

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA Recherche SCIENTIFIQUE

Université Constantine 1



Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Microbiologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Générale
Option : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des
Microorganismes

**Appréciation de la qualité bactériologique et recherche de résidus
d'antibiotiques dans le lait cru pasteurisé produit par
la laiterie Numidia de Constantine**

Présenté par :

BENZAID Maria

et

MADANI Fawzia

Soutenu le 25 juin 2014

Jury de soutenance :

Président : Mr. CHIKHI A. M.C

Université Constantine 1

Encadreur : Mme. AIT ABDELOUAHAB N. M.A.A

Université Constantine 1

Examinatrice : Mme. ZERMANE F. M.A.A

Université Constantine 1

Année universitaire
2013-2014

Remerciements

Au terme de ce mémoire,

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu, le Tout Puissant, le Miséricordieux, pour nous avoir donné la force, le courage et surtout la patience d'accomplir ce travail.

Nous tenons aussi à présenter nos vifs remerciements et notre respect au jury pour l'honneur qu'ils nous a fait en acceptant de juger ce mémoire :

Mr CHIKHI A., M.C. en tant que président du jury

et Mme ZERMANE F, M.A. en tant qu'examinatrice

Nos profonds remerciements et notre gratitude s'adressent à notre encadreur Mme AIT ABDELOUAHAB N. pour sa précieuse aide, ses orientations et le temps qu'elle nous a accordé pour notre encadrement.

Nous tenons à remercier Mr HALIMI R., PDG de la laiterie Numidia, pour avoir bien voulu nous accueillir et mettre à notre disposition les moyens nécessaires à la réalisation de notre étude.

Nous remercions également l'ensemble du personnel du laboratoire de Microbiologie de la laiterie Numidia pour sa collaboration.

Un très grand merci à nos chers parents qui ont toujours été là pour nous, nos frères, nos sœurs et à nos amis pour leurs encouragements.

Nous remercions également tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des abréviations

BLBVB : Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant.

°C : Degré Celsius.

°D : Degré Dornic.

DCL : Géllose au Désoxycholate Lactose.

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile.

GC : Giolitti Cantoni.

ISO : Organisation Internationale de Normalisation.

JO : Journal Officiel de la République Algérien.

KJ : kilo Joule.

µg : Microgramme.

NPN : Azote Non Protéique.

NPP : Nombre le Plus Probable.

PCA : Plat Count Agar.

SFB : Bouillon au Sélénite cystéine de Fer.

SS : *Salmonella Shigella*.

UI : Unité International.

UFC : Unité Formant Colonie.

Table des matières

Introduction	1
Etude bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur le lait et son traitement	
1. Propriétés physico-chimiques du lait cru	2
2. Composition du lait cru de vache	3
3. Valeur alimentaire et nutritionnelle du lait cru de vache	4
4. Pasteurisation du lait cru au niveau de la laiterie Numidia	5
Chapitre II : La microflore du lait	
1. La flore originelle	7
2. La flore de contamination	8
2.1. La flore d'altération	10
2.2. La flore pathogène	11
3. La flore indicatrice d'une mauvaise hygiène à la production	13
Chapitre III : Les résidus d'antibiotiques	
1. Mode d'action	14
2. Les mammites	15
3. Exemples d'antibiotiques utilisés dans le traitement des mammites	16
4. La présence des antibiotiques dans le lait	16
4.1. Risques pour la santé publique	16
4.2. Risques d'ordre technologique	17
5. Méthodes de détection d'antibiotiques	17
5.1. Méthodes de criblage	17
5.2. Méthodes de confirmation	17
6. La recherche des antibiotiques au niveau de la laiterie « Numidia »	18
7. La Législation	19

Etude expérimentale

Matériel et méthodes

1. Analyse bactériologique du lait.....	20
1.1. Préparation des échantillons.....	20
1.2. Technique des dilutions.....	21
1.3. Les milieux de cultures	21
1.3.1. Les milieux gélosés	21
1.3.2. Les milieux liquides	22
1.4. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)	22
1.5. Recherche et dénombrement des coliformes.....	23
1.6. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	25
1.7. Recherche et dénombrement des Salmonelles	25
1.8. Recherche des <i>Clostridium</i> sulfito- réducteurs	25
2. Recherche des antibiotiques	27

Résultats et discussion

1. Etude bactériologique.....	29
2. Recherche des antibiotiques	34
Conclusion	37

Références bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau n°1. Constantes physico-chimiques du lait.....	2
Tableau n°2. Flore indigène du lait cru.....	7
Tableau n°3. Les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques.....	14
Tableau n°4. Critères bactériologiques du lait cru pasteurisé.....	29
Tableau n°5. Dénombrement de la flore totale dans les différents échantillons de lait analysés (UFC/ml).....	30
Tableau n°6. Dénombrement des coliformes totaux en milieu solide.....	31
Tableau n°7. Dénombrement des coliformes totaux en milieu liquide.....	32
Tableau n°8. Tableau récapitulatif des résultats bactériologiques.....	34

Liste des figures

Figure n°1. Composition globale du lait de vache (g/l).....	3
Figure n°2. Diagramme de fabrication du lait au niveau de la laiterie Numidia.....	6
Figure n°3. Sites d'action des antibiotiques.....	15
Figure n°4. Beta Star Combo pour les Bêta-lactames et les Tétracyclines.....	19
Figure n°5. Aspect des colonies des bactéries mésophiles sur le milieu PCA.....	30
Figure n°6. Aspect des colonies des coliformes fécaux sur le milieu DCL.....	31
Figure n°7. Tubes de BLBVB positifs.....	32
Figure n°8. Lecture des résultats pour les β -lactames et les Tétracyclines.....	35
Figure n°9. Résultat négatif (absence des β -lactames et des Tétracyclines) pour tous les échantillons analysés.	35

Introduction

Le lait est un aliment biologique d'une richesse exceptionnelle, il est à la fois produit d'élevage, produit de transformation et produit de consommation offert sous des aspects extrêmement diversifiés. Il peut à lui seul couvrir tous les besoins de l'organisme durant les premiers mois de la vie, il contient principalement tous les éléments nécessaires à la croissance et au développement harmonieux de l'organisme humain, en particulier les glucides, les lipides, les protéines, les vitamines et le calcium.

Une bonne qualité bactériologique d'un lait n'implique pas uniquement l'absence de germes pathogènes, mais aussi l'absence de toute substance inhibitrice telle que les résidus d'antibiotiques susceptibles de poser des problèmes très généraux.

Ceux-ci peuvent donner au lait une couleur et un goût anormaux et surtout détruire les bactéries responsables des fermentations lactiques, ce qui empêche la transformation du lait en produits laitiers ; il s'agit d'un problème technologique majeur.

De plus, ces résidus d'antibiotiques peuvent constituer un danger pour le consommateur : en effet, de faibles quantités d'antibiotiques tels que la pénicilline entraînent des troubles graves chez les personnes allergiques au produit. Malheureusement, l'usage croissant et souvent irraisonné de produits antibiotiques se solde très souvent par la présence de leurs résidus dans le lait produit par la vache traitée.

L'objectif de notre étude concerne d'une part, la recherche de résidus d'antibiotiques au niveau du lait cru réceptionné à la laiterie Numidia et d'autre part, l'analyse bactériologique du même lait après son traitement par le procédé de pasteurisation.

La recherche des résidus d'antibiotiques se fait par la méthode rapide Beta Star Combo qui permet la détection des résidus des Bêta-lactames et des Tétracyclines en seulement cinq minutes dans le lait cru à la réception.

L'analyse bactériologique consiste en la recherche et le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile, des coliformes totaux, des coliformes fécaux, des *Staphylococcus aureus*, des Salmonelles et des *Clostridium* sulfite-réducteurs par les méthodes bactériologiques de recherche et de dénombrement classiques.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

Généralité sur le lait et son traitement

Selon le Premier Congrès International de la Répression des Fraudes, le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1909 comme étant « le produit intégral de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée ». Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de *colostrum* (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

Cette définition a été également adoptée par la Législation Algérienne relative aux dispositions de l'Arrêté International du 18 Août 1993, concernant les spécifications et la présentation de certains laits de consommation.

1. Propriétés physico-chimiques du lait

Le lait est un liquide opaque blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en bêta carotène (BOURGEOIS et *al.*, 1996). L'odeur et la saveur peuvent révéler des incidents de fonctionnement du stérilisateur ou de la conditionneuse ou du matériau d'emballage (ODET et *al.*, 1976).

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne (BOURGEOIS et *al.*, 1996). Il a des constantes physico-chimiques spécifiques résumées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Constantes physico-chimiques du lait (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

Constante	Valeurs
pH (20°C)	6,5 - 6,7
Acidité titrable	15 - 18 °D
Densité	1,028 à 1,036
Température de congélation	-0,51°C à - 0,55°C

2. Composition du lait cru de vache

De très nombreux facteurs peuvent intervenir au niveau de la composition du lait : l'espèce, la race, le stade de lactation, l'état sanitaire, l'alimentation, etc.

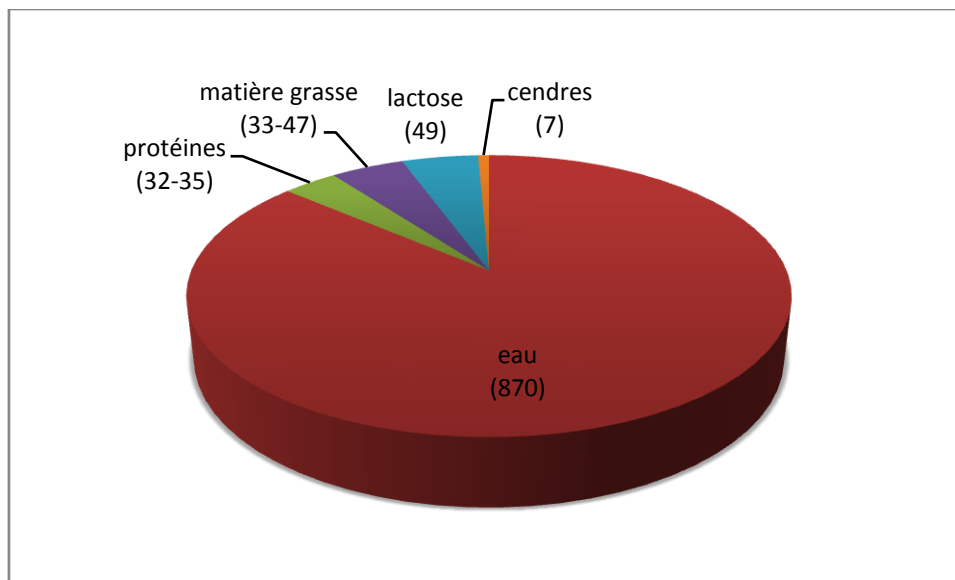


Figure 1. Composition globale du lait de vache (g/l) (JEANTET et al., 2008).

Les principaux constituants du lait sont :

- la matière grasse : elle se compose principalement de triglycérides, de phospholipides et d'une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de β -carotène (VIGNOLA, 2002).
- les glucides : le lactose, principal glucide du lait, a surtout un rôle énergétique et représente environ 30% de la valeur calorique du lait (VIGNOLA, 2002). IL 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 (CHEFTEL et CHEFTEL, 1976).
- les protéines : le lait de vache contient 3,2 à 3,5 % des protéines réparties en deux fractions distinctes : les protéines sériques solubles à pH 4,6 représentent 20% des protéines totales (JEANTET et al., 2007), les caséines dont le pH isoélectrique global est proche de 4,7 représentent 80% des protéines (CHEFTEL et CHEFTEL, 1976).

- l'eau : la phase non grasse du lait de vache est constituée majoritairement d'eau (87% de la composition globale) dans laquelle sont dispersés ou solubilisés du lactose (4,8 à 5% de la composition globale), des protéines (3,2 à 3,5%) et de l'azote non protéique (NPN) constitué d'urée, d'acides aminés et de peptides qui représentent environ 5% de la fraction azotée du lait et aussi d'ions inorganiques (calcium, phosphate, chlorure...), d'acides organiques (citrate dans le lait frais) et de vitamines hydrosolubles (JEANTET *et al.*, 2007).
- les minéraux du lait : bien que mineure dans la composition des laits, la fraction minérale est très importante tant d'un point de vue structural que nutritionnel et technologique. Ces éléments minéraux sont : le calcium, le magnésium, le phosphate inorganique, le sodium, le potassium, et les chlorures (JEANTET *et al.*, 2007).
- les vitamines : sont des substances biologiquement indispensables à la vie. On les trouve en très petite quantité dans les aliments. On répartit les vitamines en deux classes selon leur solubilité : les vitamines hydrosolubles du groupe B, la vitamine C de la phase aqueuse du lait et les vitamines liposolubles (vitamine A, D, E, et K) associées à la matière grasse (VIGNOLA, 2002).
- les enzymes : la quantité d'enzymes est très faible dans le lait ; mais on sait que l'activité de ces catalyseurs biochimiques est telle qu'ils provoquent d'importantes modifications à très basse concentration (ALAIS, 1974). Il s'agit de : l' α -amylase, de la lipase, de la peroxydase, de la phosphatase alcaline, de la phosphatase acide, de la xanthine oxydase et du lysozyme (ADRIAN *et al.*, 1995).

3. Valeur alimentaire et nutritionnelle du lait de vache

Le lait est un substrat très riche fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet car carencé en fer et acides aminés soufrés (méthionine, cytosine).

Il contient des protéines riches en résidus d'acides aminés essentiels et des minéraux d'intérêt nutritionnel (JEANTET *et al.*, 2008) qui sont présents à des concentrations tout à fait

satisfaisantes pour la croissance et la multiplication cellulaire (BOURGEOIS et *al.*, 1996). Le potentiel énergétique d'un litre de lait est de 2720 kJ (JEANTET et *al.*, 2008).

4. Pasteurisation du lait cru au niveau de la laiterie Numidia

La pasteurisation est un processus de chauffage du lait à une température suffisante pour détruire les bactéries pathogènes telles que *Mycobacterium*, *Salmonella sp*, *Listeria*, etc (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

La pasteurisation se fait à une température inférieure à 100°C. L'activité résiduelle des enzymes du lait est un bon indicateur de la nature du traitement thermique. Ainsi un traitement de pasteurisation doit inactiver la phosphatase alcaline mais préserver la peroxydase (lait dit de « haute qualité ») (JEANTET et *al.*, 2011).

La pasteurisation est un procédé de conservation limite auquel sont adjoints un conditionnement clos hermétiquement, associé ou non à une atmosphère modifiée ou sous vide, et une réfrigération. Elle est utilisée lorsque :

- un chauffage sévère dégrade les qualités organoleptiques de l'aliment.
- l'on recherche la dégradation de microorganismes pathogènes.
- l'on recherche la dégradation des genres ou même d'espèces de microorganismes concurrents dans la fermentation recherchée (VIERLING, 2008).

A la laiterie Numidia, on distingue les étapes suivantes dans la fabrication du lait cru pasteurisé :

- la filtration : il faut d'abord débarrasser le lait de toutes les impuretés, les corps étrangers qui peuvent s'y trouver accidentellement (poils, insectes, impuretés végétales...).
- la réception du lait cru : le lait arrive à l'usine en vrac dans des camions-citernes. La réception du lait se fait au niveau du quai de réception où se trouvent des pompes, des circuits et un compteur volumétrique. Le lait subit un contrôle immédiat de l'acidité et aussi un contrôle de la présence d'antibiotiques avant être accepté.
- le refroidissement : le lait est refroidi à 4 - 6 °C dans des réfrigérateurs jusqu'au moment de son utilisation. Ce refroidissement ralentit la croissance des microorganismes et la vitesse des changements biochimiques des aliments frais ou transformés.

- la pasteurisation : le lait subit une pasteurisation pendant 20 secondes, elle est réalisée à l'aide d'un pasteurisateur à plaques ou à tubes, qui fait chauffer le lait jusqu'à 85°C suivi d'un refroidissement rapide à 4 à 6°C pour éviter l'acidification du lait.
- le stockage : le lait pasteurisé refroidi passe dans des tanks de stockage puis dans des conditionneuses automatiques.
- le conditionnement : consiste à la mise du lait dans des sachets d'un litre.
- la commercialisation : les sachets de lait entier pasteurisé sont distribués dans des camions frigorifiques dans différentes régions : Mila, Batna, Constantine...

La production de lait de vache pasteurisé au niveau de la laiterie Numidia se fait selon le diagramme suivant :

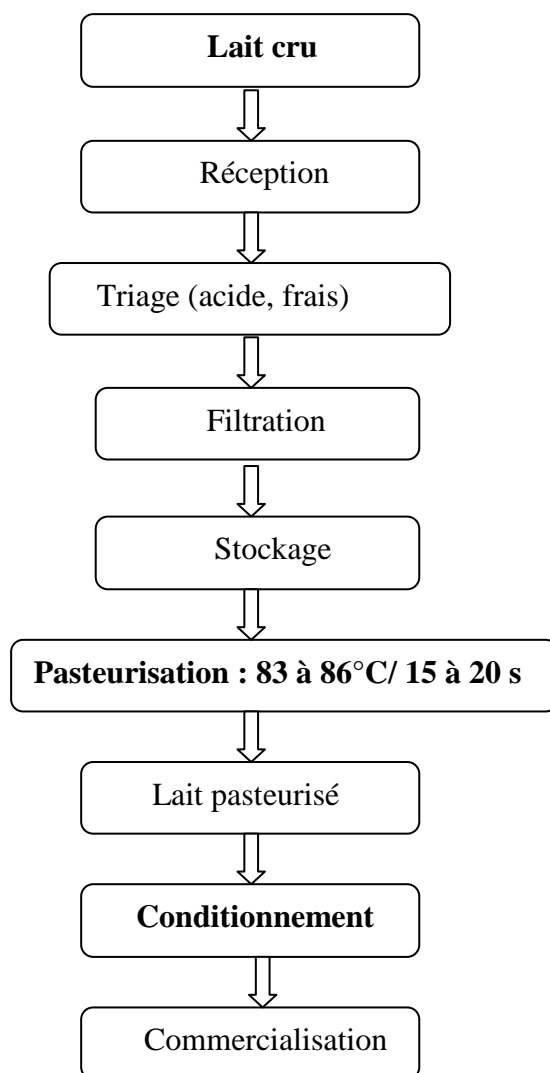


Figure 2. Diagramme de la fabrication du lait au niveau de la laiterie Numidia.

CHAPITRE II

La microflore du lait

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en trois grandes classes : la flore originelle, la flore de contamination et la flore indicatrice d'une mauvaise hygiène. La flore de contamination est subdivisée en deux sous classes : la flore d'altération et la flore pathogène.

1. La flore originelle

La flore indigène des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis (VIGNOLA, 2002). Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 5 000 germes/ml et au moins 1 coliforme/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, lactobacilles et streptocoques lactiques (HERMIER et *al.*, 1992 et LARPENT, 1991).

Les genres dominants de la flore indigène sont principalement des microorganismes mésophiles (VIGNOLA ,2002).

Tableau 2. Flore indigène du lait cru (VIGNOLA ,2002).

Microorganismes	Pourcentage(%)
<i>Micrococcus sp</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus ou lactococcus</i>	<10
Gram négatifs	<10

- Les *micrococcus*

Sont des coques Gram+, immobiles, asporulés, groupés généralement en amas, irréguliers, catalase+, aérobies. Ils sont souvent thermophiles mais ne survivent pas à la pasteurisation (GUIRAUD, 1998), ne fermentent pas le glucose, ils dégradent ce sucre d'une manière oxydative en ne provoquent qu'un abaissement du pH. Ils font également partie de la flore banale de contamination (ALAIS, 1974).

- Les *Lactobacillus*

Sont des bâtonnets droits ou incurvés isolés en chaînettes, en général immobiles (LARPENT, 1997). Gram+, pléomorphes, asporogènes, oxydase et catalase-. Ces bactéries ont des exigences nutritionnelles complexes, leur croissance est bonne dans un milieu à pH 4,5 à 6,4 mais s'arrête à pH 4,0 à 3,6 (BOURGEOIS et LARPENT, 1996).

- Les streptocoques

Sont des cocci Gram+, aérobies ou anaérobies facultatifs, saprophytes en général, immobiles. Le métabolisme est de type respiratoire ou fermentaire avec production d'acide sans gaz à partir du glucose (LARPENT, 1997). L'appellation « streptocoque » regroupe des genres très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminants et surtout comme agents de fermentation lactique (GUIRAUD et ROSEC, 2004).

Ces bactéries ont en général des besoins complexes en facteurs de croissance : vitamines B, acides aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques. C'est l'une des raisons qui explique leur abondance dans un milieu aussi riche que le lait.

Les milieux de culture seront complexes et riches et il sera difficile d'obtenir de bons milieux sélectifs (BOURGEOIS et LARPENT, 1996).

2. La flore de contamination

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation. On considère comme flore contaminante d'altération et pathogène du lait, l'ensemble des microorganismes qui s'ajoutent au lait extrait du pis de la vache (VIGNOLA, 2002).

Le lait peut se contaminer par des apports microbiens d'origines diverses :

- fèces et téguments de l'animal : coliformes, entérocoques, *Clostridium* et éventuellement entérobactéries pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*) etc.
- sol : *Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques, etc.
- litières et aliments : flore banale variée, en particulier *Lactobacilles* et *Clostridium* butyriques (ensilages).

- air et eau : flores diverses dont *Pseudomonas* et bactéries sporulées.
- équipement de traite et de stockage du lait : flore lactique, Microcoques, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* et levures.
- manipulateurs : staphylocoques des mains, germes d'expectoration et de contamination fécale.

Parmi ces microorganismes, il en est d'inoffensifs, d'autres de dangereux du point de vue sanitaire, d'autres enfin sont capables d'entraîner la détérioration du lait (BOURGEOIS et al., 1996). On cite parmi eux :

- *Shigella*

Les *Shigella* sont des entérobactéries bacilles à Gram négatifs, aéro-anaérobies ou anaérobies facultatifs, oxydase-, adaptées à l'homme, agents d'une maladie diarrhéique aiguë (DELARRAS, 2007). Elles sont génotypiquement très voisines des *Escherichiae*, leur principal réservoir est l'homme ; elles ne font pas partie de la flore intestinale normale ; on ne les trouve que chez les malades, les convalescents et les porteurs sains (GUIRAUD et ROSEC, 2004). Toujours pathogènes, elles sont surtout transmises par l'eau et par les aliments crus de pH neutre, la dose infectante peut être très faible : 10 à 100 bactéries (GUIRAUD, 1998).

- *Listeria*

Sont des bâtonnets courts et réguliers, à extrémité arrondie isolés ou en chaînettes Gram+ parfois Gram-, mobiles, anaérobies facultatifs, provoquent la listériose humaine (DELARRAS, 2007). Ce sont des germes peu exigeants et très résistants, psychrophiles (croissance de 0 - 1 à 45°C), halophiles et relativement thermorésistants c'est-à-dire pouvant échapper à la pasteurisation (GUIRAUD et ROSEC, 2004).

- *Clostridium*

Sont des bacilles à Gram+, sporulés, immobiles, cultivant en anaérobiose (LARPENT, 1997). Les cultures âgées peuvent apparaître Gram -. Ils se multiplient facilement sur les milieux ordinaires, en général mésophiles, très répandus dans la nature, en particulier dans le sol ; ils contaminent de nombreux produits : eau, lait, viande, poisson, conserves alimentaires... (GUIRAUD et ROSEC, 2004).

Ils sont présents dans le lait par l'intermédiaire des fèces, du sol, etc (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

- Les entérocoques

Des cocci ovalaires isolés en diplocoques, Gram+, immobiles, anaérobies facultatifs, catalase- (DELARRAS, 2007). Le métabolisme fermentaire peut donner à partir des glucides des acides lactiques. Les besoins nutritionnels sont souvent complexes (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

2.1. La flore d'altération

Incluse dans la flore contaminante, la flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence et réduira la vie du produit laitier (VIGNOLA, 2002). Nombreuses sont les espèces bactériennes du lait cru capables de dégrader le lactose, les protéines ou les lipides de cette matière première.

La flore dominante est constituée de trois groupes microbiens : les bactéries coliformes (*E coli* et *Hafnia alvei*), les *Pseudomonas* du groupe fluorescent psychrotrophe et les streptocoques lactiques (JACQUET et VEISSEYRE, 1987) :

- les coliformes

Les bactéries coliformes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et indiquent le plus souvent une pollution d'origine fécale (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981). Ces germes sont presque toujours présents dans le lait, mais leur nombre peut être très réduit dans les bonnes conditions de travail. Ils sont indésirables et produisent outre des acides et des gaz, des odeurs gênantes et parfois des substances visqueuses (ALAIS, 1974).

Leur présence est cependant un bon indice de mauvaise condition hygiénique pendant ou après la transformation de l'aliment (BONNEFOY et *al.*, 2002).

- les *Pseudomonas*

Ce sont des bâtonnets de 0,5 à 1µm de diamètre, aérobies stricts, mobiles avec flagelle, mésophiles, oxydase et catalase positifs, espèce ubiquitaire et multi-résistante à la plupart des antibiotiques. Souvent psychrotrophes et souvent responsables d'altération de nombreux

produits, ces bactéries peuvent être dénombrées dans les matières premières et les produits finis (LARPENT, 1997).

2.2. La flore pathogène

La présence des germes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme (VIGNOLA, 2002).

Parmi les bactéries pathogènes qui peuvent être retrouvées dans le lait cru, certaines y sont habituellement à un très faible niveau et ont peu de chance de se développer (*Brucella*, *Campylobacter fetus* et *Salmonella*). D'autres sont à un niveau appréciable et, malheureusement, peuvent se multiplier, c'est le cas des bactéries mésophiles, telles qu'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ou l'espèce psychrotrophe *Yersinia enterocolitica* (JACQUET et VEISSEYRE, 1987).

- *Brucella*

Ce sont de petits coccobacilles à Gram négatifs, immobiles, aérobies à oxydase positif, toutes les espèces sont pathogènes, donnant une maladie animale qui est transmissible à l'homme. Il s'agit de la brucellose ou fièvre de Malte, qui peut être chronique ou aiguë. Les *Brucella* peuvent être transmises par les aliments carnés et le lait cru (GUIRAUD, 1998).

- *Campylobacter*

Sont des bacilles fins à Gram négatifs, incurvés en forme de virgule, mobiles par flagelles polaires, généralement microaérophiles, oxydase+, toutes les espèces mésophiles se développent à 37°C (DELARRAS, 2007).

- *Salmonella*

Sont des entérobactéries lactose-. La contamination des produits alimentaires peut être originelle (animaux malades) ou provenir de manipulateurs malades ou porteurs sains de germes.

Les salmonelles étant des bactéries dangereuses responsables d'un grand nombre des troubles d'origine alimentaire, elles ne doivent pas être présentes dans un aliment, toutes les

variétés d'aliments sont susceptibles d'être contaminées, mais on retrouve les *Salmonella* dans les produits d'origine animale surtout le lait, les œufs et la viande (GUIRAUD, 1998).

Ces gastro-entérites ou salmonelloses se manifestent par des diarrhées, vomissements et de la fièvre qui apparaissent 8 à 10 heures après l'ingestion d'un aliment contaminé (DELARRAS, 2007).

- *Escherichia coli*

C'est une entérobactérie lactose+, gazogène, réalisant une fermentation d'acide mixte, elle produit de l'indole (GUIRAUD, 1998). C'est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud ; c'est un coliforme fécal, germe indicateur de contamination fécale dans les aliments (DELARRAS, 2007).

Les souches d'*Escherichia coli* sont responsables d'infections chez l'homme : les enterotoxinogènes, les enteroinvasives, les enterohémorragiques et les enteropathogènes sont différentes de celles qui constituent l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie des adultes et des enfants (DELARRAS, 2007).

- *Staphylococcus*

Les staphylocoques sont des cocci à Gram+ anaérobies facultatifs de 0,1 à 1µm de diamètre, usuellement associés par paires ou en forme de grappes de raisins, avec un métabolisme à la fois respiratoire et fermentaire, ubiquitaire présents dans l'air, le sol et les eaux. Ils colonisent l'homme et les animaux et font partie de leur flore commensale de la peau et des muqueuses (BOUSSEBOUA, 2005). Ils provoquent aussi la fermentation acidifiante du glucose avec abaissement marqué du pH (4,3 à 4,5) des aliments (ALAIS, 1974).

- *Yersinia enterocolitica*

Bactérie ubiquitaire (sol, eau, animaux), responsable de gastro-entérites aiguës et de syndromes pseudo-appendiculaires chez les enfants. La source de contagion humaine est le plus souvent alimentaire, mais elle est aussi favorisée par l'existence de porteurs sains (DELARRAS, 2007).

3. La flore indicatrice d'une mauvaise hygiène à la production

Le lait contient habituellement moins de 10^4 bactéries/ml, un nombre supérieur peut donc être considéré comme un indice d'une mauvaise hygiène à la ferme. Mieux, on a observé que deux des causes principales de pollution du lait à la ferme (matériel en mauvais état ou mal nettoyé ou conservation du lait dans de mauvaises conditions), se caractérisaient par une flore bactérienne relativement spécifique : la flore thermorésistante pour le matériel et *Pseudomonas* pour une multiplication de la flore dans le lait mal conservé (JACQUET et VEISSEYRE, 1987).

CHAPITRE III

Les résidus d'antibiotiques

Selon ROZIER *et al.* (1985), la présence d'antibiotiques dans les aliments pose des problèmes très généraux d'ordre toxique et d'ordre microbiologique.

Ces résidus sont des substances d'origine naturelle, semi-synthétique ou synthétique douées d'une activité antibactérienne (SINGLETON, 2005) pouvant bloquer le développement ou la multiplication de certains microbes (BOUDIER et LUQUET, 1981), et actifs à des concentrations faibles, de l'ordre du $\mu\text{g.cm}^{-3}$ (JOFFIN et LEYRAL, 2006).

Les antibiotiques peuvent être soit bactéricides : détruisent ou tuent les bactéries ou bactériostatiques : inhibent la croissance bactérienne (MADIGAN et MARTINKO, 2007).

Tableau 3. Les antibiotiques bactéricides et les antibiotiques bactériostatiques (JOFFIN et LEYRAL, 2006).

Bactéricides	Bactériostatiques
β -lactamine	Phénicolés
Vancomycine	Tétracyclines
Polypeptides	Macrolides et lincosamides
Aminosides	Acide fusidique
Streptogramines	Sulfamides
Quinolones	Rifampicines
5-Nitro-imidazolés	Synergistines

1. Mode d'action

Les différentes molécules d'une même famille partagent le même site d'action sur la paroi bactérienne (synthèse du peptidoglycane), au niveau des synthèses protéiques ou des réplifications de l'ADN.

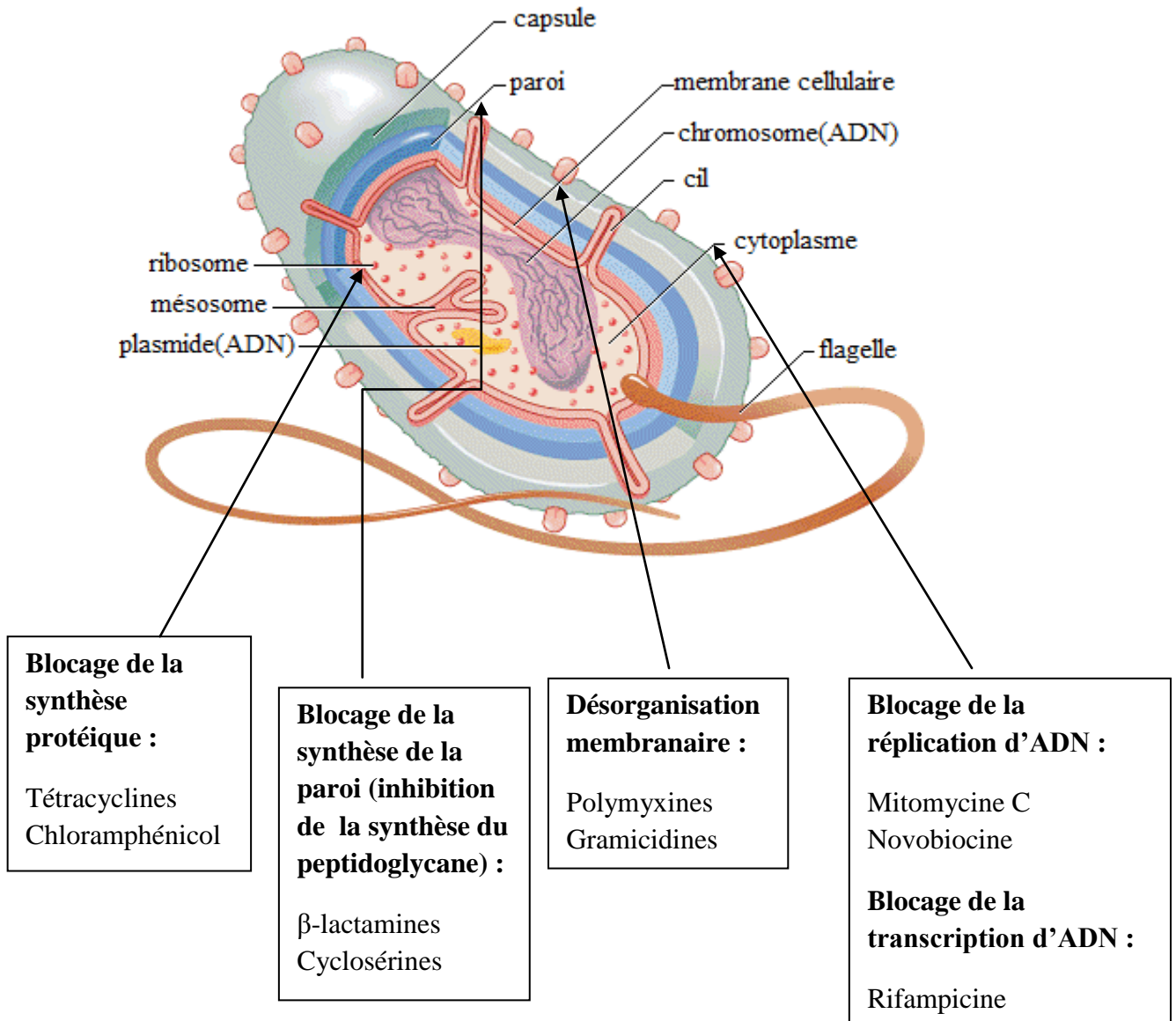


Figure 3. Sites d'action des antibiotiques (JOFFIN et LEYRAL, 2006).

2. Les mammites

Les mammites ou mastites sont des inflammations de la glande mammaire. Elles peuvent être causées par divers microorganismes et surviennent chez toutes les espèces domestiques. Les mammites peuvent être dangereuses pour l'homme qui consomme du lait contaminé ou contenant des antibiotiques (HUNTER et *al.*, 2006).

Il convient de bien distinguer les mammites cliniques, aiguës ou chroniques, qui posent un problème médical, et les mammites subcliniques, les plus fréquentes, qui posent un

problème économique grave, en raison de leurs répercussions sur la production laitière et l'industrie fromagère (FONTAINE, 1992).

Beaucoup de microorganismes sont en mesure d'entraîner des mammites, mais les plus couramment impliqués sont des espèces des genres *Staphylococcus* et *Streptococcus* (HUNTER et al., 2006).

3. Exemples d'antibiotiques utilisés dans le traitement des mammites

Les antibiotiques les plus couramment utilisés dans le traitement des mammites sont :

- la pénicilline qui reste l'antibiotique de choix pour la mammite, à une posologie suffisante (200 000 U.I de pénicillinate de procaïne par injection et par quartier) pour les streptocoques (FONTAINE, 1992).
- on utilise également les Tétracyclines (Auréomycine et Terramycine), la Streptomycine et les Macrolides (la Spiramycine, l'Erythromycine). Ces derniers sont très actifs sur les staphylocoques et moyennement sur les anaérobies (ALAIS, 1974 et FONTAINE, 1992).
- pour les Gram positifs : en dehors de la Pénicilline, la Cloxacilline et la Kanamycine sont les meilleurs.
- pour les Gram négatifs : en dehors de la Streptomycine, la Kanamycine, la Colistine et l'Abimasten sont les meilleurs (CAZENAVE, 1983).

4. La présence des antibiotiques dans le lait

Après un traitement local de la mamelle, le lait de la première traite contient des quantités relativement fortes d'antibiotiques. Ce lait ne doit pas être livré par le producteur (ALAIS, 1974).

La présence d'antibiotiques dans le lait pose des problèmes aussi bien de risques pour la santé publique que de risques d'ordre technologique (inhibition ou destruction des formes lactiques).

4.1. Risques pour la santé publique

Différents risques pour la santé publique sont enregistrés :

- la toxicité fonctionnelle : est celle du chloramphénicol qui a été responsable d'anémies aplasiques chez l'homme (JAQUET ET VEISSEYRE, 1987).

- la réaction allergique : beaucoup d'antibiotiques sont capables de provoquer des réactions allergiques chez des personnes sensibles. Ces réactions sont généralement légères comme une irruption cutanée, des symptômes respiratoires tels que l'asthme et les dermatites.
- l'influence sur la flore intestinale : les antibiotiques influencent la flore intestinale de deux manières : en modifiant sa composition par une inhibition sélective de composants déterminés et en favorisant ou en sélectionnant des microorganismes résistants (MOLL et MOLL, 2002).

4.2. Risques d'ordre technologique

Les résidus d'antibiotiques peuvent aussi empêcher le développement des bactéries lactiques, qui interviennent dans les fabrications de produits laitiers et celui des streptocoques lactiques surtout qui sont très sensibles aux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire. Des doses de pénicilline variant de 20 à 150 U.I par litre de lait sont suffisantes pour perturber une fabrication. Il faut souligner le fait que la pénicilline est très résistante à la chaleur ; elle n'est pas inactivée au cours de la pasteurisation du lait ; elle n'est même pas complètement détruite à l'autoclave (ALAIS, 1974).

5. Méthodes de détection des antibiotiques

Selon VIGNOLA, 2002, on peut répartir les méthodes de détection des antibiotiques en :

5.1. Méthodes de criblage

Elles se basent sur l'inhibition des souches indicatrices par les antibiotiques présents dans le lait. Il s'agit de trois microorganismes à savoir : *Bacillus stearothermophilus*, *Streptococcus thermophilus* et *Bacillus subtilis*. Parmi les tests développés, on cite la méthode de diffusion sur gélose (5 heures), le test « Farm Charm Test », l'ATPmétrie, « Lumac Rapide Test » (30 minutes) et l'Arta microtest (5 heures).

5.2. Méthodes de confirmation

Elles se basent sur la mise en évidence de l'interaction entre certains groupes d'antibiotiques et les récepteurs spécifiques ; le test le plus courant est le *Farm Charm Test*. Ce test permet la détection des β -lactames en quelques minutes.

La compagnie Charm a également développé un test radio-immunologique, utilisant des anticorps spécifiques aux récepteurs des antibiotiques. Ce test extrêmement rapide (10 minutes) permet de détecter de très faibles concentrations d'antibiotiques. Récemment, d'autres méthodes immunologiques ainsi que le test ELISA, ont permis de détecter rapidement (15 minutes) les β -lactames. Le test Penzyme (est un test enzymatique colorimétrique très rapide) permet la détection de β -lactames en 20 minutes.

Quelque soit le test utilisé, il y a lieu de confirmer les résultats positifs par des techniques généralement spécifiques. Parmi ces tests, il y a les techniques de chromatographie en couche mince, développées essentiellement pour la détection des β -lactames (HERBST, 1989).

6. La recherche des antibiotiques au niveau de la laiterie Numidia

Parce que l'utilisation des Tétracyclines et des β -lactames pour la gestion de la mammite dans les troupeaux laitiers a augmenté dans certaines régions, la nécessité d'un seul test pour détecter simultanément les deux groupes d'antibiotiques a également augmenté.

C'est pourquoi la laiterie Numidia, utilise une méthode rapide : la Beta Star Combo à cause de sa capacité à tester les deux principaux groupes d'antibiotiques les β -lactames et les Tétracyclines en seulement cinq minutes.

- Les β -lactames : un des groupes d'antibiotiques les plus importants, historiquement et médicalement, est le groupe d'antibiotiques à cycle β -lactame, qui compte des composés importants comme les Pénicillines, les Céphalosporines et les Céphamycines (MADIGAN et MARTINKO, 2006). Les bêta-lactames agissent en perturbant la synthèse de l'enveloppe cellulaire dans les cellules en croissance (SINGLETON, 2005).

- Les Tétracyclines : étaient les premiers antibiotiques à large spectre, inhibant presque toutes les bactéries Gram positifs et Gram négatifs (MADIGAN et MARTINKO, 2006). Ils perturbent la synthèse des protéines en se liant aux ribosomes (SINGLETON, 2005).



Figure 4. Test Bêta Star Combo pour la détection des β -lactames et des Tétracyclines (www.chr-hansen.com).

7. Législation

En raison des risques liés à la présence des antibiotiques dans le lait (perturbation de la fabrication fromagère, antibiorésistance, mais surtout allergie, tout spécialement à la pénicilline), l'antibiothérapie intramammaire est soumise à une législation particulière. Les laits qui renferment des antiseptiques ou des antibiotiques sont interdits à la vente en France (Décret du 4.1.1971 entré en application le 1.1.1980).

Le lait ne peut donc être livré à la consommation qu'après un délai d'attente, variable selon les antibiotiques, qui doit être précisé sur chaque préparation (FONTAINE, 1992).

PARTIE
EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

1. Analyse bactériologique du lait

L'analyse bactériologique du lait est une étape importante qui vise d'une part à contrôler les caractères organoleptiques et sensoriels du lait, donc d'allonger sa durée de vie et d'autre part, à prévenir les cas d'empoisonnement alimentaire liés à leur transmission au consommateur.

Sur le plan microbiologique, nous avons effectué le dénombrement et la recherche des microorganismes susceptibles d'évoluer dans le lait et qui sont cités dans l'Arrêté Interministériel (Ministère de l'Economie, Ministère de l'Agriculture et Ministère de la Santé et de la Population) du 27 mai 1998 du Journal Officiel Algérien relatif aux spécifications de certaines denrées alimentaires.

Les germes dont la recherche est exigée par le Journal Officiel Algérien sont :

- la flore totale aérobie mésophile (FTAM).
- les coliformes totaux.
- les coliformes fécaux.
- les *Staphylococcus aureus*.
- les *Salmonella sp.*

Le contrôle microbiologique est effectué sur des milieux solides ou liquides, les dénombrements bactériens sont réalisés sur une gamme de plusieurs dilutions successives pour un échantillon donné. Les cultures comprenant entre 30 et 300 colonies sont alors retenues pour l'expression finale des résultats.

1.1. Préparation des échantillons

Cinq échantillons (E₁, E₂, E₃, E₄, E₅) du lait cru pasteurisé et conditionné provenant de la laiterie Numidia ont été analysés. Ces échantillons ont été prélevés successivement les 11,12, 17, 18 et 19 mars 2014.

D'après le Journal Officiel du 27 octobre 1993 Arrêté n°69, le prélèvement du lait cru pasteurisé doit être effectué comme suit :

- 1 ou 2 sachets sont pris au hasard.
- ils sont nettoyés à l'eau du robinet pour éliminer les souillures collées à l'emballage.

- ils sont agités successivement afin d'obtenir un mélange homogène.
- les sachets sont désinfectés avec un coton hydrophile imbibé d'alcool chirurgical à 60°C.
- l'un de côté des sachets est coupé à l'aide de ciseaux désinfectés par l'alcool et flambés.
- 1 ml du lait cru pasteurisé est prélevé aseptiquement de chaque sachet.

1.2. Technique des dilutions

Les dilutions décimales sont réalisées pour les milieux qui sont très riches en microorganismes. Pour faciliter le dénombrement, on utilise un diluant : l'eau peptonée comme suit (BONNEFOY et *al.*, 2002) :

- les dilutions 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} et 10^{-4} sont réalisées dans un volume de 9 ml de diluant en tubes à essais.
- 1 ml de la suspension mère est transféré aseptiquement dans le premier tube 10^{-1} , la pipette ne devant pas pénétrer dans le diluant.
- à l'aide d'une deuxième pipette stérile de 1 ml, à partir du tube à la dilution 10^{-1} est prélevé puis transféré 1 ml dans un tube contenant 9 ml de diluant.
- il est procédé de la même façon pour les deux derniers tubes, en utilisant à chaque prélèvement une pipette nouvelle.

1.3. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés sont ceux de l'Institut Pasteur d'Algérie.

1.3.1. Les milieux gélosés :

- Milieu plate count agar (PCA) : est utilisé pour la recherche et le dénombrement de la flore totale aérobic mésophile.
- Milieu gélosé au désoxycholate-lactose (DCL) : est utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.
- Milieu de Baird Parker : milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des *Staphylococcus aureus*.
- Milieu viande-foie (VF) : utilisé pour le dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs.
- Gélose SS (*Salmonella-Shigella*) : utilisée pour le dénombrement des Salmonelles.

1.3.2. Les milieux liquides

- L'eau peptonée : est utilisée comme diluant.
- Le bouillon de Gioliti et Cantoni.
- Le bouillon au sélénite de sodium SFB.
- Le bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) : est utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.

1.4. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

GUIRAUD en 1998 a montré que cette flore appelée aussi FTAM (flore totale aérobie mésophile générale revivifiable) est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits. Ainsi le nombre des germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de la qualité sanitaire du produit.

La flore totale aérobie mésophile est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banals de contamination (GUIRAUD et ROSEC., 2004), capables de se multiplier en présence d'oxygène à une température située entre 25 et 40°C (BONNEFOY *et al.*, 2002).

Les microorganismes aérobies-anaérobies facultatifs se développent dans un milieu nutritif gélosé défini non sélectif incubé à 30°C pendant 72h, ils apparaissent sous forme de colonies de tailles et de formes différentes (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

- Le milieu de culture PCA est préparé en le mettant dans un bain-marie, ensuite il est refroidi à 45°C devant un bec Bunsen et sur une paillasse bien stérile.
- 1 ml de la dilution choisie (10^{-2} , 10^{-3}) est ajouté dans une boîte de Pétri vide stérile, ensuite 12 - 15 ml du milieu gélosé (PCA) est coulé et mélangé soigneusement en faisant des mouvements de huit pour réaliser un ensemencement homogène.
- Les deux boîtes de Pétri sont ensemencées par dilution et laissées se solidifier.
- Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24 à 72h.

Après l'incubation, toutes les colonies sont dénombrées sur les boîtes qui contiennent de 30 à 300 colonies et les résultats par dilution dénombrée sont reportés.

La formule suivante permet le calcul des microorganismes par ml (BONNEFOY et *al.*, 2002) :

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,2 n_2)d} \cdot \frac{1}{v}$$

$\sum c$ = nombre total de colonies dénombrées arrondi à 2 chiffres significatifs.

n_1 = nombre de boîtes utilisées à la première dilution retenue.

n_2 = nombre de boîtes utilisées à la deuxième dilution retenue.

d = dilution à partir de laquelle les premiers comptages ont été réalisés (dilution la plus faible).

V = volumeensemencé en ml.

1.5. Recherche et dénombrement des coliformes

Selon la norme ISO 4831 de juillet 1991, le terme coliforme correspond à « des organismes en bâtonnets, non sporogènes, à coloration de Gram négative, aérobies ou facultativement anaérobies, capables de croître en présence de sels biliaries ou d'autre agents de surface possédant des activités inhibitrices de croissance similaire et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures, à des températures de 30 à 37 °C (GUIRAUD,1998).

Les bactéries coliformes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et indiquent le plus souvent une pollution d'origine fécale (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

On appelle coliformes thermotolérants et parfois coliformes fécaux, les bactéries produisant du gaz à partir de lactose à 44°C (GUIRAUD ,1998).

Les dénombrements des coliformes totaux et fécaux sont réalisés en milieu solide et également en milieu liquide.

1.5.1. En milieu solide

La gélose au désoxycholate lactose est un milieu sélectif qui permet de dénombrer les bactéries coliformes. Ces espèces en fermentant le lactose apparaissent sous forme de colonies rouges foncé d'un diamètre d'au moins 0,5 millimètre (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

- 1 ml de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2}) est ajouté à l'aide d'une pipette stérile graduée dans deux boîtes de Pétri.
- Une quantité suffisante du milieu DCL est coulée, mélangée soigneusement puis laissée se solidifier.
- Une deuxième couche fine de gélose DCL est coulée. Elle est laissée se solidifier à nouveau, les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24h.

Après l'incubation, les colonies caractéristiques des coliformes sont d'un rouge foncé, de 0,5 mm de diamètre pour les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies.

Le nombre de bactéries coliformes par ml est donné par la formule suivante (BONNEFOY et al., 2002) :

$$N = C \cdot \frac{1}{d}$$

C : nombres de colonies

d : facteur de dilution

1.5.2. En milieu liquide

Dénombrement des coliformes totaux (bouillon lactosé bilié au vert brillant BLBVB).

Un ml de la solution mère et les différentes dilutions est inoculé dans chacun des deux tubes de bouillon lactosé bilié au vert brillant contenant des cloches à gaz de Durham (vérifier que les cloches de Durham ne contiennent pas de bulles d'air) (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981). Les tubes sont incubés à 30°C pendant 24 à 48h. Le caractère positif se traduit par un dégagement de gaz (GUIRAUD, 1998). La moyenne arithmétique est calculée à partir de la table du NPP (Nombre le Plus Probable) ou table de Mac Grady.

Dénombrement des *E. coli* et/ou coliformes fécaux (test de Mackenzie)

Il consiste àensemencer à partir d'un tube positif de BLBVB du test présomptif un tube de milieu neuf de BLBVB avec cloche de Durham et un tube d'eau peptonée exempte d'indole.

Après incubation pendant 24h à 44°C, un dégagement gazeux dans les tubes de BLBVB et la production d'indole à partir du tube d'eau peptonée traduisent la présence d'*Escherichia coli*.

1.6. Recherche des *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est un microorganisme formant des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques, en surface d'un milieu de culture sélectif et donnant une réaction fortement positive à la coagulase (BONNEFOY et al., 2002).

Le milieu d'enrichissement liquide (Giolitti Cantoni) est ensemencé dans un tube à essais et incubé à 37°C pendant 24h et après culture positive (c'est-à-dire noircissement), un autre milieu d'isolement (le milieu de Baird Parker) est ensemencé et incubé à 37°C durant 24 à 48h.

1.6.1. Enrichissement

- Un tube contenant 9 ml de bouillon GC est ensemencé avec 1 ml de l'échantillon de lait (solution mère).
- Il est incubé à 37°C pendant 24h.

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un noircissement.

1.6.2. Isolement ou confirmation

- 0,1 ml du contenu du tube positif ayant noirci est ensemencé par stries en surface sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose de Baird Parker additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium.
- Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

Les colonies caractéristiques bien isolées les unes des autres sont de couleur noire ou légèrement grise bordée d'un liséré blanc, entourée d'un halo éclaircissant le milieu. On compte les boîtes contenant moins de 150 colonies (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

1.7. Recherche et dénombrement des Salmonelles

Les salmonelles sont des bactéries à Gram négatif, de type aérobie-anaérobies facultatifs appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

Bien que leur présence soit rare dans les produits laitiers alimentaires, leur recherche est systématique vu leur implication dans de très graves toxi-infections. Leur recherche est basée sur le fait que ces dernières ne fermentent pas le lactose et que leur nombre est faible.

1.7.1. Le pré-enrichissement (non sélectif)

- Est réalisé par ensemencement de 0,1 ml de suspension mère dans un tube contenant 9 ml d'eau peptonée.
- Il est incubé à 37°C pendant 24h.

1.7.2. L'enrichissement (sélectif)

- 1 ml du mélange de pré-enrichissement est ensemencé dans un tube de bouillon au sélénite (SFB).
- Il est incubé à 37°C pendant 24h.

1.7.3. L'isolement (sélectif)

- 0,1 ml de la solution (SFB) noircie est ensemencé à la surface d'une boîte de Pétri contenant la gélose SS (*Salmonella-Shigella*).
- La boîte est incubée à 37°C pendant 24 à 48h.

Les Salmonelles se présentent sous forme de colonies translucides avec un centre noir sur le milieu gélose SS.

1.8. Recherche des *Clostridium* sulfito- réducteurs

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs correspondent à la famille des *Clostridiaceae*. Ce sont des bacilles, Gram positif, catalase négative, anaérobies stricts, ils se multiplient facilement sur les milieux ordinaires, ils sont capables de sporuler, la forme et la position de la spore ont une importance taxonomique (GUIRAUD et ROSEC, 2004).

La recherche des *Clostridium* sulfito- réducteurs est effectuée sur des milieux contenant du sulfite de sodium et de l'alun de fer, les *Clostridium* peuvent réduire le sulfite de sodium et donner en présence de fer du sulfure d'où une coloration noire des colonies.

Avant l'utilisation du milieu viande-foie (VF) 0,5 ml du sulfite de sodium et quelques gouttes d'alun de fer sont ajoutés dans un flacon contenant la gélose de VF fondue et homogénéisée par agitation.

- 1 ml de lait est ajouté dans un tube vide stérile. Il est mis dans un bain-marie pendant 10 minutes afin d'assurer la destruction des formes végétatives.
- Il est refroidi rapidement.
- Environ 20 ml de gélose viande-foie sont versés dans le tube qui contient 1 ml de lait pour créer l'anaérobiose.
- L'ensemble est homogénéisé par un mouvement rotatoire vertical, en évitant toute introduction d'air.
- Il est incubé à 37 ou 46°C pendant 24 h.

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs apparaissent sous forme de colonies noires.

2. Recherche des antibiotiques

Les antibiotiques ou les substances inhibitrices se retrouvant dans le lait, inhibent la croissance des bactéries lactiques utilisées comme ferments en retardant et en empêchant le développement des ferments.

Par ailleurs, les antibiotiques peuvent dans les produits laitiers créer des problèmes de santé très graves pour le consommateur de lait et de produits laitiers. C'est pourquoi, les industries laitières recherchent leur présence par différentes techniques.

A la laiterie Numidia, la recherche des antibiotiques est un test fait à la réception du lait cru, avant son acceptation par une méthode rapide appelée Beta Star Combo.

Le test Beta Star Combo est une méthode de type « Receptor Assay » basée sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Il permet la détection rapide dans le lait des résidus de β -lactames et de Tétracyclines.

- 0,2 ml de lait sont mis dans un flacon récepteur.
- Celui ci est incubé à 47,5°C (3 minutes pour les β -lactames et les Tétracyclines).

- Une bandelette est plongée dans le tube et incubée à 47,5°C (2 minutes pour les β -lactames et 3 minutes pour les Tétracyclines).

Deux étapes d'incubation sont réalisées pour l'analyse du lait :

- pendant la première étape d'incubation, si les antibiotiques β -lactames et Tétracyclines sont présents, ils se lient aux récepteurs.
- pendant la seconde étape d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique (membrane fixée à une bandelette) présentant 3 bandes :
 - une bande retient les récepteurs qui n'ont pas de β -lactames.
 - une bande de référence (au milieu).
 - une bande retient les récepteurs qui n'ont pas de Tétracyclines.

L'apparition d'une coloration rouge intense traduit l'absence des antibiotiques.

La lecture se fait selon la coloration des bandes :

- couleur rose : absence des antibiotiques.
- absence de la coloration : présence des antibiotiques correspondant à la bande.

***RESULTATS ET
DISCUSSION***

1. Etude bactériologique

Les analyses microbiologiques du lait cru pasteurisé reposent sur le prélèvement de cinq échantillons différents.

Les résultats des analyses bactériologiques du lait sont comparés avec les normes citées par le Journal Officiel de République Algérienne n°35 du 27 Mai 1998. Ces résultats donnent le dénombrement des flores qui existent dans le lait cru pasteurisé.

Tableau 4. Critères bactériologiques du lait cru pasteurisé.

Germes	Normes UFC/ml
Germes aérobies à 30°C	3. 10 ⁴
Coliformes	10 ¹
Coliformes fécaux	absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
Phosphatase	absence

Celui-ci permet de comparer les résultats des dénombrements effectués par rapport à des critères microbiologiques établis par le JO relatif aux denrées alimentaires.

Le dénombrement est considéré comme satisfaisant lorsque le nombre de microorganismes recherchés est inférieur au nombre m, le seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme satisfaisant et M le seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants (sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique).

M = 10 m lors du dénombrement effectué en milieu solide.

M = 30 m lors du dénombrement effectué en milieu liquide.

1.1. La flore totale aérobie mésophile (FTAM)

On observe différents types de colonies, ces colonies sont de petite et de grande taille de couleurs différentes : blanche ou jaune de forme circulaire et lisse.

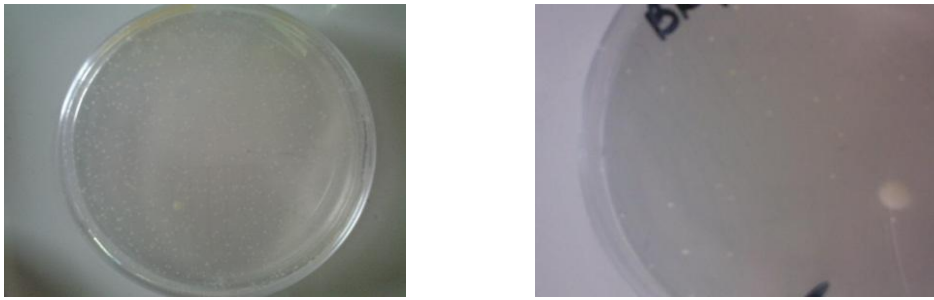


Figure 5. Aspect des colonies des bactéries mésophiles sur le milieu PCA.

La recherche et le dénombrement de la FTAM présentent un intérêt particulier pour l'évaluation de la qualité hygiénique des produits alimentaires d'origine animale. On considère en général qu'il n'y a de risque pour la santé du consommateur que si cette flore est supérieure ou égale à 10^5 microorganismes/ml. Si cette flore dépasse 10^5 à 10^8 microorganismes/ml, elle provoque alors une détérioration visible du produit.

La charge microbienne d'un lait cru traité ou transformé indique son degré de contamination (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

Tableau 5. Dénombrement de la flore totale dans les différents échantillons de lait analysés (UFC/ml).

Echantillon	Nombre N (UFC/ml)
E ₁	$3,4 \times 10^3$
E ₂	$2,5 \times 10^3$
E ₃	$3,2 \times 10^3$
E ₄	$3,7 \times 10^3$
E ₅	$4,5 \times 10^3$
Moyenne	$3,4 \times 10^3$
Normes de la FTAM à 30°C (JO) m : $< 3 \times 10^4$ (UFC/ml) Résultat satisfaisant M : $< 3 \times 10^5$ (UFC/ml) Résultat acceptable	

Le lait cru pasteurisé examiné contient une charge variable de la FTAM, située entre $2,5 \times 10^3$ et $4,5 \times 10^3$ (UFC/ml), avec une moyenne de $3,4 \times 10^3$ (UFC/ml), ce qui est conforme aux normes précédemment citées (Tableau 4) du Journal Officiel.

Cela indique que les cinq échantillons sont de qualité hygiénique satisfaisante.

1.2. Les coliformes

L'estimation des coliformes permet d'apprécier l'importance des contaminations du lait cru, la valeur et l'efficacité de la pasteurisation ; elle révèle également la localisation des contaminations survenant après la pasteurisation, et aussi le risque d'une présence des germes pathogènes (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

1.2.1. Les coliformes totaux

- En milieu solide gélosé au désoxycholate (DCL).

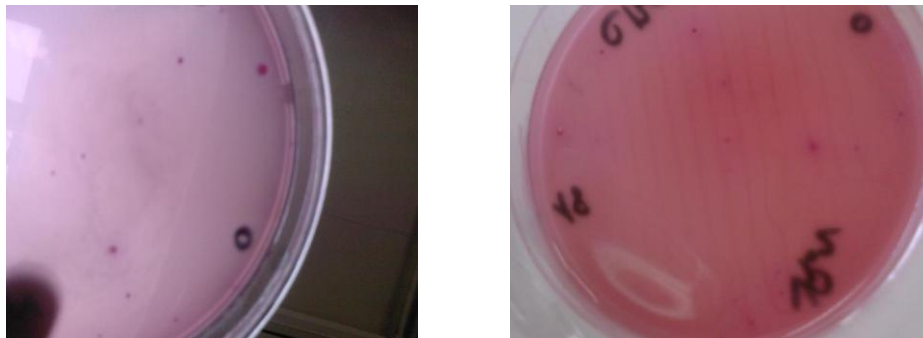


Figure 6. Aspect des colonies des coliformes fécaux sur le milieu DCL.

Les colonies des coliformes fécaux sont de couleur rouge, bombées, circulaires et lisses.

Tableau 6. Dénombrement des coliformes totaux en milieu solide.

Echantillon	Nombre N (UFC/ml)
E ₁	$5,3 \times 10^1$
E ₂	$4,4 \times 10^1$
E ₃	$3,6 \times 10^1$
E ₄	$4,5 \times 10^1$
E ₅	$3,8 \times 10^1$
Moyenne	$4,3 \times 10^1$
Normes (JO) : m : $<10^1$ (UFC/ml) Résultat satisfaisant M : $<10^2$ (UFC/ml) Résultat acceptable	

Pour les cinq échantillons (E₁, E₂, E₃, E₄, E₅) les résultats analytiques sont situés entre $3,6 \times 10^1$ et $5,3 \times 10^1$ (UFC/ml), avec une moyenne de $4,3 \times 10^1$ (UFC/ml), ils sont supérieurs à la valeur « m » sans dépasser la valeur « M » : ce qui est conforme aux normes du Journal Officiel. Cela indique que les cinq échantillons sont de qualité hygiénique satisfaisante.

- En milieu liquide bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB)



Figure 7. Tubes de BLBVB positifs.

Les coliformes ne sont généralement pas pathogènes. La présence des coliformes totaux dans les aliments indique un traitement thermique (pasteurisation du lait) inefficace ou une contamination subséquente au traitement. Les tubes présentant un dégagement gazeux dans la cloche de Durham sont considérés comme positifs.

Tableau 7. Dénombrement des coliformes totaux en milieu liquide.

Echantillon	Nombre N (UFC/ml)
E ₁	$2,5 \times 10^1$
E ₂	$4,5 \times 10^1$
E ₃	$6,0 \times 10^1$
E ₄	$1,3 \times 10^1$
E ₅	3×10^1
Moyenne	$3,4 \times 10^1$
Normes (JO) :	m : $<10^1$ (UFC/ml) Résultat satisfaisant M : $<10^2$ (UFC/ml) Résultat acceptable

Les résultats obtenus sont de $3,4 \times 10^1$ UFC/ml, ils sont supérieurs à la valeur m qui est 10^1 et ne dépassent pas M c'est-à-dire 10^2 UFC/ml donc ils sont en moyenne satisfaisants.

1.2.2. Les coliformes fécaux

Leur présence est un bon indice de mauvaises conditions hygiéniques pendant ou après la transformation de l'aliment.

Les résultats montrent l'absence des coliformes fécaux dans le milieu solide DCL et dans le milieu liquide BLBVB, ce qui est conforme aux normes du Journal Officiel. Cela indique que tous les échantillons sont acceptables.

1.3. Les *Staphylococcus aureus*

L'intoxication staphylococcique est l'une des causes majeures des toxi-infections alimentaires d'origine bactérienne.

Staphylococcus aureus est absent dans tous les échantillons du lait analysés, montrant ainsi leur conformité aux normes bactériologiques du Journal Officiel de 1998. Ces résultats sont donc considérés comme satisfaisants.

L'absence de ce germe confirme le respect des règles d'hygiène : lavage des mains, désinfection des matériels, port d'équipements spécifiques (masques, charlottes...) et aussi absence de contamination post-traitement thermique, avec une efficacité évidente de la pasteurisation.

1.4. Les Salmonelles

Les salmonelles sont la première cause des infections d'origine alimentaire, leur présence dans les produits laitiers pasteurisés peut provoquer de très graves toxi-infections.

Les mesures strictes d'hygiène appliquées pendant la transformation, ainsi que le respect de la chaîne du froid, permettent de limiter les risques de contamination des produits laitiers. Une pasteurisation bien conduite détruit les salmonelles présentes dans le lait.

Les Salmonelles sont absentes dans les cinq échantillons. Ces résultats sont conformes aux normes bactériologiques algériennes.

1.5. Les *Clostridium* sulfito-réducteurs

Est un hôte des intestins de l'homme et de certains animaux, sa présence dans les produits laitiers est à l'origine d'intoxications alimentaires. Les *Clostridium* sulfito-réducteurs peuvent entraîner un gonflement tardif et l'éclatement des fromages.

Aucun résultat positif de présence de *Clostridium* n'a été trouvé pour l'ensemble des échantillons analysés.

En conclusion, l'absence des Staphylocoques, Salmonelles et *Clostridium* dans les cinq échantillons de lait analysés est conforme aux normes Algériennes fixées dans le Journal Officiel, ceci peut s'expliquer par le bon respect des normes d'hygiène générale et aussi par l'efficacité de la pasteurisation qui a pour but de détruire toutes les formes pathogènes dans les produits laitiers.

Tableau 8. Tableau récapitulatif des résultats bactériologiques.

Germes	Moyenne (UFC/ml)	Normes (UFC/ml)
FTAM	$3,4 \times 10^3$	3×10^4
Coliformes totaux		
- Milieu solide	$3,4 \times 10^1$	10^1
- Milieu liquide	$3,4 \times 10^1$	
Coliformes fécaux	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	1
<i>Salmonella</i>	Absence	Absence
<i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	Absence	50

La législation algérienne dans l'article 6 de l'arrêté interministériel du 18 août 1993 est relative aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

Elle exige l'absence des *Staphylococcus aureus*, des *Salmonella* et des *Clostridium* sulfito- réducteurs à 46°C dans le lait de consommation et les produits laitiers.

2. Recherche des antibiotiques

La détection des antibiotiques dans le lait reste une préoccupation majeure de l'industrie laitière. Lors de la détection d'un résultat positif en substances inhibitrices du lait d'une exploitation, celui-ci ne peut plus être collecté par l'acheteur avant qu'il n'ait été contrôlé et afin de montrer qu'il est désormais exempt de toute trace de substances inhibitrices.

Pour cette raison, la législation algérienne dans sa définition du lait, dans l'article 6 de l'arrêté interministériel du 18 août 1993 mentionne le fait qu'un lait propre à la consommation humaine ne doit pas contenir de résidus d'antibiotiques mais ne précise pas explicitement les limites maximales de résidus.

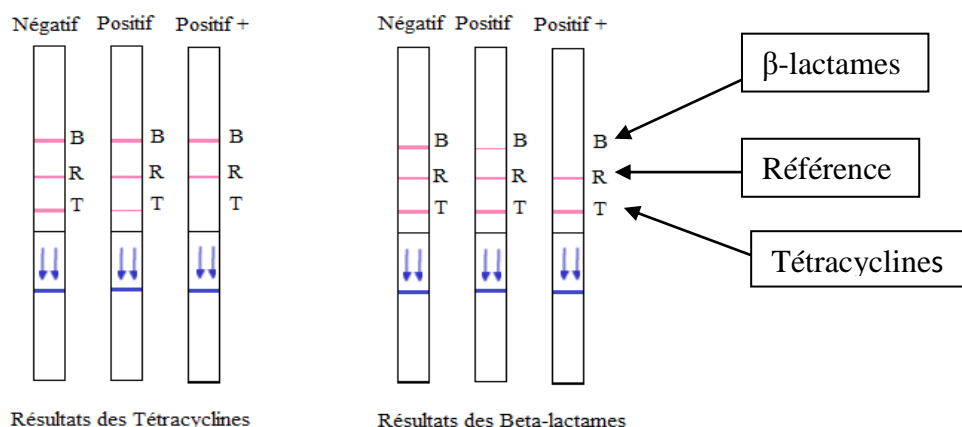


Figure 8. Lecture des résultats pour les β -lactames et les Tétracyclines.

Si la 1^{ère} et la 2^{ème} bande ont une intensité :

- supérieure à celle de la bande de référence : l'échantillon ne contient pas ou peu de résidus de substances inhibitrices de la famille des β -lactames et/ ou Tétracyclines. Le résultat est négatif.
- égale ou inférieure à celle de la bande référence : l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille des β -lactames et/ou Tétracyclines. Le résultat est positif.
- très faible ou est absente : l'échantillon contient des substances inhibitrices de la famille des β -lactames et/ou Tétracyclines. Le résultat est positif.

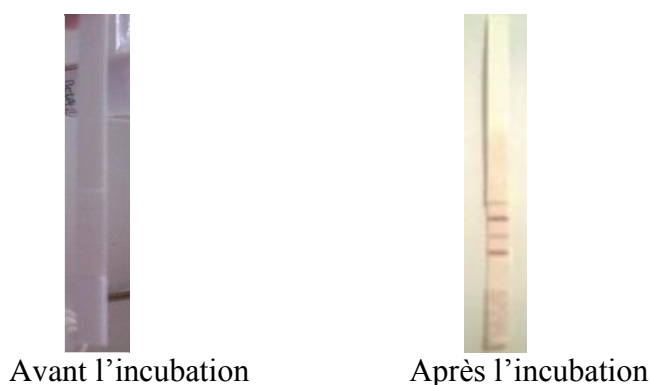


Figure 9. Résultat négatif (absence des β -lactames et des Tétracyclines) pour tous les échantillons analysés.

Dans le cas de nos échantillons E₁, E₂, E₃, E₄, et E₅ l'intensité des bandes des β -lactames et des Tétracyclines sont supérieures à celle de la bande référence, ce qui signifie l'absence de résidus d'antibiotiques dans tous les échantillons analysés. Les résultats sont donc considérés comme satisfaisants.

Conclusion

L'analyse bactériologique et la recherche des résidus d'antibiotiques deviennent une étape importante dans l'évaluation de la qualité du lait ; pour mieux consommer le lait cru, il est important de veiller sur une qualité meilleure depuis la traite jusqu'au stade du produit fini.

A cet effet, notre étude s'est voulue une recherche des résidus d'antibiotiques et un contrôle bactériologique du lait cru pasteurisé produit par la laiterie Numidia.

En ce qui concerne les antibiotiques, les résultats de l'analyse de nos échantillons indiquent l'absence des deux familles d'antibiotiques recherchés : les β - lactames et les Tétracyclines. S'il y a détection d'un résultat positif en substances inhibitrices du lait d'une exploitation, celui-ci ne peut plus être collecté par l'acheteur avant qu'il n'ait été contrôlé et afin de montrer qu'il est désormais exempt de toute trace de substances inhibitrices.

Les indicateurs de la qualité hygiénique à savoir la flore totale aérobie mésophile (FTAM) dont le dénombrement est en moyenne $3,4 \times 10^3$ UFC/ml et les coliformes totaux dont le dénombrement indique $4,3 \times 10^1$ UFC/ml sur milieu solide et $3,4 \times 10^1$ UFC/ml sur milieu liquide, sont présents successivement à des moyennes inférieures aux normes algériennes c'est-à-dire : 3×10^4 UFC/ml pour la flore totale aérobie mésophile et 10^1 UFC/ml pour les coliformes totaux. Parmi ces derniers, il y a absence totale de coliformes fécaux.

Ces échantillons sont donc considérés comme étant de qualité hygiénique acceptable.

Par ailleurs, la recherche de microorganismes pathogènes indique l'absence totale de *Staphylococcus*, *Clostridium* et *Salmonella* dans tous les échantillons analysés ; ce qui démontre un bon respect des conditions d'hygiène.

Ainsi, les résultats de notre étude montrent que le lait cru pasteurisé produit au niveau de la laiterie Numidia satisfait aux critères donnés par le Journal Officiel du 27 Mai 1998 ce qui témoignerait des bonnes conditions hygiéniques de sa traite, de son transport à l'usine et enfin de sa pasteurisation.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADRIAN J., POTUS J. et FRANGNE R., 1995

La science alimentaire de A à Z. p 246. 2^{ème} Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

ALAIS C., 1974

Science du lait. 3^{ème} éd. P 215, 300, 334, 396, 402, 779.Ed. SEP

BONNEFOY C., GUILLET F., LEYRAL G. et BOURDAIS E-V., 2002

Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire. In : Science des aliments. p 45, 79, 83, 103. Ed. Doin.

BOUDIER J-F et LUQUET F-M., 1981

Dictionnaire laitier. p 9. 2^{ème} Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

BOURGEOIS C.M., MESCLE J-F. et ZUCCA J., 1996

Microbiologie alimentaire aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Vol 1. p 272, 275, 277, 281, 289. Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

BOURGEOIS C.M. et LARPENT J.P, 1996

Microbiologie alimentaire. Tome2. p4, 16^e Ed .Tec. et Doc. Lavoisier

BOUSSEBOUA H., 2005

Eléments de microbiologie. p 171, 172. 2^{ème} Ed. Campus Club

CAZENAVE M., 1983

Guide thérapeutique vétérinaire. p 622. 3^{ème} Ed. Cornouaille Editions

CHEFTEL J .C. et CHEFTEL H., 1976

Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Vol 1.p 37, 42. Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

DELARRAS C., 2007

Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. p 211, 248, 250,252, 253, 298, 299, 393. Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

FONTAINE M., 1992

Formulaire vétérinaire de Pharmacologie, de Thérapeutique et d'hygiène. Volume 3. p 1103, 1109, 1114. Ed. ONDA

GUIRAUD J-P., 1998

Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyses microbiologiques. p 82, 83, 88. Ed. Dunod

GUIRAUD J-P. et ROSEC J-P., 2004

Pratique des normes en microbiologie alimentaire. p 96, 136, 183,199, 200, 238. AFNOR. France

HENTER A., UILENBERG G. et MEYER C., 2006

La santé animale : Principales maladies. Volume II. p 242-243. Ed. Queae

HERMIER J., LENOIR J. et WEBER F., 1987

Les groupes microbiens d'intérêt laitier. CEPIL Paris

JACQUET J. et VEISSEYRE R., 1987

Le lait matière première de l'industrie laitière. p 187, 188, 189, 225

JEANTET R., CROGUENNEC T., SCHUCK P. et BRULE G., 2007

Du lait aux produits laitiers. In : Science des aliments. Vol 2.p 7, 12, 17. Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

JEANTET R., CROGUENNEC T., MAHAUT M., SCHUCK P. et BRULE G., 2008

Les produits laitiers. p 2. 2^{ème} Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

JEANTET R., BRULÉ G. et DELAPLACE G., 2011

Génie des procédés appliqué à l'industrie laitière .p 60. 2^{ème} Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

JOFFIN J.-N. et LEYRAL G., 2006

Microbiologie technique .Tome I. dictionnaire des techniques. p 15, 23. 4^{ème} Ed. Scéén

JOURNAL OFFICIEL N° : 69 du 27/10/1993

Arrêté Interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation

JOURNAL OFFICIEL N° : 35 du 27/05/1998

Arrêté interministériel du 24 janvier 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires

LARPENT J.P., 1991

Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires (Produit laitiers et carnés).
APRIA Paris

LARPENT J.-P., 1997

Microbiologie alimentaire techniques de laboratoire. p 128, 200, 338. Ed. Tec. et Doc.
Lavoisier

MADIGAN M. et MARTINKO J., 2007

Biologie des micro-organismes. p 686, 703, 705. 11^{ème} Ed. ISBN

MOLL M. et MOLL N., 2002

Sécurité alimentaire du consommateur. p 84. 2^{ème} Ed. Tec. et Doc. Lavoisier

ODET G., CERF O., CHEVILLOTE J., DOUARD D., GILLIS J. et HELIANE E., 1976

La maîtrise de la qualité du lait stérile U.H.T. p 173 .Ed. APRIA

PETRANSXIENE D. et LAPIEDE L., 1981

La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers : Analyses et tests. p 41, 50, 51, 68,79. 2^{ème} Ed. Tec. et Doc. Lavoisier. Paris

ROSIER J., CARLIER V. et BOLNOT F., 1985

Base microbiologique de l'hygiène des aliments. p 88. ANIOS

SINGLETON P., 2005

Bactériologie pour la médecine, la biologie et la biotechnologie. p 454, 455,459. 6^{ème} Ed

VIERLING E., 2008

Aliments et boissons, filières et produits. In : Science des aliments. p 119. 3^{ème} Ed. Doin

VIGNOLA C., 2002

Science et technologie du lait : La fraction de technologie laitière du Québec-ing. p 25, 58, 61, 89, 90, 144, 145. Ed. Ecole Polytechnique de Montréal

REFERENCES WEBOGRAPHIQUES

www.chr-hansen.com.

Absract

To avoid risks to public health and the risks of technological, raw milk collected happens to the dairy Numidia undergoes immediate control for the detection of residues of antibiotics : β -lactamine and Tetracycline by Quick Beta Star Combo method. The five samples analyzed show no residues of β -lactamine and Tetracycline in all samples analyzed.

The raw milk is then subjected to a heat treatment (pasteurization) for 20 seconds at a temperature of around 80 ° C followed by rapid cooling of 4 to 6 ° C to prevent acidification of milk and other alterations.

For a good control of the hygienic quality of the milk, we realized the bacteriological analysis of five samples of pasteurized raw milk produced at the dairy Numidia. It is the search and enumeration by conventional bacteriological methods of total aerobic mesosphelic flora, total coliforms, fecal coliforms, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* and sulphite-reducing *Clostridium*.

The results are compared to the criteria reported by the Algerian OJ of 27 May 1998. Presence of mesophilic bacteria with an average of 3.4×10^3 CFU / ml, the presence of total coliforms with an average of 4.3×10^1 UFC / ml on solid medium and 3.4×10^1 CFU / ml in liquid medium. Successively compared to the criteria concerning FTAM (3×10^4 CFU / ml) and total coliforms (10^1 CFU / ml) they show a satisfactory quality. We also noted The absence of fecal coliforms, *Staphylococcus*, *Salmonella* and sulfite-reducing *Clostridium*.

Thus, the overall results are satisfactory reflecting good sanitary quality of pasteurized raw milk produced at the dairy Numidia.

Keywords : raw milk, antibiotic residues, bacteriological analysis, pasteurization.

ملخص

لتجنب المخاطر على الصحة العامة والمخاطر التكنولوجية، الحليب الخام الذي تم جمعه في ملبنة نوميديا يخضع للكشف الفوري لبقايا المضادات الحيوية : Tétracyclines, β -lactames بطريقة سريعة Beta Star Combo.

تحليل العينات الخمس لا تظهر أي بقايا β -lactames و Tétracycline في جميع العينات التي تم تحليلها.

يتعرض الحليب الخام بعدها إلى المعالجة الحرارية (البسترة) لمدة 20 ثانية عند درجة حرارة حوالي 80 درجة مئوية يليها التبريد السريع من 4 إلى 6 درجات مئوية لمنع تحمض الحليب وتغيرات أخرى.

لمراقبة جيدة للجودة الصحية لهذا الحليب، قمنا بالتحليل البكتريولوجي لخمس عينات من الحليب المبستر الخام المنتج في ملبنة نوميديا. و يتمثل في البحث والتعداد بالطرق البكتريولوجية التقليدية عن flore totale aérobie mésophile, coliformes totaux, coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Clostridium sulfito-réducteurs*.

النتائج المحصل عليها تمت مقارنتها مع المعايير التي أبلغت عنها الجريدة الرسمية الجزائرية في 27 ماي 1998. وجود flore totale aérobie mésophile بمتوسط قدره 10×3.4 ml/UFC³ وجود coliformes totaux بمتوسط قدره 10×4.3 ml/UFC¹ في وسط صلب و 10×3.4 ml/UFC¹ في وسط سائل. مقارنة على التوالي مع المعايير المتعلقة ب : FTAM (10×3 ml/UFC⁴) و coliformes totaux (10 ml/UFC¹) تظهر نوعية مرضية. لاحظنا أيضا غياب

Coliformes fécaux, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Clostridium sulfito-réducteurs* النتائج الإجمالية المحصل عليها مرضية تعكس نوعية صحية جيدة للحليب الخام المبستر المنتج في ملبنة نوميديا .

الكلمات المفتاحية : الحليب الخام، بقايا المضادات الحيوية، تحليل البكتريولوجي، البسترة.

**Titre : Appréciation de la qualité bactériologique et recherche de résidus
d'antibiotiques dans le lait cru pasteurisé produit
par la laiterie Numidia de Constantine**

Résumé

Afin d'éviter les risques liés à la santé publique et les risques d'ordre technologique, le lait cru collecté qui arrive à la laiterie Numidia subit un contrôle immédiat concernant la recherche de résidus d'antibiotiques : les β -lactames et les Tétracyclines par la méthode rapide Beta Star Combo.

Les cinq échantillons analysés indiquent l'absence de résidus de β -lactames et de Tétracyclines dans tous les échantillons analysés.

Le lait cru de vache est ensuite soumis à un traitement thermique (la pasteurisation) pendant 20 secondes à une température avoisinant 80°C suivi d'un refroidissement rapide de 4 à 6°C pour éviter l'acidification du lait et autres altérations.

Pour une bonne maîtrise de la qualité hygiénique de ce lait, nous avons réalisé l'analyse bactériologique de cinq échantillons de lait cru pasteurisé fabriqué au niveau de la laiterie Numidia. Il s'agit de la recherche et du dénombrement par les méthodes bactériologiques classiques de la flore totale aérobie mésophile, des coliformes totaux, des coliformes fécaux, des *Staphylococcus aureus*, des *Salmonella* et des *Clostridium* sulfito-réducteurs.

Les résultats obtenus sont comparés aux critères rapportés par le JO algérien du 27 Mai 1998. La présence de bactéries mésophiles avec une moyenne de $3,4 \times 10^3$ UFC/ml, la présence de coliformes totaux avec une moyenne de $4,3 \times 10^1$ UFC/ml en milieu solide et $3,4 \times 10^1$ UFC/ml en milieu liquide. Comparés successivement aux critères concernant la FTAM (3×10^4 UFC/ml) et les coliformes totaux (10^1 UFC/ml) ils témoignent d'une qualité satisfaisante. Nous avons également noté

L'absence de coliformes fécaux, de *Staphylococcus*, de *Salmonella* et de *Clostridium* sulfito-réducteurs.

Ainsi, l'ensemble des résultats obtenus sont satisfaisants ce qui reflète une bonne qualité hygiénique du lait cru pasteurisé produit au niveau de la laiterie Numidia.

Mots clés : lait cru, résidus d'antibiotiques, analyse bactériologique, pasteurisation.

Département de Microbiologie

Président : Mr. CHIKHI A. M.C
Encadreur : Mme. AIT ABDELOUAHAB N. M.A.A
Examinatrice : Mme. ZERMANE F. M.A

Université Constantine 1
Université Constantine 1
Université Constantine 1