9	0	0
110	2,1	0	0	0	0
111	6,9	0	0	0	0
112	14,1	0	5,5	0	0
113	7,5	4,5	0	0	0
114	2,1	0	12,6	0	0
115	2,1	0	9,8	0	0
116	13,8	0	0	0	0
117	10,5	0	0	63,6	0
118	2,1	9,9	0	0	0
119	4,0	0	0	0	0
120	10,1	2,8	0	0	0
121	1,2	0	6,0	0	0
122	10,1	0	7,1	0	0
123	9,5	0	0	0	0
124	17,0	2,5	2,9	27,3	25,4
125	7,4	0	0	0	0
126	2,1	0	10,5	0	0
127	8,5	13,5	0	0	0
128	2,8	0	0	0	32,7

129	13,5	0	0	9,1	0
130	2,4	12,4	0	27,3	36,3
131	8,3	0	9,2	0	0
132	4,5	1,5	12,4	0	7,2
133	7,5	0	10,7	18,2	0
134	4,8	8,9	0	0	16,3
135	5,7	8,0	7,7	18,2	0
136	15,1	11,0	10,9	0	0
137	17,2	10,0	4,2	0	0
138	11,2	0	0	81,8	0
139	4,2	0	11,5	0	0
140	4,6	0	0	0	0
141	5,8	0	8,4	0	0
142	6,0	0	0	0	0
143	1,6	8,7	5,6	0	0
144	8,5	9,2	10,9	18,2	0
145	4,6	0	10,1	0	0
146	4,5	0	10,2	0	0
147	18,1	0	0	0	0
148	12,7	0	12,1	54,5	0
149	2,4	0	8,9	0	0
150	13,1	0	8,2	0	0
151	8,3	0	10,5	36,4	0
152	4,4	14,0	0	0	0
153	3,5	0	0	0	0
154	11,3	0	0	0	0
155	2,5	12,3	0	0	0
156	8,3	3,8	8,0	45,5	0
157	5,0	0	10,4	0	0
158	5,2	0	0	0	12,7
159	8,3	0	0	0	0
160	2,3	8,0	0	0	0
161	8,5	4,5	9,9	0	0
162	5,6	0	10,9	0	21,8
163	2,0	3,6	0	9,1	5,4
164	11,0	0	0	0	0
165	8,3	0	0	0	0
166	9,5	2,2	7,5	0	0
167	6,5	1,2	0	0	0
168	3,3	0	9,4	0	0
169	8,2	0	12,0	0	0
170	9,5	0	7,3	127,2	0
171	9,0	10,3	9,4	0	0
172	3,5	8,3	8,6	0	31,8

173	5,5	7,6	0	100,0	0
174	18,2	0	0	0	0
175	3,5	1,2	5,1	0	0
176	6,7	0	4,5	63,6	0
177	3,2	0	3,6	0	37,2
178	8,0	7,8	8,4	0	0
179	13,7	0	0	81,8	0
180	5,6	0	5,5	0	25,4
181	11,5	5,9	7,3	0	0
182	7,3	9,9	7,5	8,8	0
183	4,9	0	10,5	0	0,9
184	8,7	3,3	10,0	18,2	0
185	6,0	8,2	6,7	54,5	0
186	3,8	0	0	0	0
187	8,3	0	8,8	0	0
188	3,8	4,0	9,5	0	0
189	4,2	4,5	0	0	11,8
190	10,0	0	10,2	9,1	0
191	12,5	9,9	9,9	0	33,6
192	8,3	10,5	4,5	0	0
Moyenne	7,2	2,8	4,6	9,1	2,7

Région de Jijel : de l'échantillon n°1 à l'échantillon n°96 (PV A_J: de l'échantillon n°1 à l'échantillon n°24, PV B_J: de l'échantillon n°25 à l'échantillon n°48, PV C_J: de l'échantillon n°49 à l'échantillon n°72, PV D_J: de l'échantillon n°73 à l'échantillon n°96).

Région de Blida : de l'échantillon n°97 à l'échantillon n°192 (PV A_B: de l'échantillon n°97 à l'échantillon n°120, PV B_B: de l'échantillon n°121 à l'échantillon n°144, PV C_B: de l'échantillon n°145 à l'échantillon n°168, PV D_B: de l'échantillon n°169 à l'échantillon n°192).

ANNEXE 4

Résultats de la recherche des inhibiteurs bactériens dans le lait cru de la ferme des deux régions d'étude.

Tableau I : Répartition des résultats de la recherche des inhibiteurs bactériens dans le lait cru individuel selon les races dans les deux régions d'étude.

Régions et races		Lait de pis	
		Np/ Nt	%
Jijel	Races locales	17/59	28,8
	Races Améliorées	32/110	29,1
Blida	Races locales	10/23	43,5
	Races Améliorées	51/168	30,4
Total (%)		110/360	30,6

Tableau II : Répartition des résultats de la recherche des inhibiteurs bactériens dans le lait cru des chariots trayeurs et des cuves de stockage selon les deux régions d'étude.

Régions	Lait du chariot trayeur		Lait des cuves	
	Np/ Nt	%	Np/ Nt	%
Jijel	5/29	17,2	4/29	13,8
Blida	9/24	37,5	6/24	25,0
Total (%)	14/53	26,4	10/53	18,9

ANNEXE 5

Tableau I : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* (selon le manuscrit de la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale : médecine humaine et vétérinaire, 6^{ème} Edition 2011).

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
Pénicilline	10 µg	≤28	-----	≥29
tétracycline	30µg	≤14	15-18	≥19
Amoxicilline	25µg	<14	-----	≥21
Enrofloxacin	5µg	≤16	17-22	≥23
Vancomycine	30µg	-----	-----	≥15
SXT	1.25/23.5µg	≤10	11-15	≥16
Oxacilline	1µg	≤10	11-12	≥13
Erythromycine	15µg	≤13	14-22	≥23
Céfoxitine	30µg	≤21	-----	≥22

Tableau II : Lecture des résultats à l'antibiogramme des souches de *S. aureus* isolées à partir des échantillons de lait cru individuel.

N° S	N° PC	P	Te	Ax	ENR	Van	SXT	OXA	E	FOX
36	8	R	S	R	S	S	I	R	S	S
37	11	R	R	R	S	S	S	S	S	S
38	16	R	S	R	S	S	S	S	S	S
39	27	R	S	R	S	S	R	S	S	S
40	35	R	S	S	S	S	S	I	S	S
41	44	R	R	R	S	S	S	I	S	S
42	49	R	S	S	S	S	S	I	S	S
43	58	R	I	S	S	S	S	S	S	S
44	71	R	S	S	S	S	R	S	S	S
45	81	R	S	S	S	S	S	R	S	S
46	89	R	S	S	S	S	S	S	S	S
47	98	R	S	R	S	S	S	S	S	S
48	104	R	S	S	S	S	R	R	S	S
49	114	R	R	S	S	S	S	S	S	S
50	120	R	S	S	S	S	S	I	S	S
51	126	R	S	R	S	S	S	S	S	S
52	128	R	S	S	S	S	R	S	S	S
53	131	R	S	R	S	S	S	R	S	S
54	132	R	S	R	S	S	S	S	S	S
55	144	R	R	S	S	S	S	I	S	S
56	147	R	R	S	S	S	S	S	S	S
57	149	R	R	S	S	S	R	S	S	S
58	152	R	S	R	S	S	S	I	S	S
59	154	R	S	S	S	S	S	S	S	S
60	157	R	S	S	S	S	R	R	S	S

61	160	R	S	R	S	S	S	S	S	S
62	164	R	S	S	S	S	S	I	S	S
63	167	R	S	S	S	S	S	S	S	S
64	170	R	R	R	S	S	S	S	S	S
65	179	R	S	S	S	S	S	S	S	S
66	184	R	S	R	S	S	R	S	S	S
67	194	R	S	S	S	S	S	I	S	S
68	201	R	S	R	S	S	S	R	S	S
69	213	R	R	S	S	S	S	S	S	S
70	217	R	S	S	S	S	S	S	S	S
71	231	R	S	R	S	S	S	S	S	S
72	240	R	S	S	S	S	S	S	S	S
73	243	R	S	S	S	S	R	S	S	S
74	247	R	S	S	S	S	S	S	S	S
75	257	R	S	S	S	S	I	S	S	S
76	266	R	S	S	S	S	S	S	S	S
77	279	R	S	S	S	S	S	S	S	S
78	284	R	R	R	S	S	S	S	S	S
79	287	R	R	S	S	S	S	S	S	S
80	294	R	S	S	S	S	S	S	S	S
81	301	R	S	S	S	S	R	S	S	S
82	305	R	S	R	S	S	R	S	S	S
83	317	R	S	R	S	S	S	S	S	S
84	322	R	S	S	S	S	S	S	S	S
85	332	R	R	S	S	S	S	I	S	S
86	337	R	S	S	S	S	S	S	S	S
87	339	R	R	S	S	S	S	S	S	S
88	340	R	S	S	S	S	S	S	S	S
89	344	R	S	S	S	S	S	S	S	S
90	348	R	S	S	S	S	R	S	S	S
91	350	R	S	R	S	S	S	S	S	S
92	354	R	R	S	S	S	S	S	S	S
93	357	R	S	S	S	S	S	S	S	S

P : Pénicilline G, *Te*: Tétracycline, *Ax* : Amoxicilline, *ENR*: enrofloxacin, *Van* : Vancomycine, *SXT* : Triméthoprime+ sulfaméthoxazole, *OXA* : Oxacilline, *E* : Erythromycine, *FOX* : Céfoxitine.

N° S : Numéro de souche de *S. aureus*, *N° PC* : Numéro de prélèvement concerné.

ANNEXE 6**Tableau I : Répartition des résultats de la recherche de gène *nuc* pour les 138 souches de staphylocoque à coagulase positive isolées à partir du lait cru des points de vente et de la ferme.**

1. Lait cru des points de vente		
N° SCP	N° de prélèvement concerné	Gène <i>nuc</i>
1	8	+
2	27	+
3	44	+
4	52	+
5	53	-
6	54	+
7	58	+
8	61	+
9	62	+
10	71	+
11	81	+
12	85	+
13	89	+
14	98	+
15	100	+
16	117	+
17	124	+
18	129	+
19	130	+
20	133	+
21	135	+
22	138	+
23	144	+
24	148	+
25	151	+
26	156	+
27	163	+
28	170	-
29	173	+
30	176	+
31	179	+
32	182	+
33	184	+
34	185	+
35	190	+
2. Lait cru individuel		
36	8	
37	11	+
38	16	+
39	27	+

40	35	+
41	44	+
42	49	+
43	58	+
44	71	+
45	81	+
46	89	+
47	98	+
48	104	+
49	114	+
50	120	+
51	126	+
52	128	+
53	131	+
54	132	+
55	144	+
56	147	+
57	149	+
58	152	+
59	154	+
60	157	+
61	160	+
62	164	+
63	167	+
64	170	+
65	179	+
66	184	+
67	194	+
68	201	+
69	213	+
70	217	+
71	231	+
72	240	+
73	243	+
74	247	+
75	257	+
76	266	+
77	279	+
78	284	+
79	287	+
80	294	+
81	301	+
82	305	+
83	317	+
84	322	+
85	332	+
86	337	+

87	339	+
88	340	+
89	344	+
90	348	+
91	350	+
92	354	+
93	357	+
3. Lait cru du chariot trayeur		
94	4	+
95	8	+
96	14	+
97	19	+
98	29	+
99	34	+
100	39	+
101	41	+
102	44	+
103	47	+
104	49	+
105	53	+
4. Lait cru des cuves de stockage		
106	2	+
107	4	
108	6	+
109	8	+
110	9	+
111	10	+
112	12	+
113	14	+
114	15	+
115	17	+
116	18	-
117	20	+
118	22	+
119	23	+
120	25	+
121	28	-
122	30	+
123	31	+
124	33	+
125	34	+
126	35	+
127	36	+
128	38	+
129	40	+
130	41	+
131	43	+

132	44	+
133	45	+
134	46	+
135	47	+
136	48	+
137	49	+
138	51	+

ANNEXE 7



Coliformes thermotolérants sur le milieu VRBL.



CSR sur le milieu TSC.



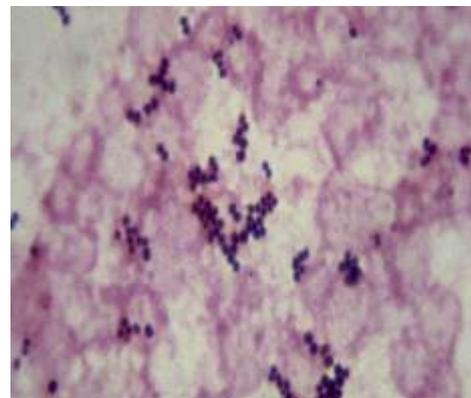
Staphylocoques sur le milieu Baird Parker.



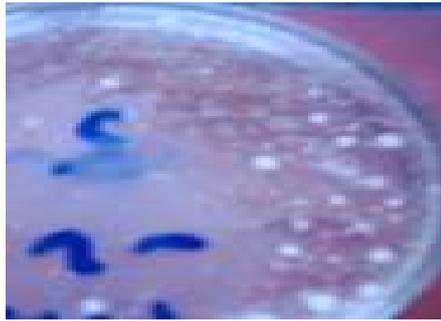
Test de la catalase positive (Staphylocoque catalase +).



Test de la coagulase positive (Staphylocoque à coagulase +).



Coloration de Gram + (Staphylocoque Gram +).



FMAT sur le milieu PCA.



Entérocoques sur le bouillon Rothe.



Absence des inhibiteurs bactériens.



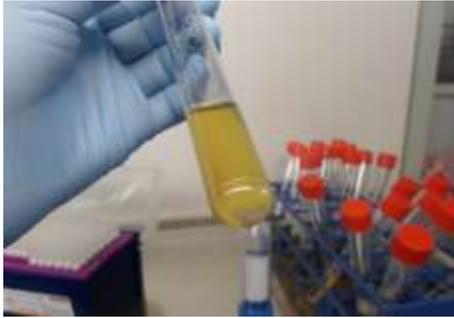
Présence des inhibiteurs bactériens.



Antibiogramme (*S. aureus*).



Ensemencement des SCP sur le bouillon TSB.



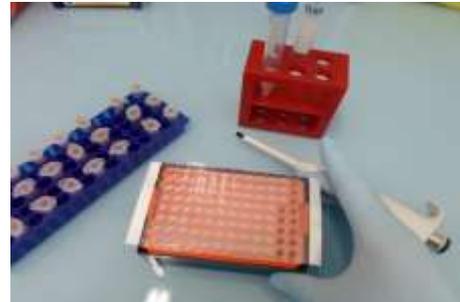
Précipitation des colonies de SCP après incubation à 37 °C pdt 24 h.



Précipitation de l'ADN après centrifugation.



Purification de l'ADN par spectrophotomètre et mesure de la [ADN] en ng/μl.



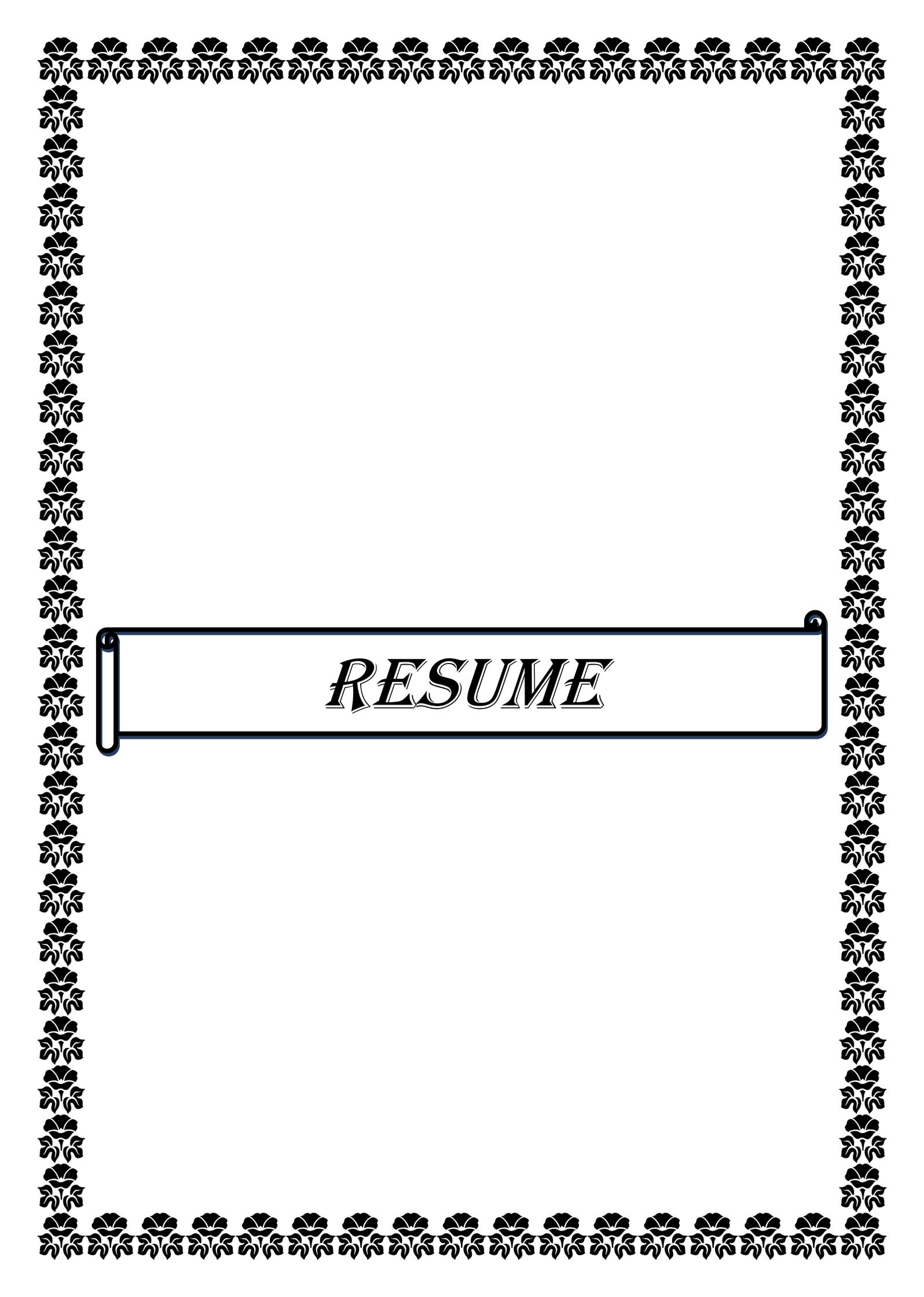
Préparation de l'ADN pour l'amplification par le thermocycleur.



Emplacement des ADN dans le thermocycleur.



Tirage de cliché des fragments d'ADN amplifiés.

A decorative border consisting of a repeating pattern of stylized floral motifs, possibly roses or similar flowers, arranged in a rectangular frame around the page. The motifs are black and white, creating a classic, ornate look.

RESUME

RESUME

Le lait cru est l'une des principales sources des différents processus pathologiques menaçant la santé du consommateur, et parfois être à l'origine de mortalités.

La présente étude consiste à évaluer les pratiques d'hygiène et la qualité bactériologique du lait cru issu de vaches de races locales et améliorées dans les régions de Jijel et de Blida en Algérie. Pour cela, deux questionnaires d'enquête, portant sur les pratiques de la traite et l'impacte de la consommation du lait cru sur la santé des consommateurs, ont été conçus. En parallèle, pour estimer le taux, l'origine et l'évolution de la contamination bactérienne du lait cru produit à la ferme et aux différents points de vente, des analyses bactériologiques ont été réalisées. En outre, des recherches des inhibiteurs bactériens ont été effectuées. Au total, 658 échantillons du lait cru de différents stades de la chaîne de production laitière et 625 échantillons de différentes origines (écouvillons, eau et environnement) ont été prélevés à des fins d'analyse. De plus, 208 personnes ont été enquêtées.

Les résultats d'enquêtes ont permis de mettre en évidence les mauvaises conditions d'élevages et des pratiques de la traite ainsi que un taux élevé de symptômes digestifs chez les personnes qui consomment du lait cru sans traitement thermique préalable (26,0 %). Les résultats bactériologiques ont montré une présence significative de bactéries en trop grand nombre et des inhibiteurs bactériens (30,6 % pour le lait de pis, 26,4 % pour le lait du chariot trayeur, 18,9 % pour le lait des cuves et 28,7 % pour le lait des points de vent). De plus, la recherche de gène *nuc* par la PCR permet de mettre en évidence que certaines souches de SCP sont dépourvues de ce gène spécifique pour *S. aureus*.

Quand aux origines de contamination, nos résultats montrent que la contamination du lait cru est influencée par la qualité hygiénique des mains des trayeurs, des ustensiles, des mamelles, des gobelets trayeurs, de l'environnement, d'eau utilisée au cours de la traite et de la température de stockage.

Ces résultats témoignent du risque que représentent la commercialisation et la consommation de lait cru dans ces régions d'Algérie et la nécessité de mettre en œuvre un programme de vulgarisation des bonnes pratiques d'hygiène et un encadrement zootechnique de tous les acteurs de la filière afin d'assurer la salubrité durant toute la chaîne de production du lait cru.

Mots clés : Lait cru - Contamination bactérienne - Qualité bactériologique - Pratiques d'hygiène – Traite - Vaches - Jijel – Blida.

SUMMARY

Raw milk is one of the main sources of the various pathological processes threatening the health of the consumer, and sometimes causes fatalities.

The present study is to assess hygiene practices and the bacteriological quality of raw milk from local and improved breeds of cows in the region of Jijel and Blida in Algeria. For this, two survey questionnaires, on the practices of trafficking and the impact of the consumption of raw milk on the health of consumers, were designed. In parallel, to estimate the rate, the origin and evolution of bacterial contamination of raw milk produced on the farm and the different outlets, bacteriological analyzes were performed. In addition, research bacterial inhibitors were performed. On the whole, 658 samples of the raw milk of various stages of the dairy line production and 625 samples of various origins (flue brushes, water and environment) were taken at ends of analysis. Moreover, 208 people were surveyed.

The survey results helped to highlight the poor conditions of farms and trafficking practices and a high rate of gastrointestinal symptoms in people who consume raw milk without heat treatment (26,0 %). Bacteriological results showed a significant presence of too many bacteria and bacterial inhibitors (30,6 % for milk udder, 26,4 % for milk the milking trolley, 18,9% for milk tanks and 28,7 % for milk wind points). In addition, the research for gene *nuc* by the PCR makes it possible to highlight that certain strains of SCP are deprived of this specific gene for *S. aureus*.

When the contamination origins, our results show that the contamination of milk is influenced by the hygienic quality of the hands of cups, utensils, udders, teat cups, environment, water used during milking and temperature the storage.

These results reflect the risk from marketing and raw milk consumption in these regions of Algeria and the need to implement an outreach program of good hygiene practices and zootechnical supervision of all stakeholders in the sector to ensuring the safety throughout the chain of production of raw milk.

Keywords: Raw milk - Bacterial contamination - bacteriological quality - Hygiene Practices - Milking - Cows - Jijel - Blida.

ملخص

الحليب الطازج هو واحد من المصادر الرئيسية لمختلف الأمراض التي تهدد صحة المستهلك، وتسبب في بعض الأحيان حالة وفاة.

هذه الدراسة تتمثل في تقييم الممارسات الصحية والجودة الميكروبية في الحليب الطازج الناتج من السلالات المحلية و المستوردة من الأبقار في منطقة جيجل و البلدية في الجزائر. لهذا قمن بنوعين من الاستبيانات، على ممارسات الاتجار وتأثير استهلاك الحليب الطازج على صحة المستهلكين. موازاة مع ذلك، و لتقدير معدل، أصل وتطور التلوث الجرثومي للحليب الطازج المنتجة في المزرعة و في مختلف نقاط البيع، أجريت التحاليل البكتريولوجية، بالإضافة إلى ذلك، تم البحث عن المثبتات البكتيرية. لذا تم جمع ما مجموعه 658 عينات من الحليب الخام في مراحل مختلفة من خط إنتاج الحليب و 625 عينات من أصول مختلفة (مسحات، الماء والبيئة) للتحليل. وبالإضافة إلى ذلك، تم استجواب 208 شخص

نتائج المسح ساعدت على تسليط الضوء على سوء أوضاع المزارع وممارسات الاتجار ونسبة عالية من أعراض الجهاز الهضمي لدى الأشخاص الذين يستهلكون الحليب الطازج دون المعالجة الحرارية (26.0%). النتائج البكتريولوجية أظهرت وجود ملحوظ لعدد كبير جدا من البكتيريا والمثبتات البكتيرية (30.6% بالنسبة لحليب الضرع، 26.4% بالنسبة لحليب عربة الحلب، 18.9% بالنسبة لحليب الخزانات و 28.7% بالنسبة لحليب مختلف نقاط البيع). بالإضافة إلى ذلك، إن البحث عن الجين نيك بواسطة ال PCR سمح لنا بتسليط الضوء على سلالات معينة من SCP أنها تخلو من هذا الجين المحدد للبكتريا المكورات العنقودية الذهبية.

عند دراسة أصل تلوث الحليب، نتائجنا أظهرت أن هذا الأخير يتأثر بالجودة الصحية لأيدي الحلاب، الكؤوس، الأواني، الضروع، حلمات عربة الحلب، البيئة، المياه المستخدمة أثناء الحلب و درجة حرارة التخزين. هذه النتائج تعكس الخطر من التسويق والاستهلاك الحليب الطازج في هذه المناطق من الجزائر. لذلك لابد من تنفيذ برنامج توعية من خلال الممارسات الصحية الجيدة والإشراف على تكوين جميع أصحاب المصلحة في القطاع لضمان سلامة جميع حلقات سلسلة إنتاج الحليب الطازج.

الكلمات المفتاحية :

الحليب الطازج - التلوث الجرثومي - الجودة البكتريولوجية - الممارسات النظيفة - حلب - الأبقار - جيجل- البلدية .