



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique



**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR -KHENCHELA**  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**FILIERE : BIOLOGIE**

**OPTION: MICROBIOLOGIE GENERALE**

**Thème :**

**Mesure de la contamination du lait de  
vache cru par le personnel (recherche et  
dénombrement de *Staphylococcus aureus*)**

**Présenté par :**

**AISSAOUI Razika&MENZER Nawal**

**Encadré par :**

**BENREDJEM Lamia**

**Soutenu le : 14 Juin 2015**

**Jury de soutenance :**

**Présidente : DEROUCHE Fouzia M.A.A Université Abbès\_Laghrour\_khenchela**

**Encadreur : BENREDJEM Lamia M.A.A Université Abbès\_Laghrour\_khenchela**

**Examinatrice : YAKHLAF Wahiba M.A.A Université Abbès\_Laghrour\_khenchela**

**Promotion : Juin 2015**

**Le travail a été réalisé au niveau du : laboratoire pédagogique de Microbiologie, Université Abbess  
Laghrour-Khenchela**

# Remerciements



*Premièrement, nous tenons à remercier le bon Dieu qui nous a donné de la force pour réaliser ce travail.*

*Nous désirons à exprimer nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre encadreur, M<sup>lle</sup> BENREDJEM Lamia Qui a mis toute sa compétence à notre disposition, pour ces directives et ses conseils judicieux et pour son suivi régulier pour l'élaboration de ce modeste travail ; Merci également pour votre disponibilité et votre gentillesse.*

*Nous tenons à remercier très vivement M<sup>Me</sup> DEROUICHE Fouzia, qui nous a honoré en acceptant d'être présidente de ce jury.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à M<sup>lle</sup> YAKHLAF Wahiba d'avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie du jury.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements aussi aux membres du laboratoire de biologie pour leur aide précieuse.*

*Nos derniers remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail. .*

# Dédicace

**Je tiens à dédier ce modeste travail à qui je ne saurais jamais dire merci à deux parles rare, mes très chère parents, qui sont mon trésor dans la vie, et mon soutien dans les moments les plus pénibles, je leur souhaite une longue vie.**

**A mes sœurs : Alima , Khadija, Sameh**

**A mes oncles et mes tantes,**

**A mes amies : Nawal, Rafika, Amel**

**A mon fiancé Djalal**

# Razika

# Dédicace

*Je tiens à dédier ce modeste travail à qui je ne saurais jamais dire merci à deux parles rare, mes très chère parents, qui sont mon trésor dans la vie, et mon soutien dans les moments les plus pénibles, je leur souhaite une longue vie.*

*A mes frères Vazid, Lazhar, Omar et ma sœur Amel*

*A mes oncles Hanine, Djamel et grand-mère Mariam*

*A mes amies : Razika, Rafika, Amel*

*A mes cousines Mofida, Amina, Malek*

*A mon fiancé Razki*

# Nawal



# SOMMAIRE

---



---

**SOMMAIRE**

	Titre	Page
	<b>Remerciements</b>	/
	<b>Liste des figures</b>	/
	<b>Liste des tableaux</b>	/
	<b>Liste des abréviations</b>	/
	<b>1. Introduction</b>	<b>1</b>
	<b>2. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>3</b>
	<b>2.1. Le lait</b>	<b>3</b>
	<b>2.1.1. Définitions</b>	<b>3</b>
	<b>2.1.2. Classification des laits « liquides »</b>	<b>3</b>
	<b>2.2. Le lait cru</b>	<b>4</b>
	<b>2.2.1. Définition</b>	<b>4</b>
	<b>2.2.2. Les caractéristiques physico-chimiques du lait cru de vache</b>	<b>4</b>
	<b>2.2.2.1. Caractéristiques organoleptiques</b>	<b>4</b>
	<b>2.2.2.2. Caractéristiques physique</b>	<b>6</b>
	<b>2.2.2.3. Caractéristiques chimiques</b>	<b>8</b>
	<b>2.3. Qualité de lait</b>	<b>12</b>
	<b>2.3.1. Les cellules somatiques du lait</b>	<b>13</b>
	<b>2.3.2. Les cellules microbiennes du lait de vache</b>	<b>15</b>
	<b>2.3.2.1. Flore originelle</b>	<b>15</b>
	<b>2.3.2.2. Flore de contamination</b>	<b>16</b>
	<b>2.3.2.2.1. Flore d'altération</b>	<b>17</b>
	<b>2.3.2.2.2. Flore pathogène</b>	<b>18</b>
	<b>2.4. L'espèce <i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b>19</b>
	<b>2.4.1. Historique</b>	<b>19</b>
	<b>2.4.2. Habitat</b>	<b>19</b>
	<b>2.4.3. Classification</b>	<b>20</b>
	<b>2.4.4. Caractères morphologiques</b>	<b>21</b>
	<b>2.4.5. Les caractères biochimiques</b>	<b>21</b>
	<b>2.4.6. Les caractères cultureux</b>	<b>22</b>

<b>2.4.7. La structure de <i>S. aureus</i></b>	<b>23</b>
<b>2.4.7.1. La paroi cellulaire</b>	<b>24</b>
<b>2.4.7.2. La capsule</b>	<b>24</b>
<b>2.4.7.3. Le génome</b>	<b>25</b>
<b>2.5. Pouvoir pathogène de <i>S. aureus</i></b>	<b>25</b>
<b>2.5.1. Protéines de surfaces</b>	<b>25</b>
<b>2.5.1. Les enzymes</b>	<b>26</b>
<b>2.5.3. Les cytotoxines</b>	<b>27</b>
<b>2.5.4. Maitrise de <i>S. aureus</i> : croissance et production d'entérotoxines</b>	<b>28</b>
<b>2.5.4..1. Les effets des facteurs abiotiques</b>	<b>28</b>
<b>2.5.4..2. Les effets de facteurs biotiques</b>	<b>29</b>
<b>2.5.5. Toxi-infections alimentaires</b>	<b>30</b>
<b>2.6. Origine de la contamination par <i>S. aureus</i></b>	<b>30</b>
<b>2.6.1. Sources primaires animales</b>	<b>31</b>
<b>2.6.1.1. La mammite</b>	<b>31</b>
<b>2.6.1.2. Portage cutané</b>	<b>36</b>
<b>2.6.2. Sources primaires humaines</b>	<b>36</b>
<b>2.6.3. Sources secondaires : matériel de traite</b>	<b>37</b>
<b>3. MATÉRIEL ET MÉTHODES</b>	
<b>3.1. Prélèvement, transport et conservation des échantillons</b>	<b>38</b>
<b>3.1.1. Prélèvement des échantillons</b>	<b>38</b>
<b>3.1.2. Transport</b>	<b>38</b>
<b>3.2. Etude bactériologique</b>	<b>38</b>
<b>3.2.1. But des analyses</b>	<b>38</b>
<b>3.2.2. Préparation des dilutions décimales</b>	<b>38</b>
<b>3.2.3. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FMAT)</b>	<b>39</b>
<b>3.2.4. Recherche et dénombrement des coliformes</b>	<b>40</b>
<b>3.2.4.1. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux</b>	<b>40</b>
<b>3.2.4.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux ou coliformes thermo- tolérants</b>	<b>41</b>
<b>3.2.5. Recherche, dénombrement et identification des staphylocoques</b>	<b>42</b>

<b>3.2.5.1. La recherche et dénombrement des staphylocoques</b>	<b>42</b>
<b>3.2.5.2. Identification de <i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b>42</b>
<b>3.2.6. Sensibilité aux antibiotiques</b>	<b>48</b>
<b>4. RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
<b>4.1. Germes indicateurs de la qualité d'hygiène</b>	<b>51</b>
<b>4.2. Recherche des staphylocoques</b>	<b>53</b>
<b>4.2.1. Aspects macroscopique et microscopique des souches obtenues et dénombrement</b>	<b>53</b>
<b>4.2.2. Etude des caractères biochimiques</b>	<b>54</b>
<b>4.2.3. Sensibilité aux antibiotiques</b>	<b>56</b>
<b>5. Conclusion et perspectives</b>	<b>58</b>
<b>Résumés</b>	<b>/</b>
<b>Summary</b>	<b>/</b>
	<b>/</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>/</b>
<b>Annexes</b>	<b>/</b>

**LISTE DES TABLEAUX**

<b>N°</b>	<b>TITRE</b>	<b>PAGE</b>
<b>01</b>	<b>Constantes physiques du lait de vache</b>	<b>7</b>
<b>02</b>	<b>Teneur en minéraux dans le lait de vache</b>	<b>10</b>
<b>03</b>	<b>Concentrations des vitamines du lait de vache</b>	<b>11</b>
<b>04</b>	<b>Teneurs en oligo-éléments dans le lait de vache</b>	<b>12</b>
<b>05</b>	<b>Répartition (en %) des différents types cellulaires dans le lait de vache en l'absence et en présence d'infection mammaire</b>	<b>13</b>
<b>06</b>	<b>diverses facettes de la qualité de lait</b>	<b>14</b>
<b>07</b>	<b>Flore originelle du lait cru</b>	<b>15</b>
<b>08</b>	<b>Germes contaminant le lait cru</b>	<b>16</b>
<b>09</b>	<b>Les principaux germes pathogènes du lait</b>	<b>18</b>
<b>10</b>	<b>Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse de <i>S. aureus</i></b>	<b>23</b>
<b>11</b>	<b>Classification des germes de mammite</b>	<b>32</b>
<b>12</b>	<b>Fréquence d'isolement des germes lors de mammites cliniques</b>	<b>35</b>
<b>13</b>	<b>Interprétation de la susceptibilité de <i>S. aureus</i> aux disques d'antibiotiques</b>	<b>50</b>
<b>14</b>	<b>Résultats des dénombrements des germes indicateurs de la qualité d'hygiène</b>	<b>51</b>
<b>15</b>	<b>Dénombrement des <i>Staphylococcus</i> sur le milieu de Chapman après incubation à 37°C pendant 48 H</b>	<b>54</b>
<b>16</b>	<b>Caractères biochimiques des souches obtenues</b>	<b>54</b>
<b>17</b>	<b>Diamètres des zones d'inhibition des différents antibiotiques testés</b>	<b>56</b>

**LISTE DES FIGURES**

<b>N°</b>	<b>TITRE</b>	<b>PAGE</b>
<b>1</b>	<b>Aspect microscopique de l'espèce <i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b>21</b>
<b>2</b>	<b>Structure de <i>S. aureus</i></b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>Structure de la paroi des staphylocoques</b>	<b>24</b>
<b>4</b>	<b>Etiologie des mammites bovines dans l'est d'Algérie</b>	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>Lecture du milieu urée indole</b>	<b>48</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SIGLES

---

### LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SIGLES

<b>µm</b>	micromètre
<b>Aw</b>	Activity of Water (activité de l'eau)
<b>AMPc</b>	Acide Adénosine Mono Phosphorique cyclique
<b>β-carotène</b>	Bêta- carotène
<b>BCC</b>	Bouillon Cœur Cerveille
<b>BP</b>	Baird Parker
<b>°C</b>	Degré Celsius micromètre
<b>CCS</b>	Concentration des Cellules Somatique
<b>Codex</b>	Commission du Codex Alimentaires faisant partie de la FAO/OMS
<b>CF</b>	Coliformes fécaux (ou thermotolérants)
<b>CT</b>	Coliformes totaux
<b>DD</b>	Dilution décimale
<b>°D</b>	Degré Dornic
<b>FAMT</b>	Flore Aérobie Mésophile Totale
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Perchlorure de fer
<b>g</b>	Grammes
<b>g/l</b>	Gramme par litre
<b>h</b>	Heures
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	L'eau oxygénée
<b>H<sub>3</sub>O<sup>+</sup></b>	Ions Hydronium
<b>IL</b>	Interleukine
<b>kg</b>	kilogramme
<b>mg/L</b>	milligramme par litre
<b>min</b>	Minutes
<b>ml</b>	Millilitres
<b>mm</b>	Millimètres
<b>MR</b>	Rouge de méthylène
<b>NF</b>	Norme français
<b>NaCl</b>	Chlorure de sodium
<b>pH</b>	Potentiel d'hydrogène

## LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SIGLES

---

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. uberis</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<b>SM</b>	Solution mère
<b>TNF alpha</b>	Tumeur Nicrose Factor alpha
<b>T</b>	Température
<b>TIAC</b>	Toxi-infection alimentaire collective
<b>UFC</b>	Unité formant colonies
<b>UFT</b>	Unité formant Trouble
<b>USA</b>	Unite State America
<b>VP</b>	Voges Proskauer
<b>VRBL</b>	Violet Red Bile Lactose

## 2. Synthèse bibliographique

### 2.1. Le lait

#### 2.1.1. Définitions

Le lait : c'est en 1909 que le congrès international de la répression des France à défini le lait : » le lait est le produit intégrale de la trait totale et ininterrompue d'un femelle laitière bien portante bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (premier lait de la femelle) » (**Joffin, 2010**).

Le *Codex Alimentarius* en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (**Bachtarzi, 2012**).

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères après la naissance du jeune. C'est un liquide de composition complexe, blanc et opaque, d'une saveur douce, d'une réaction ionique (pH) voisin de la neutralité. La fonction naturelle du lait est d'être un aliment exclusif des jeunes mammifères pendant la période critique de leur existence, après la naissance, alors que la croissance est rapide et qu'il ne peut lui être substitué d'autres aliments. La grande complexité de la composition du lait répond à cette fonction (**Conte, 2008**).

Le petit Larousse le définit tout simplement comme le « liquide produit par les femelles des mammifères, aliment complet qui assure la subsistance du jeune au début de vie grâce à sa richesse en graisse émulsionnées, en protides, en lactose, en vitamine et en sels minéraux » (**Grenon et al., 2004**).

Selon le journal officiel de la République Démocratique Algérienne, la dénomination « LAIT » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (**Mekroud, 2011**).

#### 2.1.2. Classification des laits « liquides »

Selon ALAIS on peut classer les laits liquides en trois groupes :

Le premier groupe : le lait cru ;

Le second groupe: les laits traités par la chaleur, ce sont les laits pasteurisés et stérilisés;

Le troisième groupe : les laits transformés, ce sont les laits aromatisés, concentrés, acidifiés ... (**Codou, 1997**).

### 2.2. Le lait cru

#### 2.2.1. Définition

La définition réglementaire du lait cru est donnée par l'article 2 de la directive CEE 92/46, il s'agit d'un lait non chauffé au-delà de 40°C et n'ayant subi aucun traitement d'effet équivalent (**Kouame, 2013**) notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes (**Bachtarzi, 2012**). Le lait est un liquide opaque de couleur blanche, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en  $\beta$ -carotène de sa matière grasse. Son odeur est discrète et son goût légèrement sucré (**Kouame, 2013**). Le lait cru est du lait frais non soumis à aucun autre traitement d'assainissement ou de conservation autre que la réfrigération (**José, 2014**).

Le règlement européen 853/2004 donne une définition du lait cru : «Lait cru: le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'animaux d'élevage et non chauffé à plus de 40 °C, ni soumis à un traitement d'effet équivalent » Le lait cru peut être écrémé ou pas. Il peut être utilisé pour la fabrication de produits au lait cru comme du beurre et des fromages.

Le lait cru se conserve réfrigéré. La température légale de conservation du lait cru est fixée à 6°C en Europe (**Fleurette, 2003**).

#### 2.2.2. Les caractéristiques physico-chimiques du lait cru de vache

La composition et les caractéristiques physico-chimiques du lait varient sensiblement selon les espèces animales, et même selon les races. Ces caractéristiques varient également au cours de la période de lactation, de la traite ou de l'allaitement. Elles sont aussi tributaires de la nature de l'alimentation des animaux (**Ouadghiri, 2009**). Le lait de vache est un lait caséineux (**Bachtarzi, 2012**).

##### 2.2.2.1. Caractéristiques organoleptiques

- **Couleur :**

Le lait est un liquide de coloration blanc-jaunâtre. Cette coloration résulte du mélange de micelles de phosphocarséinate de calcium, de globules gras et de deux pigments : le carotène contenu dans la phase grasse et responsable de la coloration jaune (**Codou, 1997**).

- **Odeur :**

L'odeur est caractéristique du lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (**Ghaoues, 2011**).

- **Saveur :**

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est en parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**Ghaoues, 2011**).

- **Viscosité :**

L'augmentation de la viscosité du lait est surtout fonction de la matière grasse à l'état globulaire des macromolécules protéiques et à un moindre degré des substances en solution. Ce qui fait que la viscosité du lait est très supérieure à celle de l'eau. Le lactosérum moins visqueux que le lait écrémé et celui-ci moins que le lait entier.

La viscosité dépend de certains facteurs :

- ✓ L'espèce animale : le lait des monogastriques est plus visqueux que celui des polygastriques ;
- ✓ La température : la viscosité diminue avec l'élévation de la température;
- ✓ La pression : dans un liquide newtonien comme le lait normal, la vitesse d'écoulement est proportionnelle à la pression, contrairement à la crème épaisse et le lait concentré qui sont des substances non newtonnières ;
- ✓ Le pH : la viscosité du lait augmente lorsque le pH descend au dessus de 6,0 excepté le lactosérum et s'élève jusqu'à 12,0 (**Codou, 1997**).

### **2.2.2.2. Caractéristiques physique**

- **La densité du lait :**

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (**Bachtarzi, 2012**).

Deux facteurs de variation opposés déterminent la densité: la concentration des éléments dissous et en suspension (solide non gras) et la proportion de matière grasse (**Codou, 1997**).

- **L'acidité de titration ou acidité Dornic :**

L'acidité titrable du lait doit être comprise entre 15 et 18°D et renseigne sur l'acidité globale qui repose sur l'ensemble des constituants acides et sur la teneur en matière sèche. La densité correspond au rapport de la masse d'un volume de lait à une température donnée sur celle du même volume d'eau à la même température. Celle du lait de vache est généralement comprise entre 1,028 et 1,033 (**Kouame, 2013**). L'acidité de titration globale mesure à la fois le pH initial du lait normal et l'acidité développée après la traite par la fermentation lactique qui diminue le pH jusqu'à 4 ou 5 (**Dieng, 2001**).

- **Le pH du lait ou acidité potentielle :**

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium ( $H_3O^+$ ) et donc une diminution du pH, car :  $pH = \log 1/[H_3O^+]$  (**Bachtarzi, 2012**).

L'acidité s'apprécie par le pH qui correspond, à la concentration en ions hydronium. Selon ALAIS, cette acidité faible est liée à la présence d'ions phosphates et de caséines (**Dieng, 2001**).

- **Point de congélation du lait :**

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait. Sa valeur moyenne se situe entre - 0.54 et - 0.55°C, celle-ci est également la température de congélation du sérum sanguin (Ghaoues, 2011).

- **Point d'ébullition :**

Le point d'ébullition est défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100.5°C (Ghaoues, 2011).

**Tableau 01: Constantes physiques du lait de vache (Alais, 1984 ; Manuel suisse des denrées alimentaires, 2004)**

Critères	Moyennes	Valeurs extrêmes
Masse volumique à 20°C [kg/m <sup>3</sup> ]	1031	1028-1033
Point de congélation (°C)	-0.525	-0.52-0.55
pH à 20°C	6.6	6.6-6.8

- **Activité de l'eau :**

L'eau joue un rôle très important dans le lait. Elle conditionne l'état physique des autres constituants. Elle favorise le développement microbien, lorsqu'elle est disponible. L'eau disponible dans les aliments est l'eau libre. Cette disponibilité est exprimée par l'activité de l'eau (Aw). La plupart des bactéries se développent bien pour des Aw comprises entre 0,995 et 0,980. Les germes pathogènes sont inhibés par des valeurs inférieures à 0,90 sauf pour *Staphylococcus aureus* (Dieng, 2001).

### **2.2.2.3. Caractéristiques chimiques**

Le lait constitue un milieu aqueux caractérisé par trois phases: une émulsion de globules gras dans un liquide qui est lui même une suspension colloïdale de matières protéiques dans un sérum.

#### ➤ **Composants chimiques majeurs**

- **L'eau du lait :**

L'eau, principal constituant du lait, permet la dispersion des constituants de la matière sèche (**Turcot, 1999**). En proportion, la présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides (**Ghaoue, 2011**). L'eau du lait provient du sang par filtration au niveau de la glande mammaire (**Codou, 1997**).

- **Glucides du lait**

La fraction glucidique du lait est essentiellement représentée par le lactose dont la teneur est voisine de 46 g/litre (**Bellancille, 2011**). Les sucres du lait sont constitués en majorité de lactose (48g/l dans le lait de vache) (**José, 2014**). Le lactose joue un rôle important dans les produits laitiers en tant que substrat de fermentation pour les bactéries lactiques qui l'hydrolysent en glucose et galactose, puis transforment ces hexoses en acide lactique. Le galactose subit d'abord une isomérisation en glucose 1-phosphate (**Codou, 1997**). Le lactose est le principal constituant de la matière sèche du lait. Le lactose est formé d'une molécule de galactose et d'une molécule de glucose (**Turcot, 1999**).

- **Matière azotée du lait**

Au moment de la traite, le lait de vache contient en moyenne 32 g/L de matière azotée. Cette dernière est constituée d'une fraction essentiellement protéique (95%) (**Bellancille, 2011**). Ces protéines sont présentes sous deux phases: une phase micellaire

insoluble (80 %) instable constituée essentiellement de caséines donnant au lait son aspect blanc opaque et une phase soluble (20%) stable constituée des protéines sériques stables (**Achour, 2006**). Le reste étant composé d'urée, de créatine, de créatinine, d'ammoniaque, d'acides aminés libres, de vitamines et de nucléotides (**Bellancille, 2011**).

- **Matière grasse du lait**

Le lait de vache, comme le lait de femme, contient environ 35 grammes de lipides par litre (**Codou, 1997**). La matière grasse du lait se présente sous la forme d'une émulsion de globules gras d'un diamètre moyen de 0,2 à 15 µm (**Bellancille, 2011**). La majorité de la matière grasse du lait se trouve sous forme de triglycérides formés par union de trois acides gras au glycérol. La matière grasse du lait contient surtout des acides gras courts (moins de 8 atomes de carbone) qui proviennent en majorité de l'acide acétique produit dans le rumen. L'abondance d'acides gras courts est une caractéristique unique à la matière grasse du lait. De plus, la matière grasse du lait contient aussi des acides gras longs, la plupart étant insaturés comme acide oléique, les acides linoléiques et acide linoléique (**Achour, 2006**).

- **Composants chimiques mineurs**

- **Les minéraux**

La richesse du lait en différents minéraux comme le calcium (1,2 g/L), le magnésium (108 mg/L), le zinc (3,9 mg/L) lui permet d'être, en fait, un aliment très adapté à la croissance des jeunes et des adolescents (**Bellancille, 2011**). Un demi-litre de lait couvre 75% de la ration calcique journalière d'un adulte. Le lait contient les 22 minéraux essentiels au régime alimentaire humain (**José, 2014**). Certains minéraux, comme le sodium, le potassium et le chlore, se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions. D'autres minéraux peuvent exister dans les deux fractions :

- La fraction soluble, où ces minéraux existent en partie sous forme libre (calcium et magnésium ionisés), saline (phosphates et citrates), ou complexe (esters phosphoriques et phospholipides).

- La fraction colloïdale où les minéraux (calcium, phosphore, soufre et magnésium) sont associés ou liés à la caséine au sein des micelles (**Achour, 2006**).

**Tableau 02 : Teneur en minéraux dans le lait de vache (Achour, 2006).**

Eléments	Teneur (mg/kg)
<b>Sodium</b>	480
<b>Potassium</b>	1570
<b>Calcium</b>	1200
<b>Magnésium</b>	120
<b>Phosphore</b>	920

- **Les vitamines**

Le lait contient également plusieurs vitamines du groupe B qui interviennent dans le métabolisme énergétique. C'est aussi une excellente source de vitamine B<sub>12</sub> qui potentialise l'acide folique, qui à son tour, active la synthèse des protéines nécessaires à la croissance cellulaire. La teneur du lait de vache en différents nutriments et leurs effets bénéfiques sur la santé sont récapitulés dans le tableau III (**Bellancille, 2011**). Ainsi, les vitamines liposolubles (A, D, E) se retrouvent intégralement dans la crème et le beurre, alors que les hydrosolubles (B et C) restent dans, le lait écrémé. De nombreux facteurs peuvent faire varier la teneur du lait en vitamines. Il s'agit de la période de lactation, de l'alimentation et des, traitements subis par le lait (**Dieng, 2001**).

Le lait contient un grand nombre de vitamines :

- Des vitamines liposolubles (dissoutes dans la matière grasse) : A, D, E, K ;
- Des vitamines hydrosolubles (dissoutes dans la fraction non grasse du lait) : thiamine (B1), riboflavine (B2), niacine (B3), acide pantothénique (B5), pyridoxine (B6), biotine (B7), acide folique (B9), cobalamine (B12) (**José, 2014**).

**Tableau 03 : Concentrations des vitamines du lait de vache (Achour, 2006).**

Vitamines	Teneur (mg/l)
<b><u>Vitamines hydrosolubles</u></b>	
<b>B (thiamine)</b>	0.42
<b>B2 (riboflavine)</b>	1.72
<b>B6 (pyridoxine)</b>	0.48
<b>B12 (cobalamine)</b>	0.0045
<b>Acide pantothénique</b>	3.6
<b>Inositol</b>	160
<b>Biotine</b>	0.036
<b>Choline</b>	170
<b>C (acide ascorbique)</b>	8
<b><u>Vitamines liposolubles</u></b>	
<b>A</b>	0.37
<b>B-carotènes</b>	0.21
<b>D (cholécalférol)</b>	0.0008
<b>E (tocophérol)</b>	1.1
<b>K</b>	0.03

- **Les enzymes**

Le lait cru contient deux types d'enzymes : les enzymes présentes dans le lait et celles liées à la flore microbienne du lait. En tout, on dénombre une vingtaine d'enzymes qui ont des fonctions diverses : hydrolases, catalase, oxydase ...

L'activité biologique de plusieurs peptides a été identifiée. Ils présentent des pouvoirs hypotenseurs, une activité antithrombotique, des propriétés immunoprotectrices, de régulation du système nerveux, anticancérigènes, de contrôle de l'obésité (**José, 2014**).

- **Les oligo-éléments**

Les concentrations de ces éléments varient fortement dans le lait de vache mais, au-delà de certaines limites, elles sont l'indice d'une contamination du lait (tableau 4) (**Achour, 2006**).

**Tableau 04 : Teneurs en oligo-éléments dans le lait de vache (Achour, 2006).**

Oligo-éléments	Teneurs (µg/l)
Aluminium	600-1000
Arsenic	<50
Bore	150-300
Brome	150
Chrome	15-30
Cuivre	20-40
Etain	100-1000
Fer	200-500
Fluore	70-200
Iode	10-300
Manganèse	10-30
Molybdène	70
Plomb	2-10
Sélénium	10-30
Silicium	1000-6000

### 2.3. Qualité de lait

En générale, on définit la qualité d'un produit comme étant l'ensemble des caractéristiques lui permettant de satisfaire les besoins exprimés par les consommateurs. La qualité du lait et des produits laitiers qui en dérivent est un concept comportant plusieurs facettes. Celle dont nous entendons le plus souvent parler est sans contredit la qualité microbiologiques qui est en lien direct avec l'innocuité du lait ce qui n'est pas surprenant puisqu'elle a généralement un impact direct et à très court terme sur la santé des consommateurs (**Grenon *et al.*, 2004**).

La qualité du lait a une résonance bien particulière et différente selon qu'on s'adresse à un groupe de producteurs, de transformateurs ou de consommateurs pour bien saisir toutes les nuances qu'elle comporte, il faut analyser sous plusieurs angles (**tab. 06**) (**Grenon *et al.*, 2004**).

Tableau 06 : diverses facettes de la qualité de lait (Grenon *et al.*, 2004).

<b>Aspects physiques</b>	Point de congélation, masse volumique, couleur, séparation de gras, chaleur spécifique, viscosité, etc.
<b>Aspects chimiques</b>	pH, antibiotiques, composition en protéines, gras, lactose, minéraux, etc.
<b>Aspects microbiologiques</b>	Bactéries, cellules somatiques, virus, etc.
<b>Propriétés de conservation</b>	Flore microbienne, enzymes, oxygène, etc.
<b>Propriétés fonctionnelles</b>	Stabilité à la chaleur, coagulation présure, foisonnement, etc.
<b>Propriétés bio-fonctionnelles</b>	Valeur nutritive (teneur en vitamines, minéraux, etc.), fermentations et hydrolyses enzymatiques (lactose hydrolysés, etc).

### 2.3.1. Les cellules somatiques du lait

Comme tout liquide biologique, le lait même normal, contient des cellules somatiques provenant de la mamelle ou du sang (**Dieng, 2001**). Elles sont, en effet, essentiellement constituées de globules blancs (macrophages, polynucléaires neutrophiles et lymphocytes) de la circulation sanguine et de cellules épithéliales (Les cellules épithéliales sont des cellules qui tapissent normalement l'intérieur du pis et qui se sont détachées des alvéoles) (**Kouame, 2013**). Provenant de la desquamation des épithéliums des canaux galactophores, des acini et lors de l'érosion du tissu glandulaire. Les différentes cellules retrouvées dans le lait évoluent en nombre et en proportion suivant le stade physiologique de l'animal. En l'absence d'infection, les macrophages constituent le type cellulaire dominant et ce n'est qu'en cas d'infection du quartier que les polynucléaires neutrophiles affluent dans le lait où ils deviennent les plus nombreux. Quant aux autres types cellulaires, ils sont peu représentés, notamment les lymphocytes et les cellules épithéliales qui sont très peu nombreuses dans le lait des quartiers non infectés (tableau 6) (**Gabli, 2005**).

Même en l'absence d'infection intra-mammaire, plus de 85% des cellules somatiques du lait sont des leucocytes, alors que cette proportion passe à plus de 99% si le quartier doit combattre une infection. Le nombre de cellules par ml de lait varie

normalement entre 5000 et 10 millions environ, pour un échantillon composite du lait des 4 quartiers d'une vache (Kouame, 2013).

**Tableau 05 : Répartition (en %) des différents types cellulaires dans le lait de vache en l'absence et en présence d'infection mammaire (Gabli, 2005).**

Type cellulaire	Mamelle	
	Saine	infectée
<b>Polynucléaires neutrophiles</b>	0-11	50-90
<b>Macrophages</b>	66-88	0.2-2
<b>Lymphocytes</b>	10-27	2.8-5.1

La concentration cellulaire individuelle (CCS) correspond au nombre de cellules somatiques présentes dans un millilitre de lait produit par vache donnée. Sur une mamelle saine aucun signe extérieur d'état pathologique n'est détecté et le lait est exempt d'organismes pathogènes. Le seuil limite permettant de différencier une vache non infectée d'une vache infectée est généralement fixé à 200 000 cellules/ml, la grande majorité des vaches saines auront un CSS en-dessous de 100000 cellules/ml. Dans le cas d'une mammite qui est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers quel qu'en soit l'origine, la gravité et le mode évolutif, le nombre de cellules somatiques augmente. Chez les vaches laitières, les mammites à *S. aureus* s'expriment le plus souvent par une élévation du taux de cellules somatiques dans le lait, principalement liée à un afflux des neutrophiles. Dans le cas d'infections de la mamelle, le nombre de germes augmente peu ainsi que le nombre de cellules somatiques sauf dans le cas de mammites cliniques (Kouame, 2013).

## 2.3.2. Les cellules microbiennes du lait de vache

### 2.3.2.1. Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite). La flore originelle des produits laitiers 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. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (**Bachtarzi, 2012**).

**Tableau 07 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).**

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus</i> ou <i>lactobacillus</i>	< 10
Gram négatif	< 10

- **Bactéries lactiques :**

Elle fait partie de la flore normale du lait et se caractérise par son aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc, abaissement du pH. Parmi les bactéries lactiques ayant comme habitat le lait, nous avons le genre *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Aerococcus* **Conte, 2008** .

- **Genre *Streptococcus* (*Lactococcus*) :**

Le genre *Lactococcus* joue un rôle de conservateur dans le lait. En effet, des espèces comme *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* produisent respectivement la « nisine » et la « diplococcine », antibiotiques inhibant les bactéries non lactiques au profit des bactéries lactiques d'où leur intérêt technologique. Il leur est également reconnu le rôle d'agent initiateur de l'acidification en laiterie. Ce rôle est surtout reconnu

à *Streptococcus thermophilus* en laiterie industrielle mais également à *Streptococcus lactis* pour le caillage naturel (Dieng, 2001).

### 2.3.2.2. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Bachtarzi, 2012).

**Tableau 08 : Germes contaminant le lait cru (Jakob et al., 2009).**

Sources de contamination		Psychrotrophes
<b>Germes Gram positifs</b>		
Germes sporulés aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
Staphylocoques	Peau, muqueuses	Non
Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
<b>Germes Gram négatifs</b>		
Colibactéries ( <i>E. coli</i> )	Fèces, eaux usées	Non
Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
<i>Pseudomonas</i>	Eau, sol (très répandu)	Non
<i>Alcaligenes, Flavobacterium, etc</i>	Eau, sol (très répandu)	Non
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	Non

### 2.3.2.2.1. Flore d'altération

Ce sont des bactéries et champignons indésirables apportés par la contamination. Cette flore regroupe les bactéries thermorésistantes, les coliformes, les psychrotrophes, les levures et moisissures (**Dieng, 2001**).

- **Bactéries coliformes :**

Presque toujours présentes dans le lait cru, elles ont une grande importance en laiterie. Du point de vue technologique, certaines assurent la fermentation du lactose, produisant, outre des acides, des gaz (hydrogène et gaz carbonique) (**Fleurette, 2003**).

Un grand nombre d'entre elles étant les hôtes habituels de l'intestin des mammifères, leur présence dans le lait tout comme dans l'eau, est l'indice d'une contamination fécale. Cet indice est mis à profit dans l'examen de la qualité des produits (**Dieng, 2001**).

Certains coliformes sont lactiques et fermentent le lactose sur un mode hétérofermentaire. Ils peuvent se retrouver dans tous les types de lait. Ce sont des germes qui vivent dans le tube digestif de l'Homme et des animaux. Leur présence est un signe de contamination lors de la traite et pendant les manipulations et transvasements multiples que subissent les produits avant la commercialisation (**Chethouna, 2011**).

- **Les psychrotrophes :**

Le terme « psychrotrophe » désigne des micro-organismes qui ont la faculté de se développer à une température inférieure à +7°C, indépendamment de leur température de croissance plus élevée. En général dans le lait; c'est le genre *Pseudomonas* qui domine. Il est fortement psychrotrophe et il se multiplie par 100 en 48 heures à +4°C. Ces germes produisent des lipases et des protéases thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables dans les produits laitiers: goût amer, rance, etc. ... (**Dieng, 2001**).

- **Les levures :**

Les levures supportent des pH de 3 à 8 avec un optimum de 4,5 à 6, ce qui explique leur présence dans le lait cru. Elles entraînent des altérations rendant le produit final répugnant: aspect trouble, odeurs ou goûts anormaux, gonflement des produits ou de leur emballage (**Dieng, 2001**).

#### 2.3.2.2.2. Flore pathogène

La présence de microorganismes pathogène dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'Homme (**Gouttaya et al., 2013**).

Différentes espèces bactériennes sont capables de pénétrer dans la mamelle par le canal du trayon et sont excrétées avec le lait (**Fleurette, 2003**). Les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yarcinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei* et certaines moisissures (**Gouttaya et al., 2013**).

**Tableau 09 : Les principaux germes pathogènes du lait (Fleurette, 2003).**

Espèce	Risques
<i>E. coli</i>	Graves toxi-infections Accidents de fabrication : défaut d'respect, gonflement, défaut de gout (acide, aigre, piquant).
<i>S. aureus</i>	Toxi-infection de gravité variable redoutable chez l'enfant (syndrome gastro-intestinal).
<i>Listeria monocytogenes</i>	La listériose (méningites, encéphalites et avortement).
<i>Salmonella</i>	Les salmonelloses (fièvre typhoïde et paratyphoïde, des gastro-entérites et toxi-infections alimentaires collectives).

## 2.4. L'espèce *Staphylococcus aureus*

### 2.4.1. Historique

Les premières descriptions des Staphylocoques isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871 mais ce n'est pas que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom de la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur, en 1880, en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine. Plus tard, en 1883 Ogston crée le nom de <Staphylocoque> pour décrire ces grains kokkos groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin *Staphylos*. Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus*. En 1884 en Allemagne Rosenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en obtenant des cultures pures de ces bactéries sur milieu solide, il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies blanches on durées (Chaalal, 2013).

### 2.4.2. Habitat

*S. aureus* est une bactérie omniprésente chez l'Homme, les animaux ainsi que dans l'aliment (El Haddad, 2010).

*S. aureus* communément appelé le staphylocoque doré, est commensal de la peau et des muqueuses de l'Homme et des animaux à sang chaud. Par sa présence quasi-permanente au contact de l'hôte, *S. aureus* est donc aux premières loges pour provoquer des infections opportunistes allant de superficielles (par exemple, impetigo, furoncle) à profondes (ostéomyélite, endocardite) ou généralisées (septicémie) (Damien, 2013).

Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière de colonisation empêchant l'implantation de bactéries de la flore transitoire.

Cependant l'habitat préférentiel de *S. aureus* chez l'Homme est la muqueuse nasale, il existe 3 statuts de portage nasale de *S. aureus* : environ 20% de la population est porteuse de manière permanente porteurs persistants, environ 60% sont porteurs de manière intermittente, avec des souches qui varient au cours de temps et 20% ne sont pratiquement jamais porteurs.

Ils sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières l'air et l'eau (Chaalal, 2013). Ils sont fréquemment retrouvés dans le lait et parfois en nombre important.

L'origine de la contamination est la mamelle (**Dieng, 2001**) et des trayons et a, donc, toute la possibilité de coloniser des blessures de trayons et l'intérieur de la mamelle. On qualifie les staphylocoques de germes pathogènes à réservoir mammaire puisque les quartiers infectés, les plaies, les gerçures sont les principaux réservoirs et les germes sont transférés dans les trayons sains à l'occasion de la traite (**Bachtarzi, 2012**).

Les souches de *S. aureus* persistent une à deux années dans un culot de gélatine et dans des ampoules scellées pendant 17 ans en macération de viande de gélatine. Aujourd'hui, l'emploi de la lyophilisation fournit le meilleur moyen pour conserver des staphylocoques au laboratoire (comme par ailleurs les autres germes) (**Aouati, 2009**).

### 2.4.3. Classification

Selon la classification de Garrity *et al.* 2007, le genre *Staphylococcus* appartient au phylum des Firmicutes constitué de quatre classes : *Clostridia*, *Mollicutes*, *Bacilli*, *Togobacteria* (**Chaalal, 2013**).

Les staphylocoques appartiennent à la famille des *Micrococcaceae* (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

La famille des *Micrococcaceae* composée de quatre genres :

- ✓ Le genre *Micrococcus* qui comprend des microcoques qui sont des hôtes normaux de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Ils sont sans pouvoir pathogène et sont la plupart du temps des contaminants des prélèvements.
- ✓ Le genre *Stomatococcus* qui comprend des bactéries faisant partie de la flore buccale.
- ✓ Le genre *Planococcus* qui comprend des bactéries du milieu marin.
- ✓ Le genre *Staphylococcus* qui regroupe 36 espèces (**Collomb, 2011**).

La classification du genre *Staphylococcus* ne cesse d'évoluer. Ainsi, un grand nombre d'espèces a pu être identifié. Des sous-espèces existent également.

Baird-Parker en 1974 a proposé une classification en trois espèces :

*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* et *Staphylococcus epidermidis*. *Staphylococcus aureus* se distingue des deux autres espèces par la production d'une enzyme, la coagulase, dont l'association avec le « coagulase reacting factor » transforme le fibrinogène du plasma en fibrine.

Le développement des techniques moléculaires (hybridation ADN/ARN) a permis d'affiner cette classification. Cependant, le critère de base reste la production de coagulase (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

En 1997, une trentaine d'espèces ont été identifiées trois sont productrices de coagulase. Ce sont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus*. La contamination des aliments reste peu probable pour *Staphylococcus intermedius*. Par contre, l'isolement de *Staphylococcus aureus* chez l'Homme et les animaux et l'isolement de *Staphylococcus hyicus* chez de nombreuses espèces animales d'élevage rendent ces souches potentiellement dangereuses en santé animale et en hygiène alimentaire (Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003).

#### 2.4.4. Les caractères morphologiques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille de *Micrococcaceæ* qui regroupe des espèces bactériennes constituées de cellules arrondies immobiles et disposées en amas (fig. 1) (Pibiri, 2006)

*S. aureus* est une coque à coloration de Gram positive. Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas (Anses, 2011).

Il se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies (Collomb, 2011).

Sur milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristiques de «grappes de raisin» alors qu'en milieu liquide ils sont souvent isolés en diplocoques en tétrades ou en très courtes chainettes. Examinés on lame, après avoir été isolés d'une gélose, l'aspect en mosaïque est habituel (Chaalal, 2013).



Figure 1 : Aspect microscopique de l'espèce *Staphylococcus aureus*

#### 2.4.5. Les caractères biochimiques

L'espèce *S. aureus* a été subdivisée en 2 sous-espèces : *S. aureus* subsp. *Aureus* et *S. aureus* subsp. *anaerobius*. Cette dernière, isolée en 1985 à partir d'abcès chez le mouton, est anaérobie et peu connue. Seule *S. aureus* subsp. *aureus* sera traitée dans cette fiche sous la

dénomination de *S. aureus*. Elle se caractérise par la production de pigment, et de nombreuses autres enzymes et toxines responsables de sa virulence (M-L De Buysse *et al.*, 2003).

- La coagulase, qui protège la bactérie contre les mécanismes de défense de l'hôte;
- La leucocidine, qui attire et inhibe les leucocytes au site de l'infection (formation de pus);
- Les hémolysines, exotoxines qui détruisent les globules rouges;
- La phosphatase et la désoxyribonucléase dont les rôles demeurent ambiguës dans le processus d'agression (Québec, 2012).

La plupart des souches de *S. aureus* contrairement aux autres espèces produisent de l'hémolyse bêta, caractéristique utile lorsqu'on cherche à identifier un staphylocoque. Ainsi, les souches de *S. aureus* sont : acétone +, uréase +, VP+, MR+, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (Aouati, 2009).

*S. aureus* possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques.

Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés; (glucose, saccharose, lévulose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobiose ainsi que le mannitol (Aouati, 2009).

Le développement est également gêné lorsque la bactérie entre en compétition avec d'autres germes, notamment la flore lactique. La croissance de la bactérie est donc facilitée dans le lait pasteurisé par rapport au lait cru.

La bactérie est détruite par la pasteurisation mais la toxine y résiste. Il existe donc un risque si la toxine est synthétisée avant la pasteurisation (Lelievre, 2012).

### 2.4.6. Les caractères culturels

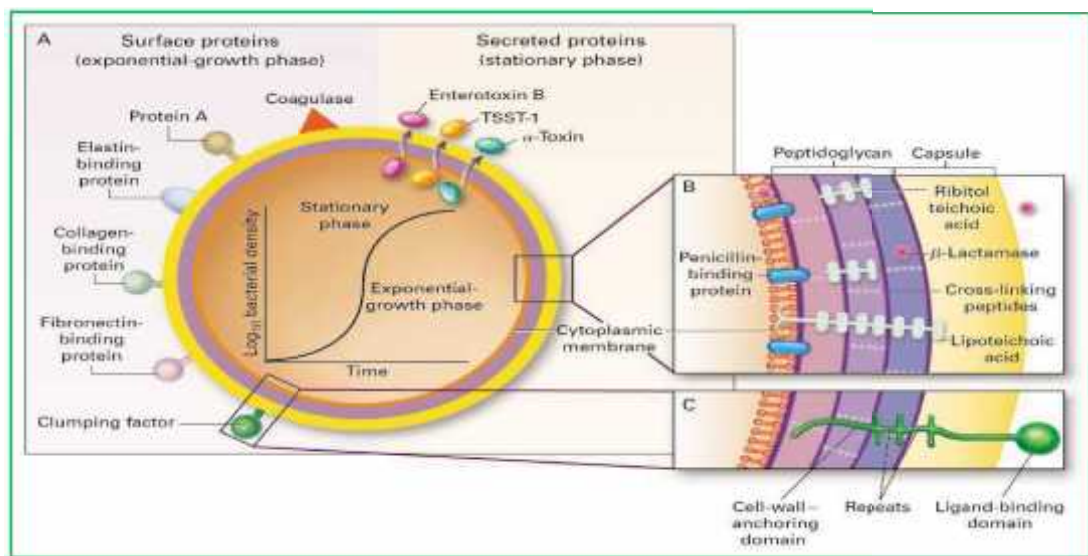
- La température : *S. aureus* est un germe mésophile. Il se cultive de 6°C à 46°C. La température optimale est de 37°C.
- Le pH : *S. aureus* se cultive à un pH qui va de 4 à 9,8. Le pH optimal se situe entre 6 et 7.
- La teneur en sel : *S. aureus* est un germe halophile qui supporte des taux de sel allant de 7 à 20%.
- L'activité en eau : *S. aureus* tolère une activité en eau très réduite ( $A_w = 0,83$ ) (Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003).

- Il est capable de se multiplier dans des milieux contenant 5 à 10% de NaCl, en bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le Staphylocoque, le milieu est Baird Parker (Chaalal, 2013).

**Tableau 10 : Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse de *S. aureus* (Bauraind et al., 2014).**

Paramètre	Condition de croissance
<b>Température</b>	De +6°C à +48°C pour certaines souches, optimum entre +35°C et +41°C
<b>Ph</b>	De 4 à 10, optimum 6 à 7
<b>Atmosphère</b>	Aérobie avec possibilité de croissance en anaérobiose
<b>Activité d'eau</b>	Aw optimale 0.99, Aw limite à 0.86

#### 2.4.7. La structure de *S. aureus*



**Figure 2 : Structure de *S. aureus* (Lowy, 1998).**

A : protéines de surface et secrétées en fonction de la phase de croissance.

B : organisation de la paroi bactérienne et de la capsule.

C : Détail de l'organisation du (clumping factor). La majorité des protéines de surfaces ont une organisation similaire.

### 2.4.7.1. La paroi cellulaire

La paroi des staphylocoques est caractéristique des bactéries à Gram positif. C'est une structure rigide et résistante qui entoure la membrane cytoplasmique. Cet exosquelette est responsable de la forme de la bactérie et se compose principalement de peptidoglycanes (fig. 3) (Collomb, 2011).

Le peptidoglycane de *S. aureus* est formé de chaînes linéaires de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique réunis par des liaisons 1-4 et 1-6, sur l'acide N-acétylmuramique se fixe un tétra peptide ; des ponts penta ou hexa-glycines unissent la lysine d'un tétra peptide à l'alanine du suivant.

Chez *S. aureus*, le relargage de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infections locales (abcès, infections articulaires) provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et une libération de cytokines (IL-1, IL-6, IL-8 et TNF alpha) qui, en grande quantité, provoquent des lésions tissulaires et une hyperthermie (Aouati, 2009).

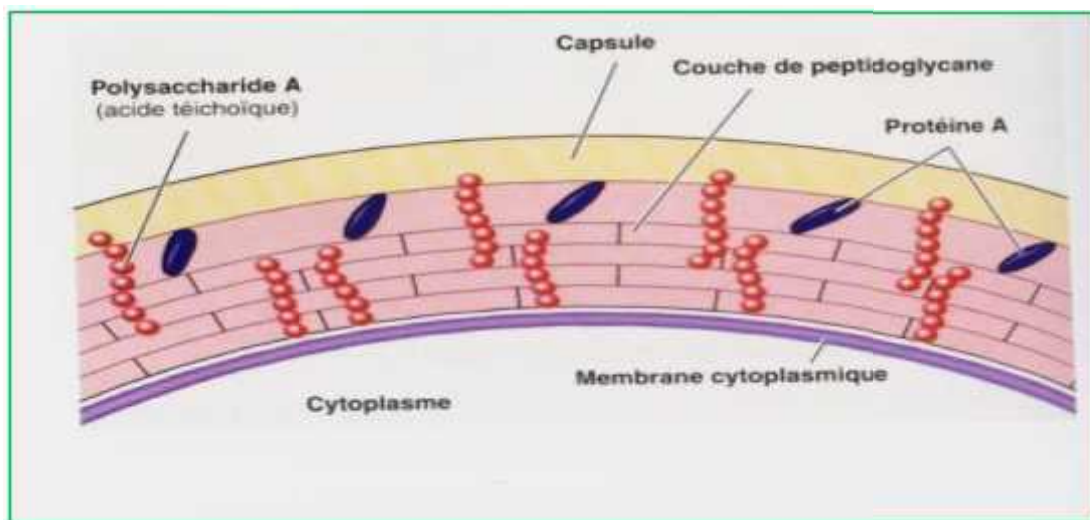


Figure 3 : Structure de la paroi des staphylocoques (Spicer, 2003 .

### 2.4.7.2. La capsule

La majorité des staphylocoques produisent des microcapsules polysaccharidiques. Certaines souches de *S. aureus* sont aussi capables de produire des exopolysaccharides responsables de la formation de biofilms, ce qui confère à la bactérie une forme de résistance (Collomb, 2011).

La capacité de la bactérie à adhérer aux bio-matériels recouverts par le plasma de l'hôte et les protéines matricielles, tels que le fibrinogène ou la fibronectine, est un déterminant majeur dans l'initiation d'une infection sur un corps étranger (**Aouati, 2009**).

### 2.4.7.3. Le génome

Il est composé d'un chromosome circulaire (environ 2800 pb), de prophages, de plasmides et de transposons. Des facteurs de virulence et de résistance aux antibiotiques ont été retrouvés à la fois dans le chromosome et dans les éléments extra-chromosomiques (**Collomb, 2011**).

## 2.5. Pouvoir pathogène de *S. aureus*

*S. aureus* est l'espèce la plus pathogène de genre de *Staphylococcus* et la première cause d'infection bactérienne à travers le monde, cette pathogénicité de *S. aureus* est un phénomène complexe, faisant intervenir une multitude de facteurs de virulences (**Chalaal, 2013**).

La virulence de *S. aureus* est due à la sécrétion de multiples toxines et enzymes qui contribuent diversement à l'expression du pouvoir pathogène (**Fiquet, 2009**).

### 2.5.1. Protéines de surfaces

Les protéines présentes à la surface de *S. aureus* ont de nombreux points communs entre-elles. Elles se composent en général d'une séquence signal sécrétrice, d'une partie composée d'acides aminés chargés positivement dans le cytoplasme.

- La protéine A, qui est le prototype de ces protéines, a des propriétés anti phagocytaires par sa capacité à se lier à la partie Fc des immunoglobulines (**Collomb, 2011**).
- Les MSCRAMM : « microbial-surface components recognizing adhesive matrix molecules », forment un ensemble de protéines qui, comme son nom l'indique, sont caractérisées par leur capacité à se lier à des éléments de la matrice extracellulaire. Il semblerait qu'elles jouent un rôle majeur dans la capacité des staphylocoques à envahir les tissus de l'hôte (**Collomb, 2011**).

### 2.5.2. Les enzymes

- **La Coagulase libre :**

La sécrétion de la coagulase est le caractère taxonomique essentiel de l'espèce. La présence de cette enzyme définit l'espèce *S. aureus*. C'est une enzyme extracellulaire, thermostable peu antigénique. Néanmoins, elle entraîne l'apparition d'anticorps inhibant son activité biologique, ils sont généralement présents dans le sérum des sujets sains (**Aouati, 2009**).

Il active en quelques heures, coagule le plasma d'Homme ou de lapin autour des colonies de cocci par transformation du fibrinogène en fibrine (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

- **La coagulase liée :**

Ou *clumping factor*, liée à la paroi des staphylocoques, provoque une agglutination du fibrinogène (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

Cette protéine, très riche en lysine (PM de 21 kDa, pI de 10,3), est présente chez presque toutes les souches d'origine humaine mais elle est moins fréquente chez les souches d'origine animale (**Aouati, 2009**).

- **La thermonucléase :**

Se recherche sur milieu de Lachica, de couleur bleue. Les souches possédant cette enzyme provoquent l'apparition d'une auréole rosée autour des cocci (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

- **La catalase :**

C'est une enzyme qui convertit le peroxyde d'hydrogène accumulé dans la cellule résultant du métabolisme ou lors de la phagocytose en molécules d'eau et oxygène ce qui empêche la formation de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie (**Chalaal, 2013**).

### 2.5.3. Les cytotoxines

Il s'agit de toxines à activité membranaire.

- **L'Alpha-hémolysine :**

Ou alpha-toxine, est toxique vis-à-vis de nombreux types de cellules de mammifères. Elle est dermonécrotique et neurotoxique. Elle est particulièrement active sur les érythrocytes de lapin, ces cellules sont au moins cent fois plus sensibles que celles des autres mammifères, et mille fois plus sensibles que celles de l'Homme.

Les effets sur l'hôte sont largement dus à la formation de pores dans la membrane permettant un passage d'ions à travers celle-ci, et provoquant donc une altération de l'équilibre des ions chez l'hôte (**Deverriere, 2007**).

C'est une exotoxine protéique de PM de 33 kDa et de pI de 8.55, thermostable, antigénique, induisant la formation d'anticorps neutralisants, son gène de structure est cloné et la séquence d'acide aminé est connue. La toxine est inactivée à 60°C et réactivée à 100°C (effet Arrhénius) (**Aouati, 2009**).

- **La bêta-hémolysine :**

Le rôle de la bêta-hémolysine dans les maladies causées par *S. aureus* n'est pas encore clairement compris. Elle possède un haut niveau d'expression chez les souches animales. Les  $\alpha$ - et  $\beta$ -hémolysines peuvent aussi causer une inflammation importante quand elles sont injectées toutes seules, même sans les bactéries (**Deverriere, 2007**).

Elle est thermolabile de PM de 26 à 38 kDa et de pI 9.4, synthétisée par 94% de souches animales et par 54% de souches humaines. Il s'agit d'une phospholipase de type C, active sur la sphingomyéline, d'où son nom de sphingomyélinase de type C, et donne une hémolysine accrue en présence de souches de *Staphylococcus agalactiae* (**Aouati, 2009**).

- **La gamma-hémolysine :**

Cause des dommages sur la membrane d'un certain nombre de cellules de mammifères. Elle a une activité hémolytique (**Deverriere, 2007**).

Elle est antigénique chez l'Homme, et est formée de deux constituants I (PM: 29 kDa, pI: 9.8) et II (PM: 26 kDa, pI: 9.9) agissant en synergie et dont le cholestérol inhibe l'action. (**Aouati, 2009**).

- **La delta-hémolysine :**

Protéine de PM de 103 kDa, composée de sous unités (PM: 5 kDa, pI: 9.5), elle est thermostable et hydrophobe, faiblement antigénique. Son activité biologique n'est pas enzymatique, elle agit comme un détergeant sur les membranes biologiques, sans spécificité mais avec une certaine rapidité, et inhibe l'absorption de l'eau et la production d'acide adénosine mono phosphorique cyclique (AMPC), semblant ainsi jouer un rôle dans les diarrhées aiguës des infections à *S. aureus* (Aouati, 2009).

- **Les entérotoxines :**

Ce sont des toxines de nature protéique, ayant un poids moléculaire allant de 27000 à 30000 Daltons. De petite taille, elles peuvent être difficiles à isoler dans le lactosérum (Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003).

Les propriétés biologiques des entérotoxines peuvent rester inchangées après pasteurisation, la production d'entérotoxines staphylococcique peut commencer à partir d'une faible concentration bactérienne après incubation de 2 h à 37°C (Chalaal, 2013).

### 2.5.4. Maitrise de *S. aureus* : croissance et production d'entérotoxines

#### 2.5.4.1. Les effets des facteurs abiotiques

- **La température :**

La gamme de température pour la croissance de *S. aureus* s'étend entre 7 et 46°C et sa production d'entérotoxines serait possible entre 10 et 45°C et la croissance de *S. aureus* et sa production de d'entérotoxines sont complètement inhibées à une température inférieure à 7°C (Alomar, 2007).

- **La concentration en NaCl :**

*S. aureus* et une bactérie halotolérante capable de se multiplier en milieu de laboratoire jusqu'à 12% de NaCl, elle peut survivre avec 20% de NaCl de bouillon de culture, les entérotoxines ne sont pas produites à des concentrations de NaCl supérieures à 18%. Des fortes concentrations en sel modifient la composition en acides gras de la membrane produisant un changement dans la perméabilité de la membrane (Alomar, 2007).

- **Les exigences nutritionnelles :**

Les exigences nutritionnelles de *S. aureus* sont dépendantes de la composition de milieu, *S. aureus* exige pour sa croissance une source azotée qui peut être des acides aminés et des vitamines de groupe B et de sulfate d'ammonium. L'addition de glutamate de proline et de thréonine à concentration de 30 mg/l favorise la croissance de *S. aureus* et sa production d'entérotoxines (Alomar, 2007).

- **Les hautes pressions :**

Le traitement par les hautes pressions consiste à appliquer un pressage isostatique à froid pression identique dans toutes les directions de l'espace, en tout point de l'environnement et donc de produit, il provoque la destruction des microorganismes en agissant sur la membrane et les parois cellulaires. *S. aureus* est une bactérie sensible aux hautes pressions (Alomar, 2007).

### 2.5.4.2. Les effets de facteurs biotiques

- **Le pH**

L'effet de pH sur *S. aureus* est lié à plusieurs facteurs environnementaux et aussi au type d'acide utilisé pour ajuster le pH de milieu. La production d'entérotoxines est inhibée à des valeurs de pH inférieures à 5,3 elle est maximale aux valeurs de pH comprises entre 6,5 et 7,0 dans des milieux de laboratoire (Alomar, 2007).

- **Les bactériocines**

Sont des molécules de nature protéique à effet bactéricide dirigées contre les espèces généralement apparentées aux bactéries productrices. L'activité des bactériocines dépend des conditions de culture pH, T... . L'effet antagoniste de la nisine vis-à-vis de *S. aureus* diminue quand la T d'incubation augmente (Alomar, 2007).

- **Le pyroxyde d'hydrogène :**

L'effet antimicrobien de pyroxyde d'hydrogène peut résulter de l'oxydation des groupes sulfhydryliques causant la dénaturation d'un certain nombre d'enzymes et de la

peroxydation des lipides de la membrane et de ce fait provoque l'augmentation de la perméabilité de la membrane et la production d' $H_2O_2$ . *Lactobacillus* et *Lactococcus* inhibe la croissance de *S. aureus* (Mami, 2013).

### 2.5.5. Toxi-infections alimentaires

Les intoxications alimentaires à *S. aureus* ne sont pas des infections vraies avec multiplication bactérienne *in situ*, mais sont dues aux entérotoxines préalablement développées dans l'aliment, résistantes aux sucs digestifs et pour certaines à la chaleur. Le tableau clinique est impressionnant et surviennent deux à six heures après l'ingestion d'un aliment. La symptomatologie débute brutalement dans un contexte non fébrile en associant des vomissements incoercibles, une diarrhée aqueuse abondante, des douleurs abdominales et des céphalées. Ces signes apparemment graves sont en fait d'évolution rapide généralement bénigne, sauf chez les individus «fragiles» (Aouati, 2009).

- ❖ L'ingestion de 100 mg d'entérotoxines constituerait la dose minimum capable de provoquer des troubles chez les individus les plus sensibles (d'après l'étude d'une TIAC survenue en 1985 aux USA). Grande variabilité de sensibilité d'un individu à l'autre.
- ❖ La toxine étant très stable, elle peut être présente sous forme active dans les aliments alors que toutes formes viables de la bactérie ont disparu. Les entérotoxines sont généralement détectables pour une population d'au moins  $10^6$  cellules bactériennes par g (Marie-Laure De Buyser *et al.*, 2003).

### 2.6. Origine de la contamination par *S. aureus*

La peau et les muqueuses des animaux à sang chaud constituent la niche écologique de *S. aureus*. Chez l'Homme, les fosses nasales, le cuir chevelu et les mains sont les principales localisations. Chez les ruminants et plus particulièrement chez la vache, *S. aureus* se retrouve majoritairement dans les naseaux et sur la peau des trayons. Il est capable de survivre dans l'environnement direct de l'animal puisque de nombreuses espèces de staphylocoques peuvent être retrouvées dans l'air, dans la salle de traite, la litière et au niveau des lésions cutanée. Ainsi, différentes sources de staphylocoques sont possibles : les sources primaires (animaux et homme) et les sources secondaires (matériel). (Damien Bouchard, 2013).

### 2.6.1. Sources primaires animales

Elles sont majoritairement représentées par les mammites et le portage cutané.

#### 2.6.1.1. La mammite

Les mammites consistent en une inflammation de la glande mammaire (une inflammation de la mamelle), le plus souvent développée en réponse à une infection bactérienne intramammaire (**Bouchard, 2013, Croisier, 2011 ; Wallemacq *et al.*, 2010 ; Croisier et Vibon Banah, 2007 ; Houssa, 2006**). Elle peut aussi être due à une infection d'origine virale, ou fongique ou encore résulter de changements physiologiques, d'un traumatisme ou d'une lésion (**Bouchard, 2013**). Selon le degré et la gravité de l'inflammation, on distingue les mammites cliniques et les mammites subcliniques (**Houssa, 2006**).

La mammite peut se définir par l'état inflammatoire d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle quelle que soit l'origine traumatique, physique, chimique ou biologique. Par opposition sera considérée comme normale, une mamelle sans signe visible d'un état pathologique avec un lait exempt d'agents pathogènes et des caractéristiques cellulaires et physico-chimiques normales (**Haddadi, 2006**). Dans l'espèce bovine, la mamelle est constituée de quatre quartiers indépendants vis-à-vis de l'infection. Le lait contenu dans ces quartiers est normalement sain. L'infection d'un quartier par un pathogène de la mamelle se fait principalement par voie ascendante, via le canal du trayon (**Haddadi, 2006**). L'inflammation intramammaire se traduit dans un premier temps par une modification de la composition du lait :

- ✚ présence de leucocytes en quantité anormalement élevée. On peut les dénombrer pour estimer de façon indirecte le niveau d'inflammation ;
- ✚ modification chimique avec une augmentation des protéines solubles au profit des protéines coagulables, une augmentation de la concentration en certains minéraux comme le sodium et chlore (**Croisier et Croisier, 2011**).

L'apparition des mammites est favorisée par différents facteurs tels que la traite, les traumatismes, les blessures, les stress, l'inconfort et la malpropreté du bâtiment (**Vibon Banah, 2007**).

Au sein de la famille des pathogènes majeurs impliqués dans les mammites bovines, on distingue les mammites contagieuses (réservoir mammaire), des mammites environnementales (réservoir environnemental : litière, sol...).

Les pathogènes contagieux sont essentiellement des bactéries capables de survivre et de proliférer au niveau de la peau, des trayons et des pis. Ces pathogènes peuvent se transmettre à d'autres quartiers et d'autres animaux, les principaux représentants de cette catégorie sont *S. aureus* (**Damien Bouchard, 2013**).

Les pathogènes environnementaux sont présents dans l'environnement de l'animal (*S. uberis* est à la fois un pathogène avec un réservoir environnemental et mammaire). Ces pathogènes sont considérés comme opportunistes. Ils pénètrent la glande via le canal du trayon et induisent une inflammation mais sont souvent vite éliminés. De nombreux microorganismes peuvent être considérés comme pathogènes environnementaux mais les principaux représentants sont *Streptococcus uberis* et *Escherichia coli* (tab.11, fig. 4) (**Damien Bouchard, 2013**).

**Tableau 11: Classification des germes de mammite (Houssa, 2006).**

Types de germes	Germes contagieux	Germes de l'environnement
<b>Germes pathogènes majeurs</b>	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase positive)	<i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus uberis</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella</i>
<b>Germes pathogènes mineurs</b>	Staphylocoque coagulase négative (SCN) <i>Corynebacterium bovis</i>	Champignons Levures

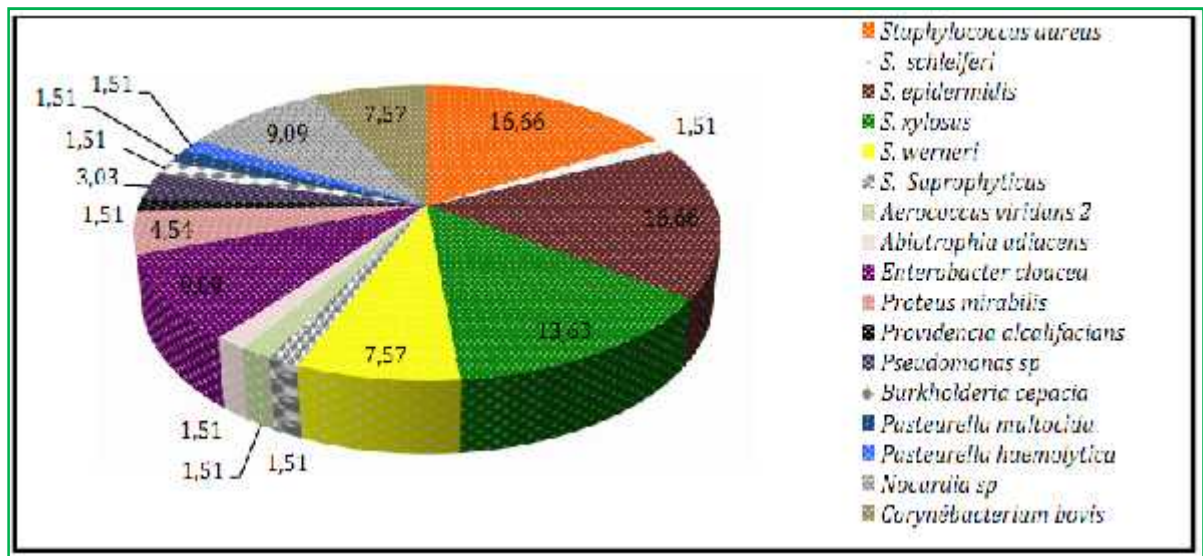


Figure 4 : Etiologie des mammites bovines dans l'est d'Algérie (Benhamed, 2004).

- **La mammité à *S. aureus* :**

Ce germe est une cause majeure des infections mammaires ; il est très souvent présent sur la peau des trayons et il existe une corrélation entre la colonisation de l'orifice du trayon par cette bactérie et des lésions cutanées du trayon (Houssa, 2006.) Les gîtes préférentiels pour *S. aureus* sont les lésions du trayon : gerçures, crevasses, éversion du canal du trayon ... (Baillet, 2009).

Il produit des toxines et des enzymes (toxine a, coagulase, fibrinolysine, hyaluronidases, leucocidines, hémolysines). La toxine a induit une nécrose cutanée et explique ainsi l'apparition occasionnelle de mammites gangréneuses. Les infections à staphylocoques sont contagieuses et se transmettent de quartier infecté à quartier sain (Baillet, 2009). *S. aureus* étant sensible à de nombreux médicaments et antiseptiques, une bonne hygiène, avant et après la traite, permet la maîtrise de l'affection due à ce germe (Houssa, 2006).

L'infection intramammaire causée par *S. aureus* pose deux problèmes majeurs : son aspect contagieux et surtout sa capacité à s'implanter et persister au niveau du réservoir mammaire. La formation de ce réservoir mammaire passe bien sûr par la contamination de la mamelle, mais surtout par sa capacité à former des biofilms bactériens ou sa capacité à envahir les tissus de l'hôte. Cette dernière propriété est de plus corrélée à la capacité de *S. aureus* à former des variant phénotypiques dit « small colony variants » qui constituent un état végétatif ou dormant de *S. aureus* lui assurant

une survie intracellulaire. A la différence des autres pathogènes, cette capacité de persistance engendre une infection pouvant être chronique, où le pathogène ressurgit à la lactation suivante malgré l'application d'un traitement antibiotique au tarissement (**Damien Bouchard, 2013**).

- **Classification de la mammite :**

On peut classer les mammites selon les modifications de la mamelle (chaleur, douleur, rougeur, gonflement), la composition du lait (grumeaux, couleur) (**Gabli, 2005**). Les définitions publiées par la Fédération Internationale de laiterie et rapportées par POUTREL (1985) permettent de classer les mammites en deux catégories (**Houssa, 2006**).

- ✓ **Mammites cliniques :**

Mammite aiguë : dans ce cas, il y a des signes évidents d'inflammation de la mamelle qui est alors enflée, chaude et douloureuse. Le lait est macroscopiquement anormal et les animaux ont de la fièvre.

Mammite subaiguë : les signes inflammatoires sont moins évidents que dans le cas précédent. En plus, on note la présence persistante de caillots dans le lait et notamment dans les premiers jets (**Houssa, 2006**).

Une mammite est dite clinique lorsque l'atteinte mammaire se traduit par des symptômes locaux et généraux. Ainsi, elle est caractérisée par l'apparition des signes généraux (fièvre, anorexie, asthénie, coma etc.), locaux (rougeur, chaleur, œdème, gangrène, asymétrie, sclérose, abcès) et des signes fonctionnels (modifications qualitatives ou quantitatives de la production du lait). Les mammites cliniques surviennent principalement lors de la traite mécanique pendant le premier tiers de la lactation (**Viban Banah, 2007**).

La présence de grumeaux dans le lait et la diminution de la production journalière sont aussi observables. Il existe également des mammites graves, caractérisées par une nécrose de la mamelle, pouvant tuer l'animal. Il s'agit, dans ce cas, de mammites gangréneuses. Elles constituent la pathologie la plus fréquente et la plus coûteuse rencontrée en élevage laitier (**Wallemacq et al., 2010**).

Les mammites cliniques sont souvent compliquées d'un déplacement de caillette à gauche ou à droite (7 %). En effet la dysorexie due à la mammité engendre une baisse de volume du rumen laissant de l'espace à la caillette pour se déplacer dans l'abdomen (Baillet, 2009).

**Tableau 12 : Fréquence d'isolement des germes lors de mammites cliniques**

Espèces bactériennes	Fréquence d'isolement lors de mammites cliniques
<i>E. coli</i>	41 %
<i>S. aureus</i>	17 %
<b>Autre streptocoques : <i>Streptococcus agalactiae, dysgalactiae, uberis</i></b>	13 % (les <i>S. uberis</i> sont les plus fréquents)
<b>Staphylocoques</b>	11 %
<i>Klebsellia</i>	1.6 %
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1.6 %

✓ **Mammites subcliniques :**

Il n'y a pas de signes d'inflammation macroscopiquement évidents, mais l'examen du lait révèle l'existence d'une infection, une augmentation du nombre des cellules du lait et également une altération des propriétés chimiques du lait (Houssa, 2006).

Ces mammites subcliniques à *S. aureus* ont, de plus, tendance à devenir chroniques et à persister durant de longues périodes de temps. Chez les vaches laitières, les mammites à *S. aureus* s'expriment le plus souvent par une élévation du taux de cellules somatiques dans le lait, principalement liée à un afflux des neutrophiles (Wallemacq *et al.*, 2010).

La mammité subclinique est caractérisée par l'absence de symptômes visibles. Les mammites subcliniques notamment celles à *S. aureus* peuvent évoluer vers une mammité chronique, à savoir, une infection persistante ou latente qui peut resurgir à l'état clinique en fonction du temps et de l'environnement. Chez les bovins, 80 % des infections persistent pendant la lactation en cours, voire pendant le tarissement. Lors du développement de l'infection, beaucoup de facteurs peuvent influencer l'orientation de la mammité (Damien Bouchard, 2013).

Une étude effectuée en France et au Royaume-Uni entre 1966 et 1986 montre qu'il s'agirait du germe le plus fréquemment impliqué dans les infections inapparentes et les mammites subcliniques chroniques. Ces infections sont très difficiles à soigner et représentent la source principale de contamination du lait cru par *S. aureus*. En effet, l'infection peut persister longtemps même avec des symptômes frustrés (**Lelievre, 2012**).

### **2.6.1.2. Portage cutané**

Le portage de staphylocoques est fréquent sur la peau et les muqueuses des animaux. Les mamelles et les trayons des chèvres sont particulièrement concernés. Ils peuvent être une source de contamination du lait car, lors de la traite mécanique, le lait est en contact avec la peau du trayon dans le manchon trayeur. Dans ce cas, une contamination du lait sans mammite est possible (**De Matos, 2013**).

### **2.6.2. Sources primaires humaines**

Beaucoup de personnes sont naturellement porteuses de *S. aureus* au niveau de la peau et des muqueuses. Ainsi, plus de 20 % des personnes sont porteuses permanentes de *S. aureus*, 60% de façon intermittente, et seulement 20% n'en portent presque jamais. Les localisations préférentielles sont les fosses nasales et les mains.

Le portage cutané semble souvent consécutif au portage nasal, car les souches sont souvent communes (plus de 60 % des cas), et l'élimination de la source nasale est régulièrement suivie d'une diminution du portage cutané. Leur présence est plus importante chez les sujets malades que les sujets sains, et la fièvre est associée à une augmentation de contamination de la sphère rhino-pharyngée. Tout individu malade est donc plus souvent porteur et excréteur de *S. aureus* ; les contaminations de l'environnement sont donc plus importantes. Les plaies, quant à elles, sont très souvent infectées par *S. aureus* : 60 à 100 % des lésions. Ainsi, lors de la traite mécanique ou manuelle ou de la manipulation du lait, la contamination est possible par contact direct, ou par voie aérienne, avec ou sans maladie (**De Matos, 2013**).

### 2.6.3. Sources secondaires : matériel de traite

Le matériel de traite, et notamment la machine à traire, peut être une source secondaire de staphylocoques à coagulase positive. *S. aureus* est capable de survivre grâce à des biofilms sur des milieux inertes. C'est un élément de résistance de la bactérie. De cette manière, à chaque traite, le lait qui passe dans les lactoducs est contaminé.

Des biofilms peuvent aussi se constituer sur tous les matériels de traite et de fromagerie (bidons à lait...).

Des staphylocoques peuvent également être présents au niveau de tous les éléments en caoutchouc (tuyaux longs et courts à lait, manchons) lorsque ceux-ci sont trop vieux. En effet, de petites fissures se forment et les bactéries vont se loger à l'intérieur. Le lavage de la machine n'est pas suffisant pour éliminer ces bactéries, qui sont protégées dans leur crypte et peuvent contaminer le lait (**De Matos, 2013**).

### 1. Introduction

L'Algérie est le premier pays consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an. Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des Algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale. Acteur clé de l'industrie agroalimentaire, la filière Lait connaît une croissance annuelle de 8%. Avec un taux de collecte inférieur à 15% ; cette filière reste, cependant, fortement dépendante de l'importation de poudre de lait (**Bachtarzi, 201**).

Le lait est un produit de forte valeur nutritionnelle. C'est l'un des rares aliments à contenir une teneur équilibrée en nutriments de base (glucides, lipides et protides) avec une valeur énergétique de l'ordre de 700 cal/l, le lait constitue une source importante et relativement bon marché d'apport quotidien en acides aminés, sels minéraux et en vitamines (**Boubchir, 2008**).

La qualité du lait a évolué au cours des dernières décennies. Il s'agit d'un sujet complexe qui comporte diverses facettes intimement liées les unes aux autres (**Grenon et al., 2004**). Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne (**Kodio, 2005**). Ainsi, sa production doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'il peut présenter pour la santé humaine, notamment des souches pathogènes pour l'Homme et l'Animal (**Labioui et al., 2009**). La flore pathogène est représentée essentiellement par *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* sécrétrice de shiga-toxine, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium* spp, *Brucella* spp et autres. Plusieurs germes pathogènes sont impliqués dans les infections intra mammaires mais *Staphylococcus* spp. sont les plus incriminées dans les mammites ovines (**Yabrir et al., 2013**).

*Staphylococcus aureus* est un pathogène majeur causant d'énormes problèmes en élevage en raison de son caractère contagieux (transmission aux machines à traire et aux animaux, persistance intrammaire, résistance aux antibiotiques...) (**Damien Bouchard, 2013**).

La recherche de *S. aureus* permet de prévoir si l'aliment présente un risque pour le consommateur car ils peuvent produire une entérotoxine cause d'intoxications alimentaires (**Aggad et al., 2009**).

## INTRODUCTION

---

Le travail de ce mémoire est reparti en deux parties :

- une étude bibliographique comporte trois parties, la première traite le lait de vache cru et ses caractéristiques physico-chimiques, la deuxième mentionne tout d'abord les espèces microbiennes identifiées dans le lait ; elle se focalise en suite sur l'état de connaissances sur l'espèce *Staphylococcus aureus* et les différents facteurs de croissance et la troisième partie comporte les sources de contamination.
- une deuxième partie de travaux de terrain concernera les germes témoins de défaut d'hygiène : flore totale, coliformes totaux, coliformes fécaux ainsi que les germes de contamination pathogènes, *Staphylococcus aureus*.



***RESULTATS ET  
DISCUSSION***

**4. Résultats et discussion**

**4.1. Germes indicateurs de la qualité d'hygiène**

Trois types de germes indicateurs de la qualité d'hygiène (germes aérobies mésophiles et coliformestotaux et fécaux) ont été recherché sur 6 échantillons provenant de 6 fermes différentes de la région de Remila et pratiquant de la traite traditionnelle.

Les germes ont été dénombrés à l'aide d'un compteur de colonies et le nombre de bactéries a été estimé par millilitre (ml) d'échantillon analysé. Les résultats sont représentés dans le tableau 10.

**Tableau 14 : résultats des dénombrements des germes indicateurs de la qualité d'hygiène.**

	<b>Flore aérobie mésophile totale (UFC/ml)</b>	<b>Coliformes totaux (UFC/ml)</b>	<b>Coliformes fécaux (UFC/ml)</b>
<b>Echantillon 1</b>	22 x10 <sup>2</sup>	/	/
<b>Echantillon 2</b>	25 x10 <sup>4</sup>	52x 10 <sup>3</sup>	/
<b>Echantillon 3</b>	41 x10 <sup>2</sup>	43 x10 <sup>3</sup>	/
<b>Echantillon 4</b>	13 x10 <sup>4</sup>	75 x10 <sup>2</sup>	23 x10 <sup>3</sup>
<b>Echantillon 5</b>	15 x10 <sup>2</sup>	52 x10 <sup>2</sup>	3 x10 <sup>2</sup>
<b>Echantillon 6</b>	14 x10 <sup>3</sup>	32 x10 <sup>2</sup>	50 x10 <sup>3</sup>

Ce qui concerne les bactéries aérobies mésophiles, appelée aussi « flore aérobie mésophile revivifiable » et considérée comme indicateur général de qualité globale du produit, elle révèle les conditions de production plus particulièrement les pratiques hygiéniques lors de la traite (**Yabrilet al., 2013**).

Les laits crus examinés contiennent une charge variable de la FMAT, située entre 15x10<sup>2</sup> et 25 x10<sup>4</sup> UFC/ml. En effet 33.33 % de nos échantillons dépassent les normes (10<sup>5</sup> UFC/ml pour le lait cru) ce qui signifie une contamination importante alors que 66.66 % satisfait à cette norme.

Ces niveaux de contamination sont étroitement dépendants des conditions d'hygiène générale et de l'état sanitaire de l'animal. Le lait prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain, contient peu de microorganismes et est protégé

contre les bactéries par des substances inhibitrices de très courte durée d'action (**Aggad et al., 2009**).

La recherche de microorganismes indicateurs de la contamination d'origine fécale permet de juger l'état hygiénique d'un produit. Les coliformes sont des microorganismes d'altération, même à des niveaux faibles, ils témoigneraient de conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours du transport (**Labioui et al., 2009**).

L'analyse a révélé une contamination de 80% des échantillons avec les coliformes totaux avec des valeurs allant de  $32 \times 10^2$  à  $52 \times 10^3$  et une contamination de 50% des échantillons avec les coliformes fécaux avec des valeurs allant de  $3 \times 10^2$  à  $50 \times 10^3$ .

Un pourcentage de 16.66% des laits analysés ont moins de 100 germes /ml en coliformes totaux contre 33.33% qui sont très fortement contaminés (supérieur à  $10^4$  germes/ml). Pour les coliformes fécaux, plus de 66.66% des laits ont une charge inférieure à  $10^3$  germes/ml, le reste (33.33 %) accuse une contamination élevée (supérieure à  $10^3$ ) qui est de nature à le rendre non-conforme pour la consommation à l'état cru. En effet, ce type de lait, chargé en coliformes, est susceptible de provoquer des infections gastro-intestinales chez les sujets qui viendraient à le consommer sous cette forme (**Siboukeur, 2007**).

Ainsi, la flore fécale représentée par les coliformes totaux et fécaux était présente à des taux plutôt élevés. Ceci est dû au non-respect des bonnes pratiques hygiéniques lors de la traite. La présence de bactéries coliformes n'indique pas nécessairement une contamination fécale directe du lait mais plus précisément un indice de mauvaises conditions hygiénique et sanitaire au moment de la traite et pendant les manipulations ultérieures (**Yabriet et al., 2013**).

Leur abondance dans le lait cru reflète une non-observance des dispositions sanitaires requises au cours de la traite et de la récolte du lait, une contamination au cours du transport ou d'un stockage défectueux. Les principaux vecteurs sont la peau des trayons, souillée par les fèces et le matériel de traite mal conçu et donc se nettoyant mal. En dehors de la source fécale, la contamination du lait peut être due à l'excrétion mammaire en cas d'infection à *E. coli* ou à une contamination de l'eau utilisée pour les différentes opérations de nettoyage.

Les laits produits dans de bonnes conditions d'hygiène et correctement réfrigérés contiennent généralement moins de 50 coliformes/ml.

Un lavage soigneux des trayons avant la traite, des équipements adaptés, correctement nettoyés et entretenus et un stockage du lait à 4°C à la ferme permettent d'obtenir des niveaux de contamination acceptables. Aux USA, le comptage des coliformes totaux variait entre 0 à 205/ml (Aggad et al., 2009).

### 4.2. Recherche des staphylocoques

La flore de contamination, isolée sur le milieu Chapman qui inhibe la croissance de nombreuses bactéries autres que *Micrococcus* et *Staphylococcus*, confirme bien que les conditions de la traite ne sont pas satisfaisantes.

#### 4.2.1. Aspects macroscopique et microscopique des souches obtenues et dénombrement

Sur milieu chapman, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleur blanche. Ces colonies sont arrondies à bord régulier de 1 à 2 mm de diamètre après 24 h d'incubation à 37°C (Chaalal, 2013).

L'observation macroscopique montre des colonies de couleur blanche bombée à contour irrégulier avec ou sans fermentation du mannitol (annexe 03), la coloration différentielle de Gram a révélé la présence de cocci colorés en violet donc ils sont Gram positif. Tous ces cocci sont disposés en diplocoques isolés ou regroupés en amas ou en grappe.

La totalité des souches de *Staphylococcus* obtenues répondent aux caractéristiques macroscopiques et microscopiques du genre *Staphylococcus*.

Le résultat de détection de *Staphylococcus* dans notre étude montre la présence de ce germe dans tous les échantillons avec des concentrations élevées, entre  $7.3 \times 10^2$  et  $43 \times 10^4$  (Tableau 15).

**Tableau 15 : Dénombrement des *Staphylococcus* sur le milieu de Chapman après incubation à 37°C pendant 48 H**

Echantillons	Concentration (UFC/ml)
<b>Echantillon 1</b>	7.3 x10 <sup>2</sup>
<b>Echantillon 2</b>	14 x10 <sup>2</sup>
<b>Echantillon 3</b>	43 x10 <sup>4</sup>
<b>Echantillon 4</b>	79 x10 <sup>2</sup>
<b>Echantillon 5</b>	36 x10 <sup>2</sup>
<b>Echantillon 6</b>	18 x10 <sup>3</sup>

**4.2.2. Etude des caractères biochimiques**

A partir de ces caractères biochimiques, nous avons pu déterminer approximativement l'appartenance de la majorité des souches obtenus à l'espèce *Staphylococcus aureus*. Cependant un test de confirmation, recherche de la coagulase, doit être réalisé.

**Tableau 16 : caractères biochimiques des souches obtenues**

Caractère biochimique	Catalase	Oxydase	TSI					Mannitol mobilité		Clurck et Lubs		Indole	Nitrate réductase	TDA
			Glu	Lac	Sac	CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> S	Man	Mob	VP	RM			
Souche A	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
Souche B	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Souche C	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+

+ : réaction positive

- : réaction négative

Ces résultats mettent en évidence un risque potentiel majeur pour les consommateurs dû à la production d'entérotoxines. Ces toxines, en l'état dans les aliments, sont à l'origine d'intoxications alimentaires provoquant notamment des vomissements incoercibles et des douleurs abdominales (**De Matos, 2013**).

Ces germes pathogènes étant d'origine humaine, suggère que les contaminations du lait peuvent provenir des trayeurs ou autres manipulateurs du lait sur les fermes (**N'Goran et al., 2013**). Egalement, les animaux représentent la source majoritaire d'introduction dans le lait par les mammites cliniques et subcliniques, et par le portage cutané (notamment lors de lésions) sur les mamelles (**De Matos, 2013**).

La source de contamination de nos échantillons est encore non connue. Cependant une étude doit être réalisée au niveau des fermes pour déterminer les conditions d'hygiène ainsi que la présence d'éventuelle infection mammaire.

**Chaalal (2013)**, a montré que la contamination par l'environnement due notamment au manque d'hygiène dans les bâtiments d'élevage et au cours de la traite, sont autant des facteurs expliquant la fréquence élevée de cette bactérie dans les échantillons de lait cru (**Aggad et al., 2009**).

D'après **Hamiroune et al. (2014)**, ce taux de contamination avait pour cause principale de mauvaises conditions d'hygiène (l'étable, la traite, l'hygiène du personnel responsable de la traite, les différentes manipulations et agressions physiques sur le lait, d'où la diffusion des staphylocoques de l'environnement vers le lait). En effet, il a été constaté dans les exploitations visitées dans le cadre de cette étude que la majorité des éleveurs :

- jetaient directement les premiers jets sur le sol,
- utilisaient un même récipient d'eau pour le lavage des mamelles de toutes les vaches,
- se servaient de la même lingette pour toutes les vaches,
- ne procédaient pas au trempage des trayons après la traite.

Ainsi, la désinfection des trayons après la traite permet de réduire de 50 % à 95 % la fréquence des nouvelles infections intramammaires dues aux staphylocoques (**Hamiroune et al., 2014**).

Il se trouve que le *S. aureus* est la bactérie la plus fréquemment isolées à partir de mammite bovine dans le monde entier. Elle est responsable d'environ 40% de tous les cas de mammites bovines en Algérie ; ou la contamination du lait cru par des mamelles infectées est évidente et contribue à la mauvaise qualité microbiologique du lait (Chaalal, 2013).

Les quantités de *S. aureus* excrétées dans le lait des quartiers infectés peuvent être considérables, de  $10^3$  à  $10^5$  bactéries/ml en moyenne, mais pouvant atteindre  $10^6$  bactéries/ml en cas d'infection sub-clinique, et jusqu'à  $10^8$  bactéries/ml en cas d'infection clinique. Il s'est avéré que lorsque ce niveau dépasse régulièrement  $10^3$  bactéries/ml, en moyenne plus de 25 % des vaches sont infectées (Aggad et al., 2009).

#### 4.2.3. Sensibilité aux antibiotiques

A l'exception de la kanamycine ou les souches présentes une résistance intermédiaire, les souches obtenues dans notre étude montrent une résistance complète à 83.33% des antibiotiques testés : oxaciline, erytromycine, néomycine, tétracycline et pénicilline (tab.13, annexe 5). Ainsi, les souches de *S.aureus* sont connues pour être fréquemment résistantes aux antimicrobiens à cause de leur capacité à produire une barrière exopolysaccharides(Chaalal, 2013).

**Tableau 13 : diamètres des zones d'inhibition des différents antibiotiques testés**

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)					
Abréviations	Antibiotiques	Donc dans le disque	Souche A	Souche B	Souche C
<b>OX</b>	Oxaciline	5 ug	0	0	0
<b>E</b>	Erytromycine	15 ug	0	0	0
<b>K</b>	Kanamycine	30 ug	15	0	15
<b>N</b>	Néomycine	30 ug	6	0	12
<b>TE</b>	Tétracycline	30 ug	2	0	10
<b>P</b>	Pénicilline	10 ug	0	0	0

L'utilisation parentérale d'antibiotiques pose de nombreux problèmes en termes de résistances bactériennes aux antibiotiques car diffusant dans tout l'organisme, ils se retrouvent en contact avec les flores commensales et des résistances peuvent apparaître. Ainsi, la résistance aux antibiotiques utilisés en espèce caprine avait augmenté en 10 ans pour des souches de *S. aureus* isolées dans le lait de chèvres, en France (**De matos, 2013**).

La prévalence élevée et la multirésistance des *S. aureus* est devenu remarquablement répandue dans les aliments. Cela nécessite la mise en œuvre d'une stratégie active, efficace ou la sécurité microbiologique des aliments doit être garantie afin d'éviter la propagation de résistance aux antimicrobiens par ces microorganismes.

Un autre problème majeur, la résistance des isolats aux antibiotiques pourrait être transmise à l'Homme par la consommation de produits alimentaires contenant ces bactéries multirésistantes et que l'utilisation d'antibiotiques comme promoteurs de croissance dans l'élevage, en particulier de ceux qui sont couramment utilisés pour les soins à la fois humaine et animale, doivent être évités. Alors, il est nécessaire d'établir un contrôle actif contre les résistances aux antibiotiques dans les aliments afin de détecter toute augmentation et/ou émergence de nouvelles résistances aux antibiotiques qui peuvent être transférées à d'autres bactéries (**Chaalal, 2013**).

Des solutions alternatives ont ainsi été développées, tant pour la prévention que pour le traitement (**Bouchard, 2013**).

A decorative frame resembling a scroll or a banner, with rounded corners and a slight shadow effect. The text is centered within this frame.

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## 2. Synthèse bibliographique

### 2.1. Le lait

#### 2.1.1. Définitions

Le lait : c'est en 1909 que le congrès international de la répression des France à défini le lait : » le lait est le produit intégrale de la trait totale et ininterrompue d'un femelle laitière bien portante bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (premier lait de la femelle) » (**Joffin, 2010**).

Le *Codex Alimentarius* en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (**Bachtarzi, 2012**).

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères après la naissance du jeune. C'est un liquide de composition complexe, blanc et opaque, d'une saveur douce, d'une réaction ionique (pH) voisin de la neutralité. La fonction naturelle du lait est d'être un aliment exclusif des jeunes mammifères pendant la période critique de leur existence, après la naissance, alors que la croissance est rapide et qu'il ne peut lui être substitué d'autres aliments. La grande complexité de la composition du lait répond à cette fonction (**Conte, 2008**).

Le petit Larousse le définit tout simplement comme le « liquide produit par les femelles des mammifères, aliment complet qui assure la subsistance du jeune au début de vie grâce à sa richesse en graisse émulsionnées, en protides, en lactose, en vitamine et en sels minéraux » (**Grenon et al., 2004**).

Selon le journal officiel de la République Démocratique Algérienne, la dénomination « LAIT » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (**Mekroud, 2011**).

#### 2.1.2. Classification des laits « liquides »

Selon ALAIS on peut classer les laits liquides en trois groupes :

Le premier groupe : le lait cru ;

Le second groupe: les laits traités par la chaleur, ce sont les laits pasteurisés et stérilisés;

Le troisième groupe : les laits transformés, ce sont les laits aromatisés, concentrés, acidifiés ... (**Codou, 1997**).

### 2.2. Le lait cru

#### 2.2.1. Définition

La définition réglementaire du lait cru est donnée par l'article 2 de la directive CEE 92/46, il s'agit d'un lait non chauffé au-delà de 40°C et n'ayant subi aucun traitement d'effet équivalent (**Kouame, 2013**) notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes (**Bachtarzi, 2012**). Le lait est un liquide opaque de couleur blanche, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en  $\beta$ -carotène de sa matière grasse. Son odeur est discrète et son goût légèrement sucré (**Kouame, 2013**). Le lait cru est du lait frais non soumis à aucun autre traitement d'assainissement ou de conservation autre que la réfrigération (**José, 2014**).

Le règlement européen 853/2004 donne une définition du lait cru : «Lait cru: le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'animaux d'élevage et non chauffé à plus de 40 °C, ni soumis à un traitement d'effet équivalent » Le lait cru peut être écrémé ou pas. Il peut être utilisé pour la fabrication de produits au lait cru comme du beurre et des fromages.

Le lait cru se conserve réfrigéré. La température légale de conservation du lait cru est fixée à 6°C en Europe (**Fleurette, 2003**).

#### 2.2.2. Les caractéristiques physico-chimiques du lait cru de vache

La composition et les caractéristiques physico-chimiques du lait varient sensiblement selon les espèces animales, et même selon les races. Ces caractéristiques varient également au cours de la période de lactation, de la traite ou de l'allaitement. Elles sont aussi tributaires de la nature de l'alimentation des animaux (**Ouadghiri, 2009**). Le lait de vache est un lait caséineux (**Bachtarzi, 2012**).

##### 2.2.2.1. Caractéristiques organoleptiques

- **Couleur :**

Le lait est un liquide de coloration blanc-jaunâtre. Cette coloration résulte du mélange de micelles de phosphocarséinate de calcium, de globules gras et de deux pigments : le carotène contenu dans la phase grasse et responsable de la coloration jaune (**Codou, 1997**).

- **Odeur :**

L'odeur est caractéristique du lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (**Ghaoues, 2011**).

- **Saveur :**

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est en parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**Ghaoues, 2011**).

- **Viscosité :**

L'augmentation de la viscosité du lait est surtout fonction de la matière grasse à l'état globulaire des macromolécules protéiques et à un moindre degré des substances en solution. Ce qui fait que la viscosité du lait est très supérieure à celle de l'eau. Le lactosérum moins visqueux que le lait écrémé et celui-ci moins que le lait entier.

La viscosité dépend de certains facteurs :

- ✓ L'espèce animale : le lait des monogastriques est plus visqueux que celui des polygastriques ;
- ✓ La température : la viscosité diminue avec l'élévation de la température;
- ✓ La pression : dans un liquide newtonien comme le lait normal, la vitesse d'écoulement est proportionnelle à la pression, contrairement à la crème épaisse et le lait concentré qui sont des substances non newtonnières ;
- ✓ Le pH : la viscosité du lait augmente lorsque le pH descend au dessus de 6,0 excepté le lactosérum et s'élève jusqu'à 12,0 (**Codou, 1997**).

### 2.2.2.2. Caractéristiques physique

- **La densité du lait :**

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (**Bachtarzi, 2012**).

Deux facteurs de variation opposés déterminent la densité: la concentration des éléments dissous et en suspension (solide non gras) et la proportion de matière grasse (**Codou, 1997**).

- **L'acidité de titration ou acidité Dornic :**

L'acidité titrable du lait doit être comprise entre 15 et 18°D et renseigne sur l'acidité globale qui repose sur l'ensemble des constituants acides et sur la teneur en matière sèche. La densité correspond au rapport de la masse d'un volume de lait à une température donnée sur celle du même volume d'eau à la même température. Celle du lait de vache est généralement comprise entre 1,028 et 1,033 (**Kouame, 2013**). L'acidité de titration globale mesure à la fois le pH initial du lait normal et l'acidité développée après la traite par la fermentation lactique qui diminue le pH jusqu'à 4 ou 5 (**Dieng, 2001**).

- **Le pH du lait ou acidité potentielle :**

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium ( $H_3O^+$ ) et donc une diminution du pH, car :  $pH = \log 1/[H_3O^+]$  (**Bachtarzi, 2012**).

L'acidité s'apprécie par le pH qui correspond, à la concentration en ions hydronium. Selon ALAIS, cette acidité faible est liée à la présence d'ions phosphates et de caséines (**Dieng, 2001**).

- **Point de congélation du lait :**

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait. Sa valeur moyenne se situe entre - 0.54 et - 0.55°C, celle-ci est également la température de congélation du sérum sanguin (Ghaoues, 2011).

- **Point d'ébullition :**

Le point d'ébullition est défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100.5°C (Ghaoues, 2011).

**Tableau 01: Constantes physiques du lait de vache (Alais, 1984 ; Manuel suisse des denrées alimentaires, 2004)**

Critères	Moyennes	Valeurs extrêmes
Masse volumique à 20°C [kg/m <sup>3</sup> ]	1031	1028-1033
Point de congélation (°C)	-0.525	-0.52-0.55
pH à 20°C	6.6	6.6-6.8

- **Activité de l'eau :**

L'eau joue un rôle très important dans le lait. Elle conditionne l'état physique des autres constituants. Elle favorise le développement microbien, lorsqu'elle est disponible. L'eau disponible dans les aliments est l'eau libre. Cette disponibilité est exprimée par l'activité de l'eau (Aw). La plupart des bactéries se développent bien pour des Aw comprises entre 0,995 et 0,980. Les germes pathogènes sont inhibés par des valeurs inférieures à 0,90 sauf pour *Staphylococcus aureus* (Dieng, 2001).

### **2.2.2.3. Caractéristiques chimiques**

Le lait constitue un milieu aqueux caractérisé par trois phases: une émulsion de globules gras dans un liquide qui est lui même une suspension colloïdale de matières protéiques dans un sérum.

#### ➤ **Composants chimiques majeurs**

- **L'eau du lait :**

L'eau, principal constituant du lait, permet la dispersion des constituants de la matière sèche (**Turcot, 1999**). En proportion, la présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides (**Ghaoue, 2011**). L'eau du lait provient du sang par filtration au niveau de la glande mammaire (**Codou, 1997**).

- **Glucides du lait**

La fraction glucidique du lait est essentiellement représentée par le lactose dont la teneur est voisine de 46 g/litre (**Bellancille, 2011**). Les sucres du lait sont constitués en majorité de lactose (48g/l dans le lait de vache) (**José, 2014**). Le lactose joue un rôle important dans les produits laitiers en tant que substrat de fermentation pour les bactéries lactiques qui l'hydrolysent en glucose et galactose, puis transforment ces hexoses en acide lactique. Le galactose subit d'abord une isomérisation en glucose 1-phosphate (**Codou, 1997**). Le lactose est le principal constituant de la matière sèche du lait. Le lactose est formé d'une molécule de galactose et d'une molécule de glucose (**Turcot, 1999**).

- **Matière azotée du lait**

Au moment de la traite, le lait de vache contient en moyenne 32 g/L de matière azotée. Cette dernière est constituée d'une fraction essentiellement protéique (95%) (**Bellancille, 2011**). Ces protéines sont présentes sous deux phases: une phase micellaire

insoluble (80 %) instable constituée essentiellement de caséines donnant au lait son aspect blanc opaque et une phase soluble (20%) stable constituée des protéines sériques stables (**Achour, 2006**). Le reste étant composé d'urée, de créatine, de créatinine, d'ammoniaque, d'acides aminés libres, de vitamines et de nucléotides (**Bellancille, 2011**).

- **Matière grasse du lait**

Le lait de vache, comme le lait de femme, contient environ 35 grammes de lipides par litre (**Codou, 1997**). La matière grasse du lait se présente sous la forme d'une émulsion de globules gras d'un diamètre moyen de 0,2 à 15 µm (**Bellancille, 2011**). La majorité de la matière grasse du lait se trouve sous forme de triglycérides formés par union de trois acides gras au glycérol. La matière grasse du lait contient surtout des acides gras courts (moins de 8 atomes de carbone) qui proviennent en majorité de l'acide acétique produit dans le rumen. L'abondance d'acides gras courts est une caractéristique unique à la matière grasse du lait. De plus, la matière grasse du lait contient aussi des acides gras longs, la plupart étant insaturés comme acide oléique, les acides linoléiques et acide linoléique (**Achour, 2006**).

- **Composants chimiques mineurs**

- **Les minéraux**

La richesse du lait en différents minéraux comme le calcium (1,2 g/L), le magnésium (108 mg/L), le zinc (3,9 mg/L) lui permet d'être, en fait, un aliment très adapté à la croissance des jeunes et des adolescents (**Bellancille, 2011**). Un demi-litre de lait couvre 75% de la ration calcique journalière d'un adulte. Le lait contient les 22 minéraux essentiels au régime alimentaire humain (**José, 2014**). Certains minéraux, comme le sodium, le potassium et le chlore, se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions. D'autres minéraux peuvent exister dans les deux fractions :

- La fraction soluble, où ces minéraux existent en partie sous forme libre (calcium et magnésium ionisés), saline (phosphates et citrates), ou complexe (esters phosphoriques et phospholipides).

- 🇳🇵 La fraction colloïdale où les minéraux (calcium, phosphore, soufre et magnésium) sont associés ou liés à la caséine au sein des micelles (**Achour, 2006**).

**Tableau 02 : Teneur en minéraux dans le lait de vache (Achour, 2006).**

<b>Eléments</b>	<b>Teneur (mg/kg)</b>
<b>Sodium</b>	480
<b>Potassium</b>	1570
<b>Calcium</b>	1200
<b>Magnésium</b>	120
<b>Phosphore</b>	920

- **Les vitamines**

Le lait contient également plusieurs vitamines du groupe B qui interviennent dans le métabolisme énergétique. C'est aussi une excellente source de vitamine B<sub>12</sub> qui potentialise l'acide folique, qui à son tour, active la synthèse des protéines nécessaires à la croissance cellulaire. La teneur du lait de vache en différents nutriments et leurs effets bénéfiques sur la santé sont récapitulés dans le tableau III (**Bellancille, 2011**). Ainsi, les vitamines liposolubles (A, D, E) se retrouvent intégralement dans la crème et le beurre, alors que les hydrosolubles (B et C) restent dans, le lait écrémé. De nombreux facteurs peuvent faire varier la teneur du lait en vitamines. Il s'agit de la période de lactation, de l'alimentation et des, traitements subis par le lait (**Dieng, 2001**).

Le lait contient un grand nombre de vitamines :

- Des vitamines liposolubles (dissoutes dans la matière grasse) : A, D, E, K ;
- Des vitamines hydrosolubles (dissoutes dans la fraction non grasse du lait) : thiamine (B1), riboflavine (B2), niacine (B3), acide pantothénique (B5), pyridoxine (B6), biotine (B7), acide folique (B9), cobalamine (B12) (**José, 2014**).

Tableau 03 : Concentrations des vitamines du lait de vache (Achour, 2006).

Vitamines	Teneur (mg/l)
<b><u>Vitamines hydrosolubles</u></b>	
<b>B (thiamine)</b>	0.42
<b>B2 (riboflavine)</b>	1.72
<b>B6 (pyridoxine)</b>	0.48
<b>B12 (cobalamine)</b>	0.0045
<b>Acide pantothénique</b>	3.6
<b>Inositol</b>	160
<b>Biotine</b>	0.036
<b>Choline</b>	170
<b>C (acide ascorbique)</b>	8
<b><u>Vitamines liposolubles</u></b>	
<b>A</b>	0.37
<b>B-carotènes</b>	0.21
<b>D (cholécalférol)</b>	0.0008
<b>E (tocophérol)</b>	1.1
<b>K</b>	0.03

- **Les enzymes**

Le lait cru contient deux types d'enzymes : les enzymes présentes dans le lait et celles liées à la flore microbienne du lait. En tout, on dénombre une vingtaine d'enzymes qui ont des fonctions diverses : hydrolases, catalase, oxydase ...

L'activité biologique de plusieurs peptides a été identifiée. Ils présentent des pouvoirs hypotenseurs, une activité antithrombotique, des propriétés immunoprotectrices, de régulation du système nerveux, anticancérigènes, de contrôle de l'obésité (José, 2014).

- **Les oligo-éléments**

Les concentrations de ces éléments varient fortement dans le lait de vache mais, au-delà de certaines limites, elles sont l'indice d'une contamination du lait (tableau 4) (Achour, 2006).

**Tableau 04 : Teneurs en oligo-éléments dans le lait de vache (Achour, 2006).**

Oligo-éléments	Teneurs (µg/l)
Aluminium	600-1000
Arsenic	<50
Bore	150-300
Brome	150
Chrome	15-30
Cuivre	20-40
Etain	100-1000
Fer	200-500
Fluore	70-200
Iode	10-300
Manganèse	10-30
Molybdène	70
Plomb	2-10
Sélénium	10-30
Silicium	1000-6000

### 2.3. Qualité de lait

En générale, on définit la qualité d'un produit comme étant l'ensemble des caractéristiques lui permettant de satisfaire les besoins exprimés par les consommateurs. La qualité du lait et des produits laitiers qui en dérivent est un concept comportant plusieurs facettes. Celle dont nous entendons le plus souvent parler est sans contredit la qualité microbiologiques qui est en lien direct avec l'innocuité du lait ce qui n'est pas surprenant puisqu'elle a généralement un impact direct et à très court terme sur la santé des consommateurs (**Grenon *et al.*, 2004**).

La qualité du lait a une résonance bien particulière et différente selon qu'on s'adresse à un groupe de producteurs, de transformateurs ou de consommateurs pour bien saisir toutes les nuances qu'elle comporte, il faut analyser sous plusieurs angles (**tab. 06**) (**Grenon *et al.*, 2004**).

Tableau 06 : diverses facettes de la qualité de lait (Grenon *et al.*, 2004).

<b>Aspects physiques</b>	Point de congélation, masse volumique, couleur, séparation de gras, chaleur spécifique, viscosité, etc.
<b>Aspects chimiques</b>	pH, antibiotiques, composition en protéines, gras, lactose, minéraux, etc.
<b>Aspects microbiologiques</b>	Bactéries, cellules somatiques, virus, etc.
<b>Propriétés de conservation</b>	Flore microbienne, enzymes, oxygène, etc.
<b>Propriétés fonctionnelles</b>	Stabilité à la chaleur, coagulation présure, foisonnement, etc.
<b>Propriétés bio-fonctionnelles</b>	Valeur nutritive (teneur en vitamines, minéraux, etc.), fermentations et hydrolyses enzymatiques (lactose hydrolysés, etc).

### 2.3.1. Les cellules somatiques du lait

Comme tout liquide biologique, le lait même normal, contient des cellules somatiques provenant de la mamelle ou du sang (**Dieng, 2001**). Elles sont, en effet, essentiellement constituées de globules blancs (macrophages, polynucléaires neutrophiles et lymphocytes) de la circulation sanguine et de cellules épithéliales (Les cellules épithéliales sont des cellules qui tapissent normalement l'intérieur du pis et qui se sont détachées des alvéoles) (**Kouame, 2013**). Provenant de la desquamation des épithéliums des canaux galactophores, des acini et lors de l'érosion du tissu glandulaire. Les différentes cellules retrouvées dans le lait évoluent en nombre et en proportion suivant le stade physiologique de l'animal. En l'absence d'infection, les macrophages constituent le type cellulaire dominant et ce n'est qu'en cas d'infection du quartier que les polynucléaires neutrophiles affluent dans le lait où ils deviennent les plus nombreux. Quant aux autres types cellulaires, ils sont peu représentés, notamment les lymphocytes et les cellules épithéliales qui sont très peu nombreuses dans le lait des quartiers non infectés (tableau 6) (**Gabli, 2005**).

Même en l'absence d'infection intra-mammaire, plus de 85% des cellules somatiques du lait sont des leucocytes, alors que cette proportion passe à plus de 99% si le quartier doit combattre une infection. Le nombre de cellules par ml de lait varie

normalement entre 5000 et 10 millions environ, pour un échantillon composite du lait des 4 quartiers d'une vache (Kouame, 2013).

**Tableau 05 : Répartition (en %) des différents types cellulaires dans le lait de vache en l'absence et en présence d'infection mammaire (Gabli, 2005).**

Type cellulaire	Mamelle	
	Saine	infectée
<b>Polynucléaires neutrophiles</b>	0-11	50-90
<b>Macrophages</b>	66-88	0.2-2
<b>Lymphocytes</b>	10-27	2.8-5.1

La concentration cellulaire individuelle (CCS) correspond au nombre de cellules somatiques présentes dans un millilitre de lait produit par vache donnée. Sur une mamelle saine aucun signe extérieur d'état pathologique n'est détecté et le lait est exempt d'organismes pathogènes. Le seuil limite permettant de différencier une vache non infectée d'une vache infectée est généralement fixé à 200 000 cellules/ml, la grande majorité des vaches saines auront un CSS en-dessous de 100000 cellules/ml. Dans le cas d'une mammite qui est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers quel qu'en soit l'origine, la gravité et le mode évolutif, le nombre de cellules somatiques augmente. Chez les vaches laitières, les mammites à *S. aureus* s'expriment le plus souvent par une élévation du taux de cellules somatiques dans le lait, principalement liée à un afflux des neutrophiles. Dans le cas d'infections de la mamelle, le nombre de germes augmente peu ainsi que le nombre de cellules somatiques sauf dans le cas de mammites cliniques (Kouame, 2013).

### 2.3.2. Les cellules microbiennes du lait de vache

#### 2.3.2.1. Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite). La flore originelle des produits laitiers 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. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (**Bachtarzi, 2012**).

**Tableau 07 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).**

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus</i> ou <i>lactobacillus</i>	< 10
Gram négatif	< 10

- **Bactéries lactiques :**

Elle fait partie de la flore normale du lait et se caractérise par son aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc, abaissement du pH. Parmi les bactéries lactiques ayant comme habitat le lait, nous avons le genre *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Aerococcus* **Conte, 2008** .

- **Genre *Streptococcus* (*Lactococcus*) :**

Le genre *Lactococcus* joue un rôle de conservateur dans le lait. En effet, des espèces comme *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* produisent respectivement la « nisine » et la « diplococcine », antibiotiques inhibant les bactéries non lactiques au profit des bactéries lactiques d'où leur intérêt technologique. Il leur est également reconnu le rôle d'agent initiateur de l'acidification en laiterie. Ce rôle est surtout reconnu

à *Streptococcus thermophilus* en laiterie industrielle mais également à *Streptococcus lactis* pour le caillage naturel (Dieng, 2001).

### 2.3.2.2. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Bachtarzi, 2012).

**Tableau 08 : Germes contaminant le lait cru (Jakob et al., 2009).**

Sources de contamination		Psychrotrophes
<b>Germes Gram positifs</b>		
Germes sporulés aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
Staphylocoques	Peau, muqueuses	Non
Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
<b>Germes Gram négatifs</b>		
Colibactéries ( <i>E. coli</i> )	Fèces, eaux usées	Non
Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
<i>Pseudomonas</i>	Eau, sol (très répandu)	Non
<i>Alcaligenes, Flavobacterium, etc</i>	Eau, sol (très répandu)	Non
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	Non

#### **2.3.2.2.1. Flore d'altération**

Ce sont des bactéries et champignons indésirables apportés par la contamination. Cette flore regroupe les bactéries thermorésistantes, les coliformes, les psychrotrophes, les levures et moisissures (**Dieng, 2001**).

- **Bactéries coliformes :**

Presque toujours présentes dans le lait cru, elles ont une grande importance en laiterie. Du point de vue technologique, certaines assurent la fermentation du lactose, produisant, outre des acides, des gaz (hydrogène et gaz carbonique) (**Fleurette, 2003**).

Un grand nombre d'entre elles étant les hôtes habituels de l'intestin des mammifères, leur présence dans le lait tout comme dans l'eau, est l'indice d'une contamination fécale. Cet indice est mis à profit dans l'examen de la qualité des produits (**Dieng, 2001**).

Certains coliformes sont lactiques et fermentent le lactose sur un mode hétérofermentaire. Ils peuvent se retrouver dans tous les types de lait. Ce sont des germes qui vivent dans le tube digestif de l'Homme et des animaux. Leur présence est un signe de contamination lors de la traite et pendant les manipulations et transvasements multiples que subissent les produits avant la commercialisation (**Chethouna, 2011**).

- **Les psychrotrophes :**

Le terme « psychrotrophe » désigne des micro-organismes qui ont la faculté de se développer à une température inférieure à +7°C, indépendamment de leur température de croissance plus élevée. En général dans le lait; c'est le genre *Pseudomonas* qui domine. Il est fortement psychrotrophe et il se multiplie par 100 en 48 heures à +4°C. Ces germes produisent des lipases et des protéases thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables dans les produits laitiers: goût amer, rance, etc. ... (**Dieng, 2001**).

- **Les levures :**

Les levures supportent des pH de 3 à 8 avec un optimum de 4,5 à 6, ce qui explique leur présence dans le lait cru. Elles entraînent des altérations rendant le produit final répugnant: aspect trouble, odeurs ou goûts anormaux, gonflement des produits ou de leur emballage (**Dieng, 2001**).

#### 2.3.2.2.2. Flore pathogène

La présence de microorganismes pathogène dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'Homme (**Gouttaya et al., 2013**).

Différentes espèces bactériennes sont capables de pénétrer dans la mamelle par le canal du trayon et sont excrétées avec le lait (**Fleurette, 2003**). Les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yarcinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei* et certaines moisissures (**Gouttaya et al., 2013**).

**Tableau 09 : Les principaux germes pathogènes du lait (Fleurette, 2003).**

Espèce	Risques
<i>E. coli</i>	Graves toxi-infections Accidents de fabrication : défaut d'respect, gonflement, défaut de gout (acide, aigre, piquant).
<i>S. aureus</i>	Toxi-infection de gravité variable redoutable chez l'enfant (syndrome gastro-intestinal).
<i>Listeria monocytogenes</i>	La listériose (méningites, encéphalites et avortement).
<i>Salmonella</i>	Les salmonelloses (fièvre typhoïde et paratyphoïde, des gastro-entérites et toxi-infections alimentaires collectives).

## 2.4. L'espèce *Staphylococcus aureus*

### 2.4.1. Historique

Les premières descriptions des Staphylocoques isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871 mais ce n'est pas que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom de la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur, en 1880, en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine. Plus tard, en 1883 Ogston crée le nom de <Staphylocoque> pour décrire ces grains kokkos groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin *Staphylos*. Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus*. En 1884 en Allemagne Rosenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en obtenant des cultures pures de ces bactéries sur milieu solide, il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies blanches on durées (Chaalal, 2013).

### 2.4.2. Habitat

*S. aureus* est une bactérie omniprésente chez l'Homme, les animaux ainsi que dans l'aliment (El Haddad, 2010).

*S. aureus* communément appelé le staphylocoque doré, est commensal de la peau et des muqueuses de l'Homme et des animaux à sang chaud. Par sa présence quasi-permanente au contact de l'hôte, *S. aureus* est donc aux premières loges pour provoquer des infections opportunistes allant de superficielles (par exemple, impetigo, furoncle) à profondes (ostéomyélite, endocardite) ou généralisées (septicémie) (Damien, 2013).

Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière de colonisation empêchant l'implantation de bactéries de la flore transitoire.

Cependant l'habitat préférentiel de *S. aureus* chez l'Homme est la muqueuse nasale, il existe 3 statuts de portage nasale de *S. aureus* : environ 20% de la population est porteuse de manière permanente porteurs persistants, environ 60% sont porteurs de manière intermittente, avec des souches qui varient au cours de temps et 20% ne sont pratiquement jamais porteurs.

Ils sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières l'air et l'eau (Chaalal, 2013). Ils sont fréquemment retrouvés dans le lait et parfois en nombre important.

L'origine de la contamination est la mamelle (**Dieng, 2001**) et des trayons et a, donc, toute la possibilité de coloniser des blessures de trayons et l'intérieur de la mamelle. On qualifie les staphylocoques de germes pathogènes à réservoir mammaire puisque les quartiers infectés, les plaies, les gerçures sont les principaux réservoirs et les germes sont transférés dans les trayons sains à l'occasion de la traite (**Bachtarzi, 2012**).

Les souches de *S. aureus* persistent une à deux années dans un culot de gélatine et dans des ampoules scellées pendant 17 ans en macération de viande de gélatine. Aujourd'hui, l'emploi de la lyophilisation fournit le meilleur moyen pour conserver des staphylocoques au laboratoire (comme par ailleurs les autres germes) (**Aouati, 2009**).

### 2.4.3. Classification

Selon la classification de Garrity *et al.* 2007, le genre *Staphylococcus* appartient au phylum des Firmicutes constitué de quatre classes : *Clostridia*, *Mollicutes*, *Bacilli*, *Togobacteria* (**Chaalal, 2013**).

Les staphylocoques appartiennent à la famille des *Micrococcaceae* (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

La famille des *Micrococcaceae* composée de quatre genres :

- ✓ Le genre *Micrococcus* qui comprend des microcoques qui sont des hôtes normaux de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Ils sont sans pouvoir pathogène et sont la plupart du temps des contaminants des prélèvements.
- ✓ Le genre *Stomatococcus* qui comprend des bactéries faisant partie de la flore buccale.
- ✓ Le genre *Planococcus* qui comprend des bactéries du milieu marin.
- ✓ Le genre *Staphylococcus* qui regroupe 36 espèces (**Collomb, 2011**).

La classification du genre *Staphylococcus* ne cesse d'évoluer. Ainsi, un grand nombre d'espèces a pu être identifié. Des sous-espèces existent également.

Baird-Parker en 1974 a proposé une classification en trois espèces :

*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* et *Staphylococcus epidermidis*. *Staphylococcus aureus* se distingue des deux autres espèces par la production d'une enzyme, la coagulase, dont l'association avec le « coagulase reacting factor » transforme le fibrinogène du plasma en fibrine.

Le développement des techniques moléculaires (hybridation ADN/ARN) a permis d'affiner cette classification. Cependant, le critère de base reste la production de coagulase (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

En 1997, une trentaine d'espèces ont été identifiées trois sont productrices de coagulase. Ce sont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus*. La contamination des aliments reste peu probable pour *Staphylococcus intermedius*. Par contre, l'isolement de *Staphylococcus aureus* chez l'Homme et les animaux et l'isolement de *Staphylococcus hyicus* chez de nombreuses espèces animales d'élevage rendent ces souches potentiellement dangereuses en santé animale et en hygiène alimentaire (Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003).

#### 2.4.4. Les caractères morphologiques

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille de *Micrococcaceæ* qui regroupe des espèces bactériennes constituées de cellules arrondies immobiles et disposées en amas (fig. 1) (Pibiri, 2006)

*S. aureus* est une coque à coloration de Gram positive. Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas (Anses, 2011).

Il se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies (Collomb, 2011).

Sur milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristiques de «grappes de raisin» alors qu'en milieu liquide ils sont souvent isolés en diplocoques en tétrades ou en très courtes chainettes. Examinés on lame, après avoir été isolés d'une gélose, l'aspect en mosaïque est habituel (Chaalal, 2013).



Figure 1 : Aspect microscopique de l'espèce *Staphylococcus aureus*

#### 2.4.5. Les caractères biochimiques

L'espèce *S. aureus* a été subdivisée en 2 sous-espèces : *S. aureus* subsp. *Aureus* et *S. aureus* subsp. *anaerobius*. Cette dernière, isolée en 1985 à partir d'abcès chez le mouton, est anaérobie et peu connue. Seule *S. aureus* subsp. *aureus* sera traitée dans cette fiche sous la

dénomination de *S. aureus*. Elle se caractérise par la production de pigment, et de nombreuses autres enzymes et toxines responsables de sa virulence (M-L De Buysse *et al.*, 2003).

- La coagulase, qui protège la bactérie contre les mécanismes de défense de l'hôte;
- La leucocidine, qui attire et inhibe les leucocytes au site de l'infection (formation de pus);
- Les hémolysines, exotoxines qui détruisent les globules rouges;
- La phosphatase et la désoxyribonucléase dont les rôles demeurent ambiguës dans le processus d'agression (Québec, 2012).

La plupart des souches de *S. aureus* contrairement aux autres espèces produisent de l'hémolyse bêta, caractéristique utile lorsqu'on cherche à identifier un staphylocoque. Ainsi, les souches de *S. aureus* sont : acétone +, uréase +, VP+, MR+, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (Aouati, 2009).

*S. aureus* possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques.

Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés; (glucose, saccharose, lévulose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobiose ainsi que le mannitol (Aouati, 2009).

Le développement est également gêné lorsque la bactérie entre en compétition avec d'autres germes, notamment la flore lactique. La croissance de la bactérie est donc facilitée dans le lait pasteurisé par rapport au lait cru.

La bactérie est détruite par la pasteurisation mais la toxine y résiste. Il existe donc un risque si la toxine est synthétisée avant la pasteurisation (Lelievre, 2012).

#### 2.4.6. Les caractères cultureux

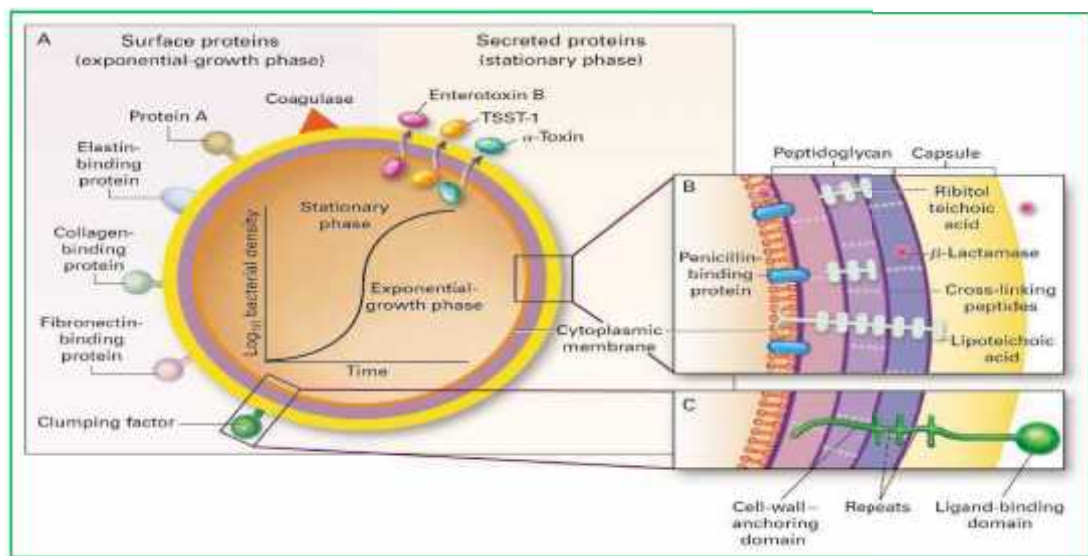
- La température : *S. aureus* est un germe mésophile. Il se cultive de 6°C à 46°C. La température optimale est de 37°C.
- Le pH : *S. aureus* se cultive à un pH qui va de 4 à 9,8. Le pH optimal se situe entre 6 et 7.
- La teneur en sel : *S. aureus* est un germe halophile qui supporte des taux de sel allant de 7 à 20%.
- L'activité en eau : *S. aureus* tolère une activité en eau très réduite ( $A_w = 0,83$ ) (Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003).

- Il est capable de se multiplier dans des milieux contenant 5 à 10% de NaCl, en bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le Staphylocoque, le milieu est Baird Parker (Chaalal, 2013).

**Tableau 10 : Caractéristiques de survie, de croissance et de toxinogénèse de *S. aureus* (Bauraind et al., 2014).**

Paramètre	Condition de croissance
<b>Température</b>	De +6°C à +48°C pour certaines souches, optimum entre +35°C et +41°C
<b>Ph</b>	De 4 à 10, optimum 6 à 7
<b>Atmosphère</b>	Aérobie avec possibilité de croissance en anaérobiose
<b>Activité d'eau</b>	Aw optimale 0.99, Aw limite à 0.86

#### 2.4.7. La structure de *S. aureus*



**Figure 2 : Structure de *S. aureus* (Lowy, 1998).**

A : protéines de surface et secrétées en fonction de la phase de croissance.

B : organisation de la paroi bactérienne et de la capsule.

C : Détail de l'organisation du (clumping facto . La majorité des protéines de surfaces ont une organisation similaire.

### 2.4.7.1. La paroi cellulaire

La paroi des staphylocoques est caractéristique des bactéries à Gram positif. C'est une structure rigide et résistante qui entoure la membrane cytoplasmique. Cet exosquelette est responsable de la forme de la bactérie et se compose principalement de peptidoglycanes (fig. 3) (Collomb, 2011).

Le peptidoglycane de *S. aureus* est formé de chaînes linéaires de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique réunis par des liaisons 1-4 et 1-6, sur l'acide N-acétylmuramique se fixe un tétra peptide ; des ponts penta ou hexa-glycines unissent la lysine d'un tétrapeptide à l'alanine du suivant.

Chez *S. aureus*, le relargage de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infections locales (abcès, infections articulaires) provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et une libération de cytokines (IL-1, IL-6, IL-8 et TNF alpha) qui, en grande quantité, provoquent des lésions tissulaires et une hyperthermie (Aouati, 2009).

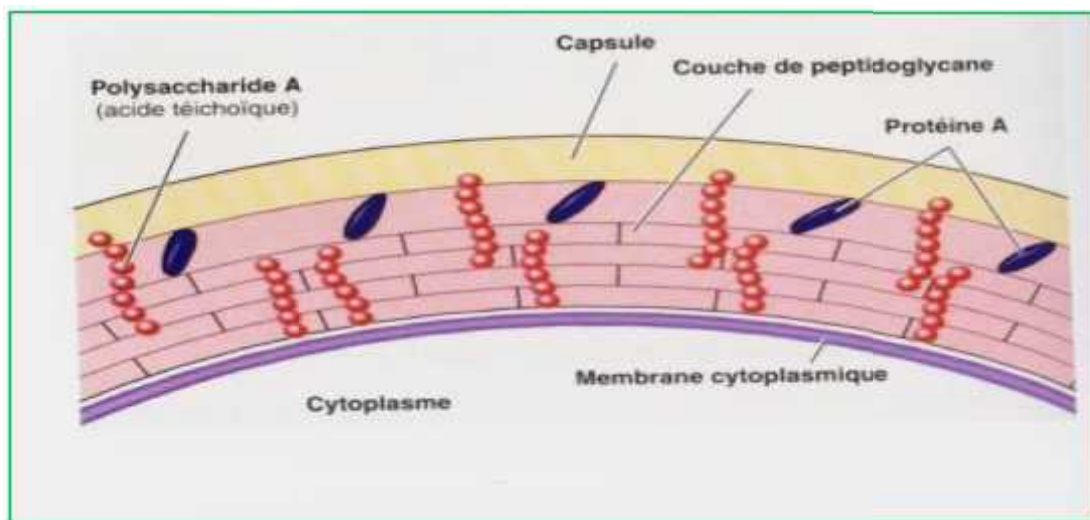


Figure 3 : Structure de la paroi des staphylocoques (Spicer, 2003 .

### 2.4.7.2. La capsule

La majorité des staphylocoques produisent des microcapsules polysaccharidiques. Certaines souches de *S. aureus* sont aussi capables de produire des exopolysaccharides responsables de la formation de biofilms, ce qui confère à la bactérie une forme de résistance (Collomb, 2011).

La capacité de la bactérie à adhérer aux bio-matériels recouverts par le plasma de l'hôte et les protéines matricielles, tels que le fibrinogène ou la fibronectine, est un déterminant majeur dans l'initiation d'une infection sur un corps étranger (**Aouati, 2009**).

### 2.4.7.3. Le génome

Il est composé d'un chromosome circulaire (environ 2800 pb), de prophages, de plasmides et de transposons. Des facteurs de virulence et de résistance aux antibiotiques ont été retrouvés à la fois dans le chromosome et dans les éléments extra-chromosomiques (**Collomb, 2011**).

## 2.5. Pouvoir pathogène de *S. aureus*

*S. aureus* est l'espèce la plus pathogène de genre de *Staphylococcus* et la première cause d'infection bactérienne à travers le monde, cette pathogénicité de *S. aureus* est un phénomène complexe, faisant intervenir une multitude de facteurs de virulences (**Chalaal, 2013**).

La virulence de *S. aureus* est due à la sécrétion de multiples toxines et enzymes qui contribuent diversement à l'expression du pouvoir pathogène (**Fiquet, 2009**).

### 2.5.1. Protéines de surfaces

Les protéines présentes à la surface de *S. aureus* ont de nombreux points communs entre-elles. Elles se composent en général d'une séquence signal sécrétrice, d'une partie composée d'acides aminés chargés positivement dans le cytoplasme.

- La protéine A, qui est le prototype de ces protéines, a des propriétés anti phagocytaires par sa capacité à se lier à la partie Fc des immunoglobulines (**Collomb, 2011**).
- Les MSCRAMM : « microbial-surface components recognizing adhesive matrix molecules », forment un ensemble de protéines qui, comme son nom l'indique, sont caractérisées par leur capacité à se lier à des éléments de la matrice extracellulaire. Il semblerait qu'elles jouent un rôle majeur dans la capacité des staphylocoques à envahir les tissus de l'hôte (**Collomb, 2011**).

### 2.5.2. Les enzymes

- **La Coagulase libre :**

La sécrétion de la coagulase est le caractère taxonomique essentiel de l'espèce. La présence de cette enzyme définit l'espèce *S. aureus*. C'est une enzyme extracellulaire, thermostable peu antigénique. Néanmoins, elle entraîne l'apparition d'anticorps inhibant son activité biologique, ils sont généralement présents dans le sérum des sujets sains (**Aouati, 2009**).

Il active en quelques heures, coagule le plasma d'Homme ou de lapin autour des colonies de cocci par transformation du fibrinogène en fibrine (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

- **La coagulase liée :**

Ou *clumping factor*, liée à la paroi des staphylocoques, provoque une agglutination du fibrinogène (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

Cette protéine, très riche en lysine (PM de 21 kDa, pI de 10,3), est présente chez presque toutes les souches d'origine humaine mais elle est moins fréquente chez les souches d'origine animale (**Aouati, 2009**).

- **La thermonucléase :**

Se recherche sur milieu de Lachica, de couleur bleue. Les souches possédant cette enzyme provoquent l'apparition d'une auréole rosée autour des cocci (**Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003**).

- **La catalase :**

C'est une enzyme qui convertit le peroxyde d'hydrogène accumulé dans la cellule résultant du métabolisme ou lors de la phagocytose en molécules d'eau et oxygène ce qui empêche la formation de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie (**Chalaal, 2013**).

### 2.5.3. Les cytotoxines

Il s'agit de toxines à activité membranaire.

- **L'Alpha-hémolysine :**

Ou alpha-toxine, est toxique vis-à-vis de nombreux types de cellules de mammifères. Elle est dermonécrotique et neurotoxique. Elle est particulièrement active sur les érythrocytes de lapin, ces cellules sont au moins cent fois plus sensibles que celles des autres mammifères, et mille fois plus sensibles que celles de l'Homme.

Les effets sur l'hôte sont largement dus à la formation de pores dans la membrane permettant un passage d'ions à travers celle-ci, et provoquant donc une altération de l'équilibre des ions chez l'hôte (**Deverriere, 2007**).

C'est une exotoxine protéique de PM de 33 kDa et de pI de 8.55, thermostable, antigénique, induisant la formation d'anticorps neutralisants, son gène de structure est cloné et la séquence d'acide aminé est connue. La toxine est inactivée à 60°C et réactivée à 100°C (effet Arrhénius) (**Aouati, 2009**).

- **La bêta-hémolysine :**

Le rôle de la bêta-hémolysine dans les maladies causées par *S. aureus* n'est pas encore clairement compris. Elle possède un haut niveau d'expression chez les souches animales. Les - et -hémolysines peuvent aussi causer une inflammation importante quand elles sont injectées toutes seules, même sans les bactéries (**Deverriere, 2007**).

Elle est thermolabile de PM de 26 à 38 kDa et de pI 9.4, synthétisée par 94% de souches animales et par 54% de souches humaines. Il s'agit d'une phospholipase de type C, active sur la sphingomyéline, d'où son nom de sphingomyélinase de type C, et donne une hémolysine accrue en présence de souches de *Staphylococcus agalactiae* (**Aouati, 2009**).

- **La gamma-hémolysine :**

Cause des dommages sur la membrane d'un certain nombre de cellules de mammifères. Elle a une activité hémolytique (**Deverriere, 2007**).

Elle est antigénique chez l'Homme, et est formée de deux constituants I (PM: 29 kDa, pI: 9.8) et II (PM: 26 kDa, pI: 9.9) agissant en synergie et dont le cholestérol inhibe l'action. (**Aouati, 2009**).

- **La delta-hémolysine :**

Protéine de PM de 103 kDa, composée de sous unités (PM: 5 kDa, pI: 9.5), elle est thermostable et hydrophobe, faiblement antigénique. Son activité biologique n'est pas enzymatique, elle agit comme un détergeant sur les membranes biologiques, sans spécificité mais avec une certaine rapidité, et inhibe l'absorption de l'eau et la production d'acide adénosine mono phosphorique cyclique (AMPC), semblant ainsi jouer un rôle dans les diarrhées aiguës des infections à *S. aureus* (Aouati, 2009).

- **Les entérotoxines :**

Ce sont des toxines de nature protéique, ayant un poids moléculaire allant de 27000 à 30000 Daltons. De petite taille, elles peuvent être difficiles à isoler dans le lactosérum (Patrice, Benoît, Guy Arnal, 2003).

Les propriétés biologiques des entérotoxines peuvent rester inchangées après pasteurisation, la production d'entérotoxines staphylococcique peut commencer à partir d'une faible concentration bactérienne après incubation de 2 h à 37°C (Chalaal, 2013).

### 2.5.4. Maitrise de *S. aureus* : croissance et production d'entérotoxines

#### 2.5.4.1. Les effets des facteurs abiotiques

- **La température :**

La gamme de température pour la croissance de *S. aureus* s'étend entre 7 et 46°C et sa production d'entérotoxines serait possible entre 10 et 45°C et la croissance de *S. aureus* et sa production de d'entérotoxines sont complètement inhibées à une température inférieure à 7°C (Alomar, 2007).

- **La concentration en NaCl :**

*S. aureus* et une bactérie halotolérante capable de se multiplier en milieu de laboratoire jusqu'à 12% de NaCl, elle peut survivre avec 20% de NaCl de bouillon de culture, les entérotoxines ne sont pas produites à des concentrations de NaCl supérieures à 18%. Des fortes concentrations en sel modifient la composition en acides gras de la membrane produisant un changement dans la perméabilité de la membrane (Alomar, 2007).

- **Les exigences nutritionnelles :**

Les exigences nutritionnelles de *S. aureus* sont dépendantes de la composition de milieu, *S. aureus* exige pour sa croissance une source azotée qui peut être des acides aminés et des vitamines de groupe B et de sulfate d'ammonium. L'addition de glutamate de proline et de thréonine à concentration de 30 mg/l favorise la croissance de *S. aureus* et sa production d'entérotoxines (Alomar, 2007).

- **Les hautes pressions :**

Le traitement par les hautes pressions consiste à appliquer un pressage isostatique à froid pression identique dans toutes les directions de l'espace, en tout point de l'environnement et donc de produit, il provoque la destruction des microorganismes en agissant sur la membrane et les parois cellulaires. *S. aureus* est une bactérie sensible aux hautes pressions (Alomar, 2007).

### 2.5.4.2. Les effets de facteurs biotiques

- **Le pH**

L'effet de pH sur *S. aureus* est lié à plusieurs facteurs environnementaux et aussi au type d'acide utilisé pour ajuster le pH de milieu. La production d'entérotoxines est inhibée à des valeurs de pH inférieures à 5,3 elle est maximale aux valeurs de pH comprises entre 6,5 et 7,0 dans des milieux de laboratoire (Alomar, 2007).

- **Les bactériocines**

Sont des molécules de nature protéique à effet bactéricide dirigées contre les espèces généralement apparentées aux bactéries productrices. L'activité des bactériocines dépend des conditions de culture pH, T... . L'effet antagoniste de la nisine vis-à-vis de *S. aureus* diminue quand la T d'incubation augmente (Alomar, 2007).

- **Le pyroxyde d'hydrogène :**

L'effet antimicrobien de pyroxyde d'hydrogène peut résulter de l'oxydation des groupes sulfhydryliques causant la dénaturation d'un certain nombre d'enzymes et de la

peroxydation des lipides de la membrane et de ce fait provoque l'augmentation de la perméabilité de la membrane et la production d' $H_2O_2$ . *Lactobacillus* et *Lactococcus* inhibe la croissance de *S. aureus* (Mami, 2013).

### 2.5.5. Toxi-infections alimentaires

Les intoxications alimentaires à *S. aureus* ne sont pas des infections vraies avec multiplication bactérienne *in situ*, mais sont dues aux entérotoxines préalablement développées dans l'aliment, résistantes aux sucs digestifs et pour certaines à la chaleur. Le tableau clinique est impressionnant et surviennent deux à six heures après l'ingestion d'un aliment. La symptomatologie débute brutalement dans un contexte non fébrile en associant des vomissements incoercibles, une diarrhée aqueuse abondante, des douleurs abdominales et des céphalées. Ces signes apparemment graves sont en fait d'évolution rapide généralement bénigne, sauf chez les individus «fragiles» (Aouati, 2009).

- ❖ L'ingestion de 100 mg d'entérotoxines constituerait la dose minimum capable de provoquer des troubles chez les individus les plus sensibles (d'après l'étude d'une TIAC survenue en 1985 aux USA). Grande variabilité de sensibilité d'un individu à l'autre.
- ❖ La toxine étant très stable, elle peut être présente sous forme active dans les aliments alors que toutes formes viables de la bactérie ont disparu. Les entérotoxines sont généralement détectables pour une population d'au moins  $10^6$  cellules bactériennes par g (Marie-Laure De Buyser *et al.*, 2003).

### 2.6. Origine de la contamination par *S. aureus*

La peau et les muqueuses des animaux à sang chaud constituent la niche écologique de *S. aureus*. Chez l'Homme, les fosses nasales, le cuir chevelu et les mains sont les principales localisations. Chez les ruminants et plus particulièrement chez la vache, *S. aureus* se retrouve majoritairement dans les naseaux et sur la peau des trayons. Il est capable de survivre dans l'environnement direct de l'animal puisque de nombreuses espèces de staphylocoques peuvent être retrouvées dans l'air, dans la salle de traite, la litière et au niveau des lésions cutanée. Ainsi, différentes sources de staphylocoques sont possibles : les sources primaires (animaux et homme) et les sources secondaires (matériel). (Damien Bouchard, 2013).

### 2.6.1. Sources primaires animales

Elles sont majoritairement représentées par les mammites et le portage cutané.

#### 2.6.1.1. La mammite

Les mammites consistent en une inflammation de la glande mammaire (une inflammation de la mamelle), le plus souvent développée en réponse à une infection bactérienne intramammaire (**Bouchard, 2013, Croisier, 2011 ; Wallemacq *et al.*, 2010 ; Croisier et Vibon Banah, 2007 ; Houssa, 2006**). Elle peut aussi être due à une infection d'origine virale, ou fongique ou encore résulter de changements physiologiques, d'un traumatisme ou d'une lésion (**Bouchard, 2013**). Selon le degré et la gravité de l'inflammation, on distingue les mammites cliniques et les mammites subcliniques (**Houssa, 2006**).

La mammite peut se définir par l'état inflammatoire d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle quelle que soit l'origine traumatique, physique, chimique ou biologique. Par opposition sera considérée comme normale, une mamelle sans signe visible d'un état pathologique avec un lait exempt d'agents pathogènes et des caractéristiques cellulaires et physico-chimiques normales (**Haddadi, 2006**). Dans l'espèce bovine, la mamelle est constituée de quatre quartiers indépendants vis-à-vis de l'infection. Le lait contenu dans ces quartiers est normalement sain. L'infection d'un quartier par un pathogène de la mamelle se fait principalement par voie ascendante, via le canal du trayon (**Haddadi, 2006**). L'inflammation intramammaire se traduit dans un premier temps par une modification de la composition du lait :

- ✚ présence de leucocytes en quantité anormalement élevée. On peut les dénombrer pour estimer de façon indirecte le niveau d'inflammation ;
- ✚ modification chimique avec une augmentation des protéines solubles au profit des protéines coagulables, une augmentation de la concentration en certains minéraux comme le sodium et chlore (**Croisier et Croisier, 2011**).

L'apparition des mammites est favorisée par différents facteurs tels que la traite, les traumatismes, les blessures, les stress, l'inconfort et la malpropreté du bâtiment (**Vibon Banah, 2007**).

Au sein de la famille des pathogènes majeurs impliqués dans les mammites bovines, on distingue les mammites contagieuses (réservoir mammaire), des mammites environnementales (réservoir environnemental : litière, sol...).

Les pathogènes contagieux sont essentiellement des bactéries capables de survivre et de proliférer au niveau de la peau, des trayons et des pis. Ces pathogènes peuvent se transmettre à d'autres quartiers et d'autres animaux, les principaux représentants de cette catégorie sont *S. aureus* (**Damien Bouchard, 2013**).

Les pathogènes environnementaux sont présents dans l'environnement de l'animal (*S. uberis* est à la fois un pathogène avec un réservoir environnemental et mammaire). Ces pathogènes sont considérés comme opportunistes. Ils pénètrent la glande via le canal du trayon et induisent une inflammation mais sont souvent vite éliminés. De nombreux microorganismes peuvent être considérés comme pathogènes environnementaux mais les principaux représentants sont *Streptococcus uberis* et *Escherichia coli* (tab.11, fig. 4) (**Damien Bouchard, 2013**).

**Tableau 11: Classification des germes de mammites (Houssa, 2006).**

Types de germes	Germes contagieux	Germes de l'environnement
<b>Germes pathogènes majeurs</b>	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase positive)	<i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus uberis</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella</i>
<b>Germes pathogènes mineurs</b>	Staphylocoque coagulase négative (SCN) <i>Corynebacterium bovis</i>	Champignons Levures

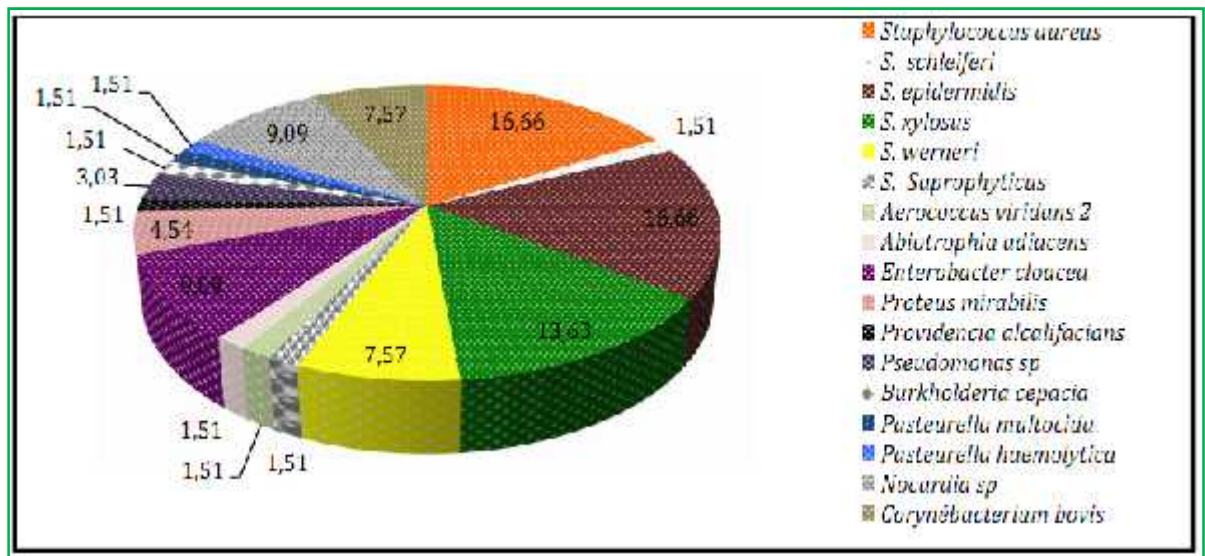


Figure 4 : Etiologie des mammites bovines dans l'est d'Algérie (Benhamed, 2004).

- **La mammité à *S. aureus* :**

Ce germe est une cause majeure des infections mammaires ; il est très souvent présent sur la peau des trayons et il existe une corrélation entre la colonisation de l'orifice du trayon par cette bactérie et des lésions cutanées du trayon (Houssa, 2006.) Les gîtes préférentiels pour *S. aureus* sont les lésions du trayon : gerçures, crevasses, éversion du canal du trayon ... (Baillet, 2009).

Il produit des toxines et des enzymes (toxine a, coagulase, fibrinolysine, hyaluronidases, leucocidines, hémolysines). La toxine a induit une nécrose cutanée et explique ainsi l'apparition occasionnelle de mammites gangréneuses. Les infections à staphylocoques sont contagieuses et se transmettent de quartier infecté à quartier sain (Baillet, 2009). *S. aureus* étant sensible à de nombreux médicaments et antiseptiques, une bonne hygiène, avant et après la traite, permet la maîtrise de l'affection due à ce germe (Houssa, 2006).

L'infection intramammaire causée par *S. aureus* pose deux problèmes majeurs : son aspect contagieux et surtout sa capacité à s'implanter et persister au niveau du réservoir mammaire. La formation de ce réservoir mammaire passe bien sûr par la contamination de la mamelle, mais surtout par sa capacité à former des biofilms bactériens ou sa capacité à envahir les tissus de l'hôte. Cette dernière propriété est de plus corrélée à la capacité de *S. aureus* à former des variant phénotypiques dit « small colony variants » qui constituent un état végétatif ou dormant de *S. aureus* lui assurant

une survie intracellulaire. A la différence des autres pathogènes, cette capacité de persistance engendre une infection pouvant être chronique, où le pathogène ressurgit à la lactation suivante malgré l'application d'un traitement antibiotique au tarissement (**Damien Bouchard, 2013**).

- **Classification de la mammite :**

On peut classer les mammites selon les modifications de la mamelle (chaleur, douleur, rougeur, gonflement), la composition du lait (grumeaux, couleur) (**Gabli, 2005**). Les définitions publiées par la Fédération Internationale de laiterie et rapportées par POUTREL (1985) permettent de classer les mammites en deux catégories (**Houssa, 2006**).

- ✓ **Mammites cliniques :**

Mammite aiguë : dans ce cas, il y a des signes évidents d'inflammation de la mamelle qui est alors enflée, chaude et douloureuse. Le lait est macroscopiquement anormal et les animaux ont de la fièvre.

Mammite subaiguë : les signes inflammatoires sont moins évidents que dans le cas précédent. En plus, on note la présence persistante de caillots dans le lait et notamment dans les premiers jets (**Houssa, 2006**).

Une mammite est dite clinique lorsque l'atteinte mammaire se traduit par des symptômes locaux et généraux. Ainsi, elle est caractérisée par l'apparition des signes généraux (fièvre, anorexie, asthénie, coma etc.), locaux (rougeur, chaleur, œdème, gangrène, asymétrie, sclérose, abcès) et des signes fonctionnels (modifications qualitatives ou quantitatives de la production du lait). Les mammites cliniques surviennent principalement lors de la traite mécanique pendant le premier tiers de la lactation (**Viban Banah, 2007**).

La présence de grumeaux dans le lait et la diminution de la production journalière sont aussi observables. Il existe également des mammites graves, caractérisées par une nécrose de la mamelle, pouvant tuer l'animal. Il s'agit, dans ce cas, de mammites gangréneuses. Elles constituent la pathologie la plus fréquente et la plus coûteuse rencontrée en élevage laitier (**Wallemacq et al., 2010**).

Les mammites cliniques sont souvent compliquées d'un déplacement de caillette à gauche ou à droite (7 %). En effet la dysorexie due à la mammité engendre une baisse de volume du rumen laissant de l'espace à la caillette pour se déplacer dans l'abdomen (Baillet, 2009).

**Tableau 12 : Fréquence d'isolement des germes lors de mammites cliniques**

Espèces bactériennes	Fréquence d'isolement lors de mammites cliniques
<i>E. coli</i>	41 %
<i>S. aureus</i>	17 %
<b>Autre streptocoques : <i>Streptococcus agalactiae, dysgalactiae, uberis</i></b>	13 % (les <i>S. uberis</i> sont les plus fréquents)
<b>Staphylocoques</b>	11 %
<i>Klebsellia</i>	1.6 %
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1.6 %

✓ **Mammites subcliniques :**

Il n'y a pas de signes d'inflammation macroscopiquement évidents, mais l'examen du lait révèle l'existence d'une infection, une augmentation du nombre des cellules du lait et également une altération des propriétés chimiques du lait (Houssa, 2006).

Ces mammites subcliniques à *S. aureus* ont, de plus, tendance à devenir chroniques et à persister durant de longues périodes de temps. Chez les vaches laitières, les mammites à *S. aureus* s'expriment le plus souvent par une élévation du taux de cellules somatiques dans le lait, principalement liée à un afflux des neutrophiles (Wallemacq *et al.*, 2010).

La mammité subclinique est caractérisée par l'absence de symptômes visibles. Les mammites subcliniques notamment celles à *S. aureus* peuvent évoluer vers une mammité chronique, à savoir, une infection persistante ou latente qui peut resurgir à l'état clinique en fonction du temps et de l'environnement. Chez les bovins, 80 % des infections persistent pendant la lactation en cours, voire pendant le tarissement. Lors du développement de l'infection, beaucoup de facteurs peuvent influencer l'orientation de la mammité (Damien Bouchard, 2013).

Une étude effectuée en France et au Royaume-Uni entre 1966 et 1986 montre qu'il s'agirait du germe le plus fréquemment impliqué dans les infections inapparentes et les mammites subcliniques chroniques. Ces infections sont très difficiles à soigner et représentent la source principale de contamination du lait cru par *S. aureus*. En effet, l'infection peut persister longtemps même avec des symptômes frustrés (**Lelievre, 2012**).

### **2.6.1.2. Portage cutané**

Le portage de staphylocoques est fréquent sur la peau et les muqueuses des animaux. Les mamelles et les trayons des chèvres sont particulièrement concernés. Ils peuvent être une source de contamination du lait car, lors de la traite mécanique, le lait est en contact avec la peau du trayon dans le manchon trayeur. Dans ce cas, une contamination du lait sans mammite est possible (**De Matos, 2013**).

### **2.6.2. Sources primaires humaines**

Beaucoup de personnes sont naturellement porteuses de *S. aureus* au niveau de la peau et des muqueuses. Ainsi, plus de 20 % des personnes sont porteuses permanentes de *S. aureus*, 60% de façon intermittente, et seulement 20% n'en portent presque jamais. Les localisations préférentielles sont les fosses nasales et les mains.

Le portage cutané semble souvent consécutif au portage nasal, car les souches sont souvent communes (plus de 60 % des cas), et l'élimination de la source nasale est régulièrement suivie d'une diminution du portage cutané. Leur présence est plus importante chez les sujets malades que les sujets sains, et la fièvre est associée à une augmentation de contamination de la sphère rhino-pharyngée. Tout individu malade est donc plus souvent porteur et excréteur de *S. aureus* ; les contaminations de l'environnement sont donc plus importantes. Les plaies, quant à elles, sont très souvent infectées par *S. aureus* : 60 à 100 % des lésions. Ainsi, lors de la traite mécanique ou manuelle ou de la manipulation du lait, la contamination est possible par contact direct, ou par voie aérienne, avec ou sans maladie (**De Matos, 2013**).

### 2.6.3. Sources secondaires : matériel de traite

Le matériel de traite, et notamment la machine à traire, peut être une source secondaire de staphylocoques à coagulase positive. *S. aureus* est capable de survivre grâce à des biofilms sur des milieux inertes. C'est un élément de résistance de la bactérie. De cette manière, à chaque traite, le lait qui passe dans les lactoducs est contaminé.

Des biofilms peuvent aussi se constituer sur tous les matériels de traite et de fromagerie (bidons à lait...).

Des staphylocoques peuvent également être présents au niveau de tous les éléments en caoutchouc (tuyaux longs et courts à lait, manchons) lorsque ceux-ci sont trop vieux. En effet, de petites fissures se forment et les bactéries vont se loger à l'intérieur. Le lavage de la machine n'est pas suffisant pour éliminer ces bactéries, qui sont protégées dans leur crypte et peuvent contaminer le lait (**De Matos, 2013**).



***MATERIEL ET  
METHODES***

### 3. Matériel et méthodes

#### 3.1. Prélèvement, transport et conservation des échantillons

##### 3.1.1. Prélèvement des échantillons

Les échantillons analysés sont des laits crus de six fermes périurbaines de Remila. Pour chaque ferme les vaches ont été prises au hasard pour la traite. Pendant la traite, un seul passage est effectué et 250 ml de lait cru prélever directement du pis de la vache (individuelle) ont été collectés dans des flacons stériles (**Kouame-Sina et al., 2010**).

##### 3.1.2. Transport

L'analyse doit être effectuée le plus vite possible en transportant les échantillons dans des glacières, dont la température est comprise entre 4 et 6°C. La variation de cette dernière est susceptible de modifier la population bactérienne (**Sari, 2014**).

#### 3.2. Etude bactériologique

##### 3.2.1. But des analyses

L'analyse bactériologique a pour but de mettre en évidence la présence des germes qui peuvent exister dans le lait cru, basée sur la recherche et la numération de celles ci dans les échantillons à analyser. L'analyse n'est pas seulement qualitative mais aussi quantitative (**Hamed et al., 2012**).

Une analyse complète de lait cru a été effectuée en se basant sur les paramètres suivants:

- ❖ Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale ;
- ❖ Recherche et dénombrement des Coliformes totaux ;
- ❖ Recherche et dénombrement des Coliformes fécaux ;
- ❖ Recherche, dénombrement et identification des *Staphylococcus aureus*.

##### 3.2.2. Préparation des dilutions décimales

On utilise ces dilutions pour faciliter le dénombrement des germes. Au début, on fait une préparation des tubes d'essai, dans chacun de ces tubes, on met 9 ml d'eau physiologique stérilisée dans l'autoclave pendant 20 minutes à 121°C. On agite les flacons de lait cru. A l'aide d'une pipette stérile, on prélève 1 ml de lait cru à analyser dans le tube qui contient 9 ml d'eau physiologique, on obtient donc la dilution  $10^{-1}$  (agiter par le vortex) à partir de cette dernière, on met 1 ml dans un autre tube d'eau

physiologique donnant ainsi une dilution de  $10^{-2}$ , on poursuit cette méthode jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-7}$  (Mekroud, 2011).

Pour l'identification de *S. aureus* nous allons travailler sur la solution mère (Ouazzani et al., 2014).

### 3.2.3. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FMAT)

Le dénombrement de cette microflore est réalisé par la méthode d'ensemencement en profondeur sur gélose pour numération GN. L'incubation est conduite à 30°C pendant 48 heures (Actes et al., 1998 ; Labioui et al., 2008 ; Katinan et al., 2012). Ce dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du produit (Kheira et Niar, 2011).

#### Protocole

On porte aseptiquement 1 ml des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  dans des boîtes de Pétri vides préparées et numérotées a cet usage. On complète ensuite avec environ 15 ml de gélose GN fondue puis refroidie à  $47 \pm 2^\circ\text{C}$  dans un bain Marie. On homogénéise le contenu en effectuant des mouvements circulaires et de « va-et-vient » en formes de « 8 » sur une surface fraîche et horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.

Une fois la gélose refroidie, on recouvre avec une deuxième couche d'environ 4 ml de la même gélose fondue. Cette deuxième couche à un rôle contre les contaminations diverses (Hamad, 2009 ; Kheira et Niar, 2011).

#### Lecture

La lecture après 48 heures (Souidi, 2008).

La lecture et l'interprétation ont été faites selon la Norme Française : **Norme XP V08-102**.

Retenir les boîtes contenant moins de 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives. Il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies (Hamad, 2009). Statistiquement, seules les boîtes de Petrie comparant 30 à 300 colonies sont considérées comme significatives (Bousseboua, 2002).

La norme NF T 90-400 propose une formule de calcul du nombre d'unités génératrices de colonies qui tient compte de toutes les colonies comptées mais < à 300 (**Rèjsek, 2002**).

$$Cs = [N / (n1 \cdot V1 \cdot F1) + (n2 \cdot V2 \cdot F2) \dots (ni \cdot Vi \cdot Fi)] \cdot Vs$$

N : la somme de toutes les colonies comptées dans les boites

N1, n2, ni : le nombre de boites comptées pour chaque dilution

V1, V2, Vi : les volumes d'essai utilisés pour chaque dilution

F1, F2, Fi : les dilutions utilisées pour les prises d'essai V1, V2, Vi (F1=1 pour un échantillon non dilué, F=0.1 pour une dilution décimale, etc).

Vs : la quantité de référence choisie pour exprimer la concentration de l'échantillon en microorganismes

### 3.2.4. Recherche et dénombrement des coliformes

On distingue les coliformes totaux (CT) et les coliformes thermotolérants ou "fécaux" (CF). La distinction entre les deux groupes est liée à la seule température d'incubation (**Raveloson, 2003**).

Comme les Entérobactéries, ils constituent un bon indicateur hygiénique et sanitaire pendant ou après la transformation des denrées alimentaires (**Raveloson, 2003**).

#### 3.2.4.1. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux

Toutes les espèces qui se développent à des températures entre 30°C et 37°C regroupent les coliformes totaux (**Taybi et al., 2014**).

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des coliformes totaux par comptage des colonies obtenues respectivement entre 30°C et 37°C, la norme (**Norme NF V 08-017**) relatives au dénombrement des coliformes totaux.

Les coliformes totaux sont isolés et dénombrés sur un milieu gélosé sélectif le VRBL. Les prélèvements sont dilués jusqu'à 10<sup>-3</sup>. On porte aseptiquement 1 ml des dilutions décimales allant de 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> et 10<sup>-3</sup> dans des boites de Pétri vides préparées et numérotées à cet usage.

On complète ensuite avec environ 15 ml de gélose VRBL fondue puis refroidie à 47 ± 2°C au bain Marie. On homogénéise le contenu en effectuant des mouvements circulaires et de « va-et-vient » en formes de « 8 » sur une surface fraîche et horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose (**Raveloson, 2003 ; Saoudi, 2012**).

### **Incubation et lecture**

Après 24h d'incubation à 37°C, le comptage des colonies caractéristiques : rouge violacée (fermentation du lactose) de diamètre 0,5 mm ou plus, parfois entourés d'une zone rougeâtre due à la précipitation des sels biliaires donne le nombre des coliformes totaux en UFC/ml.

La mise en évidence des coliformes est basée sur l'utilisation du lactose contenu dans le milieu (**Raveloson, 2003**).

### **3.2.4.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux ou coliformes thermo-tolérants**

Les coliformes fécaux ou coliformes thermo-tolérants correspondent à des coliformes qui présentent les mêmes propriétés (caractéristiques des coliformes) après incubation à la température de 44 °C (**Sari, 2014**).

*Escherichia coli* est sans doute le plus spécifique de tous les germes de contamination fécale. Le terme « *Escherichia coli* présumé » correspond à des coliformes thermo-tolérants (**Sari, 2014**).

La recherche et le dénombrement des coliformes fécaux par comptage des colonies obtenues respectivement à 44°C, la norme (Norme NF V 08-017) relatives au dénombrement des coliformes fécaux (**Hamad, 2009**).

Les coliformes fécaux sont isolés et dénombrés sur un milieu gélosé sélectif le VRBL (Violet Red Bile Lactose Agar). On porte aseptiquement 1 ml des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  dans des boites de Pétri vides préparées et numérotées a cet usage.

On complète ensuite avec environ 15 ml de gélose VRBL fondue puis refroidie à  $47 \pm 2^\circ\text{C}$  dans un bain Marie. On homogénéise le contenu en effectuant des mouvements circulaires et de « va-et-vient » en formes de « 8 » sur une surface fraîche et horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose (**Hamad, 2009 ; Kheira et Niar, 2011; Saoudi, 2012**).

### **Lecture et interprétation**

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies rouges ayant poussé en masse dans les boites en tenant compte des facteurs de dilutions, dénombrer les boites entre 15 et 300 colonies. Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions (**Hamad, 2009**).

Toutes les colonies rouges foncé (lactose+) d'un diamètre de 0,5 mm minimum apparues en 24 heures sont considérées comme étant des coliformes fécaux (**Kheira et Niar, 2011**).

### 3.2.5. Recherche, dénombrement et identification des staphylocoques

En effet, la méthode de recherche et de dénombrement est essentiellement basée sur la mise en évidence de la coagulase (**Raveloson, 2003**).

#### 3.2.5.1. La recherche et dénombrement des staphylocoques

Le milieu Chapman est un milieu sélectif qui contient de fortes concentrations en NaCl (75 g/l) permettant ainsi la croissance des germes halophiles et halotolérants, dont le genre *Staphylococcus*. Il permet aussi d'étudier la fermentation du mannitol mise en évidence par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge de phénol (**Guillaume, 2004 ; Mechai, 2005**).

Le milieu de culture est coulé dans les boîtes de pétri, puis on prélève 0.1 ml des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , et  $10^{-4}$  successivement, on les introduit dans les boîtes de pétri, l'ensemencement se fait par pipette de Pasteur. L'incubation est réalisée à l'étuve 37°C pendant 48 h (**Debouz et al., 2014**).

#### Lecture

Les colonies de *S. aureus* sont de taille importante, elles s'entourent d'un halo jaune dû à l'attaque du mannitol, et élaborent souvent leur propre pigment dont la production s'accroît après la sortie de l'étuve (**Mechai, 2005**).

Le milieu Chapman permet seulement une orientation pour l'identification de l'espèce *S. aureus*, une confirmation par des tests plus spécifiques reste obligatoire (**Mechai, 2005**).

#### 3.2.5.2. Identification de *Staphylococcus aureus*

##### a- Détermination de la morphologie

L'observation macroscopique est réalisée dans le but d'observer la disposition, la couleur et l'aspect des colonies sur boîtes de Pétri. Après la coloration de Gram, les cellules sont examinées au microscope optique (x100) (**Leksir, 2012**).

### b- Recherche de la catalase

#### Principe

La catalase, une enzyme contenant du fer qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau, est synthétisée par la plupart des bactéries aérobies. Le test de la catalase sert à détecter la présence de cette enzyme dans une souche bactérienne donnée.



La mise en évidence de la catalase est réalisée en présence d'eau oxygénée, par l'obtention d'un dégagement important d'oxygène naissant.

#### Mode opératoire

A l'aide d'une pipette Pasteur on prélève une colonie isolée que l'on dépose dans une goutte d'eau oxygénée précédemment déposée sur une lame porte objet.

#### Lecture

La présence de la catalase s'est traduite par le dégagement en moins de 5 secondes de bulles d'oxygène qui forment une mousse persistante (Leksir, 2012 ; TALHATA, 2002).

### c- Recherche de l'oxydase

#### Principe

L'oxydase est une enzyme intervenant dans divers couples d'oxydo-réduction. La recherche de la phénylène-diamine-oxydase qui agissant sur un substrat incolore, entraîne la formation d'une semi quinone rouge. Cette dernière très instable, s'oxyde rapidement en donnant un composé noirâtre.

#### Technique

- Déposer sur une lame propre un disque d'oxydase, et l'imbiber avec une goutte d'eau physiologique stérile.
- Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur et l'étaler sur le disque. En présence d'oxydase, une coloration violet-brun apparaît immédiatement ou en quelques secondes puis devient noire (Saoudi, 2012 ; Mechai, 2005).

### **d- Test Mannitol-Mobilité**

#### **Principe**

La mobilité des souches ainsi que la fermentation du mannitol sont étudiées sur le milieu Mannitol-Mobilité (**Leksir, 2012**). Cette étude se fait sur le milieu mannitol mobilité, qui contient du mannitol et un indicateur de pH : le rouge de phénol (**Mechai, 2005**).

#### **Technique**

L'ensemencement se fait par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit. Incuber pendant 24 heures à 37°C (**Guillaume, 2004**).

#### **Lecture**

La fermentation du mannitol entraîne le virage de l'indicateur de pH au jaune, par acidification du milieu (**Leksir, 2012**).

La mobilité de la bactérie se traduit par la formation d'un voile autour de la piqûre (**MECHAI, 2005**).

### **e- La recherche de la fermentation du glucose, l'utilisation du lactose, et du saccharose**

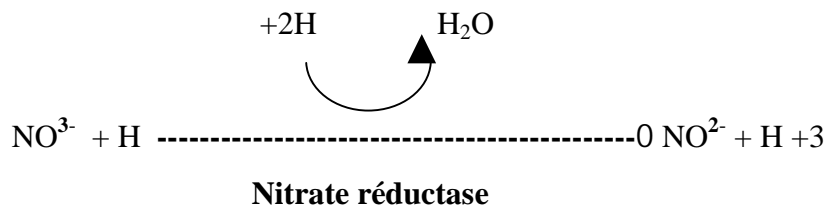
Ce test est réalisé sur le milieu Triple Sugar Iron (TSI). A l'aide d'une anse contenant des colonies prélevées, on ensemence la pente puis le culot d'un tube par piqûre centrale.

- ✓ Une coloration jaune de la pente indique un lactose positif.
- ✓ Une coloration jaune du culot montre un glucose positif.
- ✓ Une coloration jaune de la zone intermédiaire indique un saccharose positif. Ce test permet également la production de H<sub>2</sub>S (noircissement de la zone joignant la pente et le culot) et de gaz (bulles dans la gélose) (**Bouadjaib, 2013 ; Leksir, 2012**).

### **f- La recherche du nitrate réductase**

#### **Principe**

Certaines bactéries peuvent utiliser les glucides en anaérobiose en présence d'un accepteur d'hydrogène qui peut être l'ion NO<sup>3-</sup>. Ces bactéries possèdent une enzyme spéciale, la nitrate réductase, qui catalyse la réduction des nitrates (NO<sup>3-</sup>) en nitrites (NO<sup>2-</sup>), elle est recherchée selon la réaction de :



### Technique

Ensemencer un tube de bouillon nitraté (1‰ de KNO<sub>3</sub>) à partir de la suspension bactérienne. Incuber pendant 24 heures à 37°C (**Ould Bbrahim Elkory, 1998**).

### Lecture

Après avoir vérifié la présence de culture, ajouter 4 gouttes de chacun des réactifs de Griess :

Nit I et Nit II. Ces réactifs se combinent à tout nitrite présent pour former un colorant rouge grenadine.

L'apparition d'une telle coloration ou une coloration rose est signe de transformation de nitrates en nitrites. L'espèce est alors, nitrate réductase (+) (**Mechai, 2005**).

### g- Etude de la voie de fermentation du glucose : tests Voges Proskauer (VP) et Rouge de méthyle (RM)

#### Technique

Ensemencer largement le milieu Clark et Lubs. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, partager la culture en deux tubes l'un pour le test VP et l'autre pour le test RM.

- **Test RM**

#### Principe

Ce test détermine si la bactérie suit la voie des acides mixtes quand la fermentation du glucose conduit à la production de nombreux acides organiques plus ou moins forts (acides : succinique, malique, oxalique, acétique, butyrique, formique...), du CO<sub>2</sub> acide faible et volatil. Le test RM consiste à apprécier le pH du milieu après 24 heures de culture, par un indicateur de pH qui est le rouge de méthyle. Cet indicateur est jaune à pH >7 et rouge à pH <4,5.

### Lecture

Ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle.

- Une réaction RM (+) se traduit par une coloration du milieu au rouge, ce qui signifie une forte acidification. Donc la bactérie suit la voie des acides mixtes, elle est dite RM (+).
- Une réaction RM (-) se manifeste par coloration du milieu au jaune, ce qui indique une faible alcalinisation, due à la production d'acides organiques relativement faibles et plutôt du CO<sub>2</sub>. La bactérie est dite RM (-) (**Mechai, 2005**).

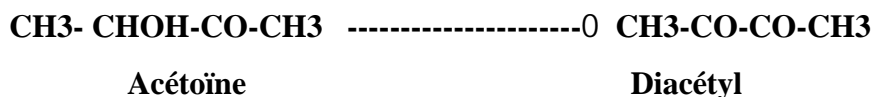
- **Test Voges Proskauer**

### Principe

Ce test détecte la capacité qu'a une bactérie de produire de l'acétoïne (acétyl méthylcarbinol). Dans cette voie, la fermentation butanediolique conduit à des quantités moins importantes d'acides organiques, une proportion non négligeable du pyruvate étant transformée en acétoïne, réduite en générale en butanediol.

La réaction VP consiste à mettre en évidence, par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoïne (**Mechai, 2005**).

En présence d'une base forte, l'acétoïne donne une coloration rouge (**Ait Hamlet, 1998**).



### Lecture

Ajouter successivement les réactifs: VP1 (alpha-naphtol) à 5% dans l'alcool, et VP2 (hydroxyde de sodium ou de potassium) à 40%. Incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation. Attendre quelques minutes à une heure.

Une réaction VP (+) se manifeste par une coloration rose ou rouge, donc la bactérie suit la voie de l'acétyl méthylcarbinol, elle est dite VP (+) (**Mechai, 2005**).

### h- Production d'indole et recherche de tryptophane désaminase (TDA)

#### Production d'indole

##### Technique

Ensemencer un tube d'eau peptone exempte d'indole. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, ajouter quelques gouttes de réactif de Kovacs, agiter légèrement et laisser le réactif remonter à la surface. La lecture est immédiate. Lorsqu'il y a production d'indole, ce composé est extrait de la culture par le réactif qui se rassemble en une couche rose ou rouge à la surface. Si la coloration de réactif est inchangée, la réaction indole est négative (fig. 5) (Mechai, 2005).

#### Recherche de tryptophane désaminase (TDA)

##### Technique

Ajouter quelques gouttes de réactif de Perchlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ), agiter légèrement et laisser le réactif remonter à la surface. La lecture est immédiate. Le tryptophane désaminase agit sur l'acide aminé L-tryptophane en formant l'acide indole pyruvique. Ce dernier donne avec le perchlorure de fer une coloration brun rouge (fig.5) (Mechai, 2005).

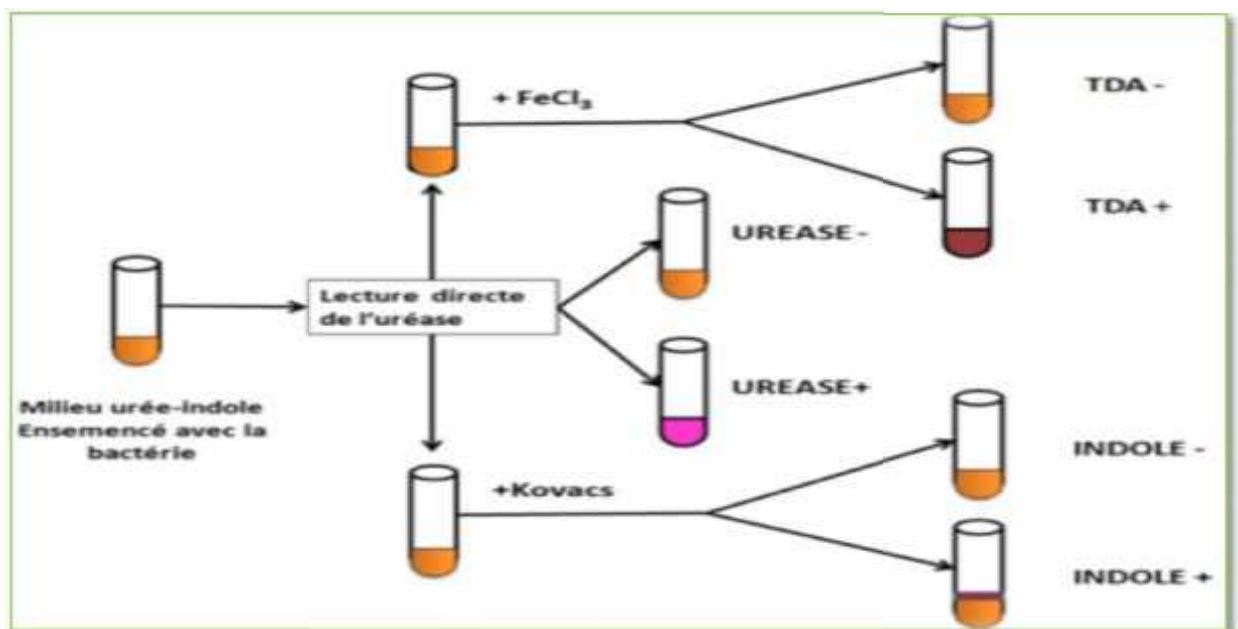


Figure 5 : Lecture du milieu urée indole

### 3.2.6. Sensibilité aux antibiotiques

#### Antibiogramme par méthode de diffusion en milieu gélosé: méthode des disques/antibiogramme standard

Cette méthode est la plus utilisée dans les laboratoires du diagnostic. Elle n'est applicable qu'aux bactéries qui donnent une croissance visible après une incubation d'une nuit.

#### Principe

Des disques d'antibiotiques sont disposés à la surface d'un milieu gélosé adéquat, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques d'antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Un gradient de concentration s'établit dans la gélose). Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (**Mechai, 2005**).

#### Milieu de culture

Le milieu retenu pour la majorité des espèces bactériennes est celui de Mueller-Hinton, ce milieu est standardisé d'une manière que :

- Il permet la croissance de nombreuses bactéries, et il ne contient pas d'inhibiteurs des antibiotiques.
- Son pH compris entre 4,2 et 7,2 permet une bonne croissance bactérienne et réalise un compromis pour l'activité des antibiotiques.
- Un pH trop acide augmente l'activité des  $\beta$ -lactamines, tétracyclines et acide fusidique.
- Un pH trop basique augmente l'activité des aminosides, des macrolides, lincosamides et streptogramines.

Sa concentration en :

- Ions  $Mg^{++}$  est comprise entre 10 et 25 mg/l.
- Ions  $Ca^{++}$  est comprise entre 20 et 50 mg/l.

Des concentrations trop élevées de ces ions inhibent l'action des aminosides, des tétracyclines et des polymyxines.

#### Mode opératoire

- ❖ **Préparation de l'inoculum**

L'inoculum est préparé de façon à obtenir après incubation des colonies juste confluentes; il est obtenu à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures (phase stationnaire) sur gélose non inhibitrice, gélose Chapman pour les staphylocoques.

Prélever au moins 3 colonies de la bactérie et émulsionner dans 5 ml de l'eau physiologique stérile (**Mechai, 2005**).

### ❖ **Ensemencement**

L'ensemencement se fait par la méthode de Kirby-Bauer, par écouvillonnage.

- Plonger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi.
- Ensemencer la boîte de Mueller-Hinton dont l'épaisseur de la gélose est de 4 mm, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60°C afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum (**Mechai, 2005**).
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 minutes.

### ❖ **Application des disques et incubation**

- Appliquer les disques à l'aide d'une pince préalablement flambée, en appuyant légèrement.
- Incuber à 37°C pendant 16 à 18h.

### ❖ **Lecture**

Pour chaque antibiotique : mesurer le diamètre de la zone d'inhibition au revers de la gélose, et reporter cette mesure sur l'échelle de concordance correspondante et indiquer si la bactérie est sensible, intermédiaire ou résistante (**Mechai, 2005**).

**Tableau 13 : interprétation de la susceptibilité de *S. aureus* aux disques d'antibiotiques (Johanne, 1984).**

<b>Abréviatio n</b>	<b>Antibiotique</b>	<b>Concentratio n dans le disque</b>	<b>Résistant (mm ou -)</b>	<b>Intermédiaireir e</b>	<b>Sensible (mm ou +)</b>
<b>AM</b>	Ampicilline	10 µg	20	21-28	29
<b>CL</b>	Céphalosporines	30 µg	14	15-17	18
<b>C</b>	Chloromphénicol	30 µg	12	13-17	18
<b>SO</b>	Cloxacilline	1 µg	10	11-12	13
<b>E</b>	Erythromycine	15 µg	13	14-17	18
<b>GM</b>	Gentamycine	10 µg	12	--	13
<b>K</b>	Kanamycine	30 µg	13	14-17	18
<b>L</b>	Lincomycine	2 µg	9	10-14	15
<b>N</b>	Néomycine	30 µg	12	13-16	17
<b>Pg</b>	Pénicilline G	10 U	20	21-28	29
<b>STR</b>	Streptomycine	10 µg	11	12-14	15
<b>TE</b>	Tétracycline	30 µg	14	15-18	19

A decorative scroll graphic with a black outline and a light gray shadow. The scroll is unrolled in the middle, with the word "CONCLUSION" written in a bold, black, serif font. The top and bottom edges of the scroll are rolled up, and the left edge is also rolled up, creating a three-dimensional effect.

**CONCLUSION**

### 5. Conclusion et perspectives

La contamination du lait devient un problème majeur de la santé publique surtout avec la présence de *Staphylococcus aureus* qui est responsable des intoxications alimentaires. Ce germe pathogène constitue un risque réel pour la santé publique dans le lait cru comme il peut produire, dans certaines conditions, des entérotoxines thermostables qui peuvent résister aux traitements thermiques.

Les laits crus de vache testés présentent une qualité microbiologique relativement dégradée ; présence de flore mésophile, coliformes totaux et fécaux et des staphylocoques; et sont ainsi, non acceptables du point de vue hygiénique.

Globalement la présence de cette diversité de flore, qu'elle soit fécale ou pathogène, n'est que le résultat logique d'un mauvais encadrement de nos éleveurs par les vétérinaires, l'absence des mesures d'hygiène, ainsi que le non-respect et la méconnaissance des conditions d'élevage, en particulier celles liées à la propreté des animaux et leur environnement et bien sûr les conditions de sécurité pour le stockage et la livraison de lait à mettre entre les mains du consommateur un produit de meilleure valeur nutritionnelle. Pour sortir du tunnel, nous proposons la mise en place de formations à destination des éleveurs, des convoyeurs et même des industriels, en vue d'améliorer l'hygiène du lait.

**Résumé**

Le lait, destiné à l'alimentation humaine, est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Contaminé, il peut être un vecteur de transmission de germes pathogènes et peut présenter un risque pour la santé humaine.

La présente étude porte sur l'évaluation de la qualité microbiologique de 6 échantillons de lait cru provenant de 6 fermes de la région de Remila, Khenchela.

Les résultats montrent le risque élevé pour les consommateurs en l'absence des mesures d'hygiène strictes et préventives visant à éviter la présence de la flore mésophiles, des coliformes (totaux et fécaux) et de *S. aureus*, soulignant la nécessité d'une meilleure pratique d'hygiène au cours de la traite pour optimiser la qualité du lait.

**Mots-clés** : lait cru, contamination, flore totale, coliformes, Staphylocoques aureus

### Summary

Milk intended for human consumption, is the entire proceeds of trafficking total and uninterrupted of a healthy dairy female, well fed and not overworked. Contaminated, it may be a vector of transmission of pathogens and may present a risk to human health.

This study focuses on evaluating the microbiological quality of 6 raw milk samples from six farms Remila area Khenchela. The results show the high risk to consumers in the absence of strict hygiene and preventive measures to avoid the presence of flora mesophilic, coliform bacteria (total and faecal) and *S. aureus*, stressing the need better hygiene practices during milking to optimize the quality of milk.

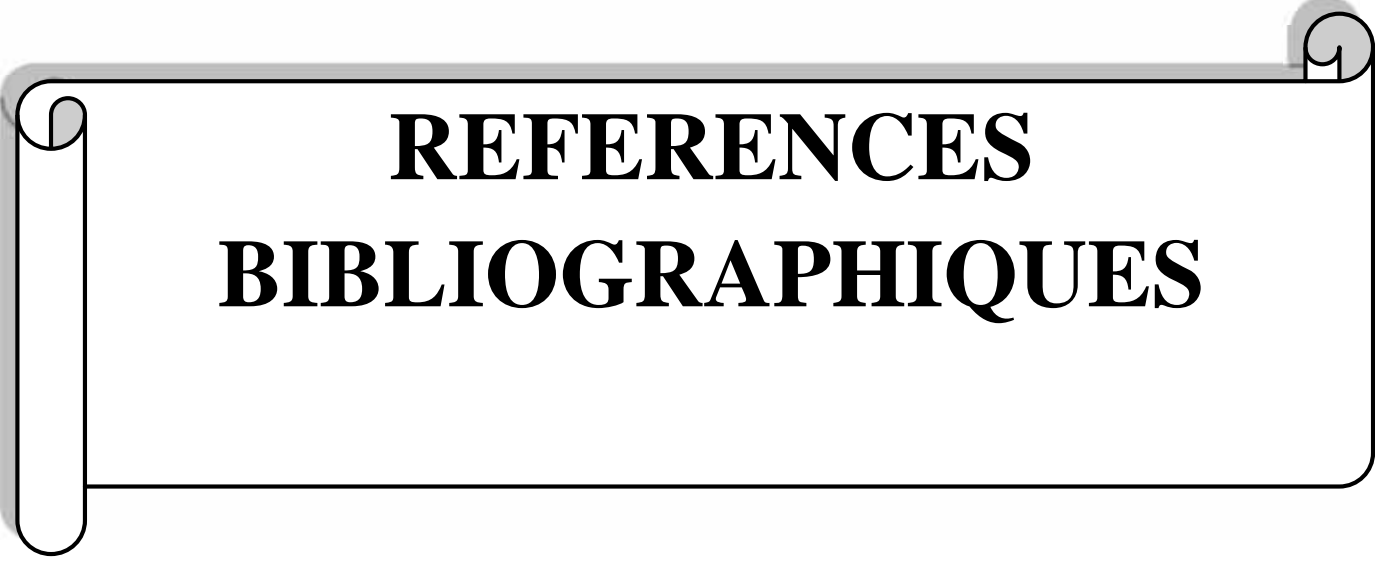
**Keywords:** raw milk, contamination, total flora, coliforms, *Staphylococcus aureus*

---

الحليب المعد للاستهلاك البشري، هو حصيدة كاملة لحدبة كلفة و غير منقطعة من ألبان الإناث الصالحة، المغذات جيداً. الملوثة، قد يكون ناقلاً للجراثيم الممرضة التي يمكن أن تشكل خطراً على صحة الإنسان. وتركز هذه الدراسة على تقييم الجودة الميكروبيولوجية من 6 عينات الحليب الخام من ست مزارع من منطقة الرميطة بخنشلة.

أظهرت النتائج ارتفاع خطر على المستهلكين في غياب النظافة الصارمة والتدابير الوقائية لتجنب وجود البكتيريا الهوائية الكلية معتدلة الحرارة ، البكتيريا القولونية (الكلية و البرازية ) والمكورات العنقودية الذهبية، مشدداً على ضرورة أفضل الممارسات الصحية أثناء الحلب لتحسين نوعية الحليب.

: تلوث الحليب الخام، البكتيريا الهوائية الكلية معتدلة الحرارة ، بكتيريا القولون، المكورات العنقودية الذهبية

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and rounded corners on the right, framing the text.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

**Références bibliographiques**

**ACHOUR A. (2006).** Évaluation du niveau de contamination de quelques produits laitiers par les pesticides organochlorés. Mémoire de Mastère en Science de l'environnement. Université 7 Novembre à Carthage, Tunisie. pp 19, 20, 21, 23.

**AGGAD H., MAHOUZ F., Y. AMMAR Ahmed, KIHAL M. (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. Revue Méd. Vét., 160, 12, 590-595.

**AIT HAMILET S. (1998).** Contribution à l'étude de la qualité de huiles d'olive de la Wilaya d'El Tarf ; Aspects microbiologique et écologique. Mémoire de Magistère en microbiologie appliquée. Université Badji Mokhtar- Annaba, Algérie. p150.

**ALAIS C., LINDEN G. et MICLO L. (2008).** Biochimie alimentaire. Dunod 6<sup>ème</sup> édition, Paris. pp 86-88.

**ALOMAR J. (2007).** Etude de propriétés physiologiques de *Lactococcus lactis* et *Lactococcus garvieae* pour la maîtrise de *Staphylococcus Aureus* en technologie fromagère. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine INPL . pp 31-32.

**ANSES (2011).** *Staphylococcus aureus* et entérotoxines Staphylococcique. Agence Nationale de la Sécurité Alimentaire, Environnement, Travail. p1.

**AOUATI H. (2009).** Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine. pp 10-24.

**AOUATI H., ARAFA1 N., BENLABED K., BOULAHROUF A., BOUSSEBOUA H. (2010).** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline au centre hospitalo-universitaire Ben Badis de Constantine, Algérie. Revue Tunisienne d'Infectiologie. Vol.4, N°4 : 129 – 133.

**BACHTARZI N. (2012).** Qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est Algérien. Université Mentouri de Constantine. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires, Algérie. p 3.

**BAILLET M. (2009).** Les principales urgences médicales chez les bovins. Thèse de Doctorat Vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort. Alfort. pp 61,71 ,72.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**BASTUJI B. & THOREL M.-F.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe .Article . pp 458.

**BAURAIND C. , Cantaert V., Cheval J-M., Daniaux C., de Laubier J., Demeffe L., Fameree C., Henrotte B., Lecocq G., Ninane V., Piraux E., Sindic M., Zdanov N. (2014).** A propos du lait cru. p 51.

**BELLANCILLE M. (2011).** Conditions de production et biodiversité bactérienne des produits laitiers fermentés artisanaux du Sénégal. Thèse de Doctorat en biologie appliquée et modélisation des systèmes biologiques. Université polytechnique de Bobo-Dioulasso. pp 6-9.

**BENALIA Y., HAKEM A., MOSTEFAOUI A., LAOUN A., TITOUCHE Y., LABIAD M., MAGTOUF L. et MATI A. (2013).** Qualité microbiologique du lait cru ovin collecté dans la steppe centrale de l'Algérie. Afrique Science 09 (2) : 86 – 92.

**BENHAMED N. (2004).** Evaluation de la qualité microbiologique et sanitaire de lait cru dans la région d'Oran, Algérie : études du profil moléculaire virulent de *Staphylococcus aureus* implique dans les mammites bovines. Thèse de doctorat LMD. Université d'Oran. Algérie. PP 16,17

**BEZZALLA F. et GOUTTAYA A. (2013).** Etude de la qualité microbiologique du lait camelin collecté localement en mi-lactation. Mémoire master académique. Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie. pp 28-27.

**BOUADJAIB S. (2013).** Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «Jben» Recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques. Université d'Abou Bacr Balkaid Telmecen. Algérie .Mémoire de Master en Biologie. pp 34, 36.

**BOUBCHIR L. (2008).** Effets de l'enrichissement avec des concentrés de protéines laitières et des paramètres technologiques sur la qualité du yaourt fabriqué à la laiterie Soummam d'akbou. Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algérie. pp 4

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**BOUSQUET C. A. (2005).** Pathologie caprine en Deux-Sèvres : état des lieux et impact sur les niveaux de réforme et de mortalité. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. L'université Paul-Sabatier de Toulouse. pp 30, 31.

**BOUSSEBOUA H. (2002).** Eliment de microbiologie générale. Edition de l'université Mentouri, Constantine. Algérie. pp 150-151

**BRISABOIS A., LAFARGE V., BROUILLAUD A., DE BUYSER M.-L., COLLETTE C., GARIN-BASTUJI B. & THOREL M.-F. (2002).** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe .Article . pp 458.

**CATSARAS M.V. (1991).** "Les indices de contamination fécale" in : BOURGEOIS C.M., LEVEAU J.Y. "Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires : Le contrôle microbiologique", Vol. 3, 2<sup>ème</sup> édition. Paris : Techniques et documentation. p 454.

**CAZET L . D. M. (2007).** Bilan du taux de contamination et étude préparatoire au dosage de résidus de produits phytosanitaires dans le lait de grand mélange bovin. Thèse de Doctorat. Ecole nationale vétérinaire, Université Claude-Bernard – Lyon, France. pp 14.

**CHAALAL W. (2013).** Occurrence et profil d'antibiorisistance des *Staphylococcus aureus* isolés de produits alimentaires. Mémoire de Magister, Université d'Es-Senia Oran. pp3-5, 8, 10.

**CHETHOUNA F. (2011) :** Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologique du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru mémoire de Magister en biologie Université Kasdi Merbah Ouargla p1.

**CODOU L.F. (1997).** Etudes des fraudes du lait cru : mouillage et écrémages. Thèse de Docteur vétérinaire, Université Cheikh anta diop de Dakar. Sénégal. p 6.

**COLLOMB A. (2011).** Caractérisation de la différence de sensibilité à l'infection par *Staphylococcus aureus* de deux lignées de souris. Thèse de Doctorat, Université Paul-Sabatier de Toulouse. pp 15-17.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**CONTE S. (2008).** Evolution des caractéristiques organoleptiques physico-chimiques et microbiologiques du lait caillé traditionnel. Mémoire d'études approfondies de productions animales. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal. p 2.

**COULIBALY R. K., SADAT AW., KOUAME O. C., KOUASSI M. B., NOGBOU E. A. (2012).** Assessment of chemical and microbiological quality of home-made fermented milk produced and consumed in Yamoussoukro town, Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* 55: 4020– 4027.

**CROISIER M. et CROISIER Y. (2011).** Hygiène et santé en élevage de troupeau tom 2. Educagri édition, CNPR, France. pp 81, 458.

**DALARRAS C. (1998).** Microbiologie. 90 heures de Travaux pratiques. Edition Gaëtan Morin, France. pp 40-275.

**DAMIEN B. (2013).** Potentiel probiotique des bactéries lactiques de l'écosystème mammaire bovin contre les mammites à *Staphylococcus aureus* Thèse de Doctorat. Université De Rennes 1. pp 33, 41,47, 334.

**DE BUYSER M-L., MARTEL J-L., MARIS P., ANTOINE J. et CARPENTIER B. (2003).** *Staphylococcus aureus*. pp 1-2.

**DE MATOS G. (2013).** Contribution à la maîtrise du risque lié à *Staphylococcus aureus* en filière fermière de fromage de chèvre au lait cru en corse. Mémoire de Docteur Vétérinaire, Université Claude-Bernard - Lyon I. 97 pages.

**DEBOUZ A., GUERGUER L., HAMID OUDJANA A. et HADJ SEYD A. (2014).** Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait du lait camelin dans la wilaya de Ghardaïa. *Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes* Vol.7 n°2 : 10 – 17.

**DESCOTEAUX L. (2004).** Symposium sur les bovins laitiers, la mammite clinique stratégies d'intervention. Hôtel des seigneurs, Saint-Hyacinthe. QRAAQ .Québec. p 4.

**DEVERRIERE B. V. M. (2007).** Reproduction expérimentale de mammites à *Staphylococcus aureus* chez la Brebis: comparaison de lignées génétiques divergentes

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

pour les comptages cellulaires. Thèse de Doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse. pp 47-48, 50-52.

**DIENG M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur la marche dakaroise. Thèse de docteur vétérinaire Université cheikh anta diop de Dakar. Dakar, Sénégal. pp 7, 8, 10, 11, 14.22.

**EL HADDAD L. (2010).** Caractérisation des phages de *Staphylococcus aureus*. Mémoire, Université Laval Québec, pp1.

**FIQUET A. (2009).** Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) un état des lieux. Université Victor Segalen Bordeaux 2 - Ecole du Val-de-Grâce. p 12.

**FLEURETTE R.V. (2003).** Qualité sanitaire des fromages artisanaux dans la région Antsirabe. Mémoire d'ingénieur en agronome. Ecole supérieure des sciences agronomiques, Université d'Antananarivo. pp 5-7.

**GABLI A. (2005).** Etude cinétique des cellules somatiques dans le lait des vaches atteintes de mammites et de vaches saines. Thèse de Doctorat. Université Mentouri-Constantine, Algérie. p 17.

**GGOULET J., GLANDE G., FOURNIER S. (2004).** Symposium sur les bovins laitiers (lait de qualité). Une initiative du comité bovin laitier. CRAAQ. p 2.

**GHAOUES S. (2011).** Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien. Mémoire de Magistère en Sciences Alimentaires. Université Mentouri-Constantine, Algérie. pp 5, 13, 14.

**GHAZI K. et NIAR A. (2011).** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). Tropicultura, 29, 4 : 193-196.

**GRENON C., FOURNIER S., GOULET J. (2004).** Symposium sur les bovins laitiers, Centre De Référence En Agriculture Et Agroalimentaire De Québec, pp 2-3.

**GUILLAUME P.Y. (2004).** Les milieux de culture en microbiologie. [www.2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux](http://www.2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux)

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

[www.2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux](http://www.2.aclyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux)

**GUIRAUD J. P., (2003).** Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie, Dunod, série Agro- alimentaire, Paris. 652 p.

**GUY ARNE P., Benoît (2003).** Sources et caractère enterotoxinogène des Staphylocoques en élevage ovin laitier. Thèse de Doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse. pp 8.

**HADDADI K. (2006).** Mécanismes de la protéolyse dans le lait lors de l'inflammation de la glande mammaire chez la vache laitière activité des protéases leucocytaires et des protéases bactériennes (cas d'*Escherichia coli*). Thèse de Doctorat, Ecole Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires Nantes. p 18.

**HAMAD B. (2009).** Contribution à l'étude de la contamination superficielle bactérienne et fongique des carcasses camelines au niveau de l'abattoir d'el oued. Mémoire de Magistère en médecine vétérinaire. Université Mentouri de Constantine, Algérie. p 71.

**HAMED M., GUETTACHE A., BOUAMER L. (2012).** Etude des propriétés physico-chimiques et bactériologiques de l'eau du barrage Djorf-Torba Bechar. Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie, Université de Bechar, Algérie. pp 35. 36.

**HENNEKINNE et BRIGITTE C. (2003).** *Staphylococcus aureus*. pp 1-2.

**JAKOB E., WINKLER H. et HALDEMANN J. (2009).** Critères Microbiologiques pour la fabrication du Fromage. Edition Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. pp : 5-31.

**JOFFIN C., JOFFIN J-N. (2010).** Microbiologie alimentaire. n°518 Vol 344. p 137.

**JOHANNE D. (1984).** Etude épidémiologique des infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus*. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en sciences de l'environnement. Université du Québec à Trois-Rivières, Québec. p 44.

**JOSE R. (2014).** A propos de lait cru. Directeur général a.i. Direction générale opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources naturelles et de l'Environnement du Service public de Wallonie.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**KAOUACHE S. (2010).** Evaluation et taxonomie numérique de la flore *Listeria spp.* Dans un environnement d'élevage bovin. Mémoire de Magistère. Université Mentouri Constantine, Algérie. p 33.

**KHADRI S. (2009).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'ail cultivé (*Allium sativum*) de l'est Algérien vis-à-vis de différentes souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie. p 37.

**KODIO A. (2005).** Qualité de produits laitiers de production industrielle et artisanale. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odonto-stomatologie.

**KOUAME SINA S-M. (2013).** Contribution à la gestion des risques de contamination microbienne et diversité génotypique des espèces du genre *Bifidobacterium* isolées de la chaîne de production du lait local à Abidjan. Thèse de doctorat Université Nangui Abrogoua Côte d'Ivoire.

**KOUAME-SINA S.M., A. BASSA, A. DADIE, K. MAKITA. JE et B. BONFOH D.G. (2010).** Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire). Revue Africaine de Santé et de Productions Animales de Dakar. RASPA Vol.8 N°. p 36.

**LABIOUI H., ELMOUALDI L., BENZAKOUR A., EL YACHIOUI M., BERNY E-H., OUHSSINE M. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. Kénitra, Maroc. 148, 7 -9-16

**LEBRES E-H-A. (2006).** Etude de prévalence et analyse de risque de *Listeria monocytogens* dans les laits crus dans la région centrale. Thés de doctorale. Centre universitaire d'El Tarf, Algérie. pp 82-87.

**LEKSIR C. (2012).** Caractérisation et contrôle de la qualité de ferments lactiques utilisés dans l'industrie laitière algérienne. Mémoire de Magistère en Sciences Alimentaires. Université Mentouri de Constantine, Algérie p 55.

**LELIEVRE L. (2012).** Suivi de troupeau vétérinaire et transformation à la ferme : une opportunité supplémentaire. Université Claude-Bernard Lyon (Médecine - Pharmacie). Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. pp 35- 51-52.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**LOWY F.D. (1998).** *Staphylococcus aureus* infections. The new england journal of medicine, 339: 520–32.

**MAMI A. (2013).** Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de Doctorat, Université d'Oran. pp 31-32, 39.

**MECHAI M. (2005).** Analyse microbiologique des eaux des plages de la ville d'Annaba évaluation de la résistance aux antibiotiques des microorganismes pathogènes. Mémoire de Magistère. Université Badji-Mokhtar- Annaba, Algérie. pp 54, 59, 69, 72, 73, 76, 78, 80.

**MEKROUD H. (2011).** Effet de la température sur la production laitière dans la région de Sétif. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas- Sétif, Algérie. p10, 31-32.

**N'GORAN E. K., YAPI-GNAORE V. C., FANTODJA A. T., COULIBALY J. K. et AKE Y. A. (2013).** Qualité hygiénique et prévalence de contamination du lait des fermes péri-urbaines dans le district des lagunes (au sud de la Cote d'Ivoire). *Agronomie Africaine* 25 (3) : 239-249.

**OUADGHIRI M. (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « lben » et « jben » d'origine marocaine. Thèse de doctorat. Université Mohammed V–agdal, Rabat. pp 29.

**OULD BRAHIM ELKORY M. (1998).** Bacille pyocyanique : identification et sensibilité aux agents antibactériens. Mémoire de Magistère. Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie. p 115.

**OUM OKHTAR B., KARIB H., BOUCHRITI N. et ARABA A. (1998).** Appréciation de la qualité bactériologique de la viande et des abats de taurillons fraîchement abattus dans les abattoirs de Rabat. *Actes Inst. Agron. Veto (Maroc)* Vol. 18 (3) : 169-176.

**PIBIRI M-C (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat, école Polytechnique Fédérale de Lausanne. p 19.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Québec (2012).** Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* : méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale de Québec, Édition : 2000-04-06 ; Révision : 2012-01-25 (4). p 5.

**RAVELOSON A-I. (2003).** Mise en place d'un système de contrôle et promotion de la qualité du " *koba ravina*" vendu dans la ville d'Antananarivo. Mémoire de DEA en biochimie. Université d'Antananarivo, Madagascar. pp 14, 24, 25, 30, 31.

**REJSEK F. (2002).** Analyse des eaux, aspects réglementaires et techniques. Edition Scérèn, 385 p.

**SAOUDI Z. (2012).** Caractérisation microbiologique et traditionnel algérien 'Bouhezza' de ferme. Mémoire de Magistère en sciences alimentaires .Université Mentouri Constantine, Algérie. p 32.

**SARI H. (2014).** Contribution à l'étude de la qualité chimique-physique et bactériologique de l'eau de la source « Attar (Tlemcen). Mémoire de Master. Algérie. pp 19, 32, 37, 38, 20.

**SEGBEGNON H-E. (2006).** Evaluation de la prévalence et des causes des mammites subcliniques en élevage bovin laitier intensif dans la zone périurbaine de Dakar (cas des fermes de niacoulrab et de wayembam). Thèse obtenir le grade de Docteur en Médecine Vétérinaire. Université cheikh Anta Diop de Dakar. pp 12, 14-16, 18, 21.

**SEMASAKA G. (1986).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés commercialisés dans la région de Dakar (Sénégal). Thèse de Doctorat. Université De Dakar. pp 24-25.

**SIBOUKEUR O. E. (2007).** Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique El-Harrach-Alger. 114 pages.

**SOUIDI H. (2008).** Evaluation du niveau de la pollution bactériologique chez un échinoderme l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) dans la cote organisée orientale. Mémoire de Magistère en science d'environnement. Université d'Oran Es Sénia, Algérie. p 61.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**SOUSSY C. J. (1998).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie : Communiqué 1998, 23 p.

**SPICER W.J. (2003).** Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie Flammarion Médecine-Sciences, Paris. pp 28-29.

**TALHATA MAHAMAR H. (2002).** Etude cyto-bactériologique du liquide céphalo-rachidien à Bamako : 1415 cas. Thèse de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat). Université de Bamako, Mali. pp 11-13.

**TAYBI N. O., ARFAOUI A., and FADLI M. (2014).** Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru dans la région du Gharb. Article distributed under the *Creative Commons Attribution License*. Vol. 9 No. : 487-493.

**TLRCOT S. (1999).** L'utilisation du babeurre comme source de phospholipides pour la production de fromages légers. Mémoire pour l'obtention du grade de maîtresses sciences. Université Laval. p 4.

**VIBAN BANAH V. (2007).** Etude étiologique des mammites cliniques chez les petits ruminants dans la zone urbaine et périurbaine de Dakar. Thèse pour obtenir le grade Docteur vétérinaire. Université cheikh Anta Diop de Dakar. Dakar. pp 6, 7, 22.

**WALLEMACQ H., GIRARD B., LEKEUX P., BUREAU F. (2010).** La vaccination contre les mammites à *Staphylococcus aureus* chez la vache laitière. *Ann. Méd. Vét.*, 154 : 16-29.

**WEISEN J. P. (1974).** La stratégie de la lutte anti-mammite. La prophylaxie des mammites. Edition Vigot Frère, Paris. pp 43-79.



# ANNEXES