

Université
Abdelhamid Ben Badis
Mostaganem

Faculté des Sciences
de la Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم

كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°/SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

KAABOUCHE SALIMA

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Spécialité : Exploitation des écosystèmes microbiens laitiers

THÈME

**DETERMINATION DE LA FLORE PATHOGENE
ENVIRONNEMENTALE DU LAIT DE VACHE.
CAS DE LA FERME « ELEVAGE » DE
L'UNIVERSITE DE MOSTAGANEM**

Soutenu publiquement le 06/07/2017

DEVANT LE JURY

Mr A.HOMRANI	Président	M.C.A	U. Mostaganem
Mr D.BENMILOUD	Examineur	M.A	U. Mostaganem
Mme N.RECHIDI-SIDHOUM	Encadreur	M.A.A	U. Mostaganem
Mr D.BOUCHEF	Co-Encadreur	Docent	U. Mostaganem

*Thème réalisé au niveau du laboratoire de Recherches
Des Sciences et Techniques de Production Animale de l'université de Mostaganem.*

Année Universitaire 2016/2017

Remerciement

Je remercie, ALLAH, pour m'avoir guidé dans le monde du savoir et de la science.

Je remercie, Mme RECHIDI-SIDHOUM et Mr BOUCHERF pour avoir bien voulu diriger les travaux de ce mémoire.

Je remercie, Mr HOMRANI et Mr NEMMICHE pour nous avoir permis de réaliser notre expérimentation au niveau du laboratoire de la faculté.

Je remercie, Mmes TAHALAITI et BENMAHDI, pour nous avoir aidé dans notre travail.

Je remercie, Mr BOUKHATEM, docteur vétérinaire, Mr SOUANE, Mme MEKKAOUI et l'ensemble des doctorants pour leur aide.

Enfin, je voudrais exprimer ma reconnaissance à ceux qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Dédicaces

*A mes parents **MOHAMED** et **FATIMA** qui m'ont prodigué
l'éducation voulue.*

*A toute la famille **KAABOUCHE**
A mes frères et mes sœurs ; **Aicha, Abderahmen, Tahar, Habiba,**
Krimou, Djamel, Nouredine, Safia qui m'ont aidé, assisté et
encouragé.*

*A ma tante **MISSOUME Halima** et mon oncle **Missoume Ali***

*A ma cousine **Missoume Sarah***

*A mes nièces et mes neveux ; **F.Zohra, F.Salssabil, F.Rim, Mouina,**
Douaa, Mohamed, Imran et Anes.*

*A ma chère promotion du parcours (exploitation des écosystèmes
microbiens laitiers)2016/2017.*

A tous mes amis qui m'ont encouragé.

Résumé

Concernant ce thème, nous avons réalisé une recherche microbiologique sur les germes pathogènes de la Flore Aérobie Mésophile Totale, coliforme fécaux, Streptocoques fécaux, *Staphylococcus aureus*, Salmonelles, levures et moisissures au niveau de la ferme expérimentale de l'université de Mostaganem. L'objectif de cette recherche est de déterminer l'impact de la flore environnementale pathogène sur la qualité hygiénique du lait cru. Les résultats auxquels nous avons abouti, est que la flore environnementale pathogène a une influence réelle et confirmée sur la qualité du lait cru. La FTAM a été retrouvée dans différents échantillons, avec des taux élevés sur la machine à traire (192.10^4 UFC), le mur (85.10^3 UFC), le personnel (103.10^4 UFC), et dans le lait de la traite mécanique (125.10^4 UFC), ce dernier taux dépassant la norme algérienne. Par contre, le taux de ces germes est beaucoup plus faible sur les prélèvements réalisés sur l'air (26 UFC). Le taux des coliformes fécaux présents dans le lait de la traite mécanique qui est de 60.10^3 UFC, dépasse la norme algérienne, le taux retrouvé dans les prélèvements réalisé sur les mains du personnel, étant de 65.10^3 UFC et la machine à traire, de 60.10^3 UFC. En revanche, il a été constaté l'absence totale de ce germe dans le lait de la traite manuelle. La présence de *S.aureus* sur le mur, de 136.10^3 UFC, est certainement à l'origine de la contamination du lait de la traite mécanique, dont le taux est de 29.10^3 UFC, au moment du transfert du lait de la cuve de la machine à traire, au pot destiné à recevoir le lait. Concernant les S.fécaux, le taux de 748.10^3 UFC dans le prélèvement du lait de la traite mécanique dépasse fortement la norme algérienne qui exige l'absence totale de ce germe dans le lait. De plus, il a été noté la présence de ce germe sur la machine à traire dont le taux est de 924.10^3 UFC, le personnel, de 105.10^3 UFC, et le mur, de 192.10^3 UFC. De même que les levures et moisissures ont été observées dans l'air et l'aliment.

Mots clés : Lait, flore pathogène, environnement, traite, ferme élevage, Mostaganem.

ABSTRACT

We conducted a microbiological research on the pathogenic germs of the Total Mesophilic Aerobic Flora, faecal coliform, *faecal Streptococci*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, yeasts and molds at the experimental farm of the University of Mostaganem. The objective of this research is to determine the impact of environmental pathogenic flora on the hygienic quality of raw milk. The results we have reached are that the environmental pathogenic flora has a real and confirmed influence on the quality of raw milk. The FTAM was found in different samples, with high rates on the milking machine ($192 \cdot 10^4$ UFC), the wall ($85 \cdot 10^3$ UFC), the personnel ($103 \cdot 10^4$ UFC), and in milking milk ($125 \cdot 10^4$ UFC) The latter rate exceeding the Algerian standard. On the other hand, the rate of these germs is much lower on the samples taken on the air (26 UFC). The rate of faecal coliforms present in the milk of mechanical milking, which is $60 \cdot 10^3$ UFC, exceeds the Algerian standard, the rate found in the samples taken from the hands of the staff being $65 \cdot 10^3$ UFC and the milking machine, $60 \cdot 10^3$ UFC. On the other hand, the total absence of this germ in milking milk was observed. The presence of *S. aureus* on the wall, of $136 \cdot 10^3$ UFC, is certainly the cause of the contamination of the milk of mechanical milking, the rate of which is $29 \cdot 10^3$ UFC, at the time of transfer of the milk from the tank of the machine To milk, to the pot intended to receive the milk. With regard to *S. fecaux*, the rate of $748 \cdot 10^3$ UFC in the milk collection from mechanical milking exceeds the Algerian standard which requires the total absence of this germ in the milk. In addition, the presence of this germ on the milking machine was noted, the rate of which was $924 \cdot 10^3$ UFC, the staff $105 \cdot 10^3$ UFC and the wall $192 \cdot 10^3$ UFC. Just as yeasts and molds have been observed in air and food.

Keywords: Milk, pathogenic flora, environment, milking, breeding farm, Mostaganem.

Sommaire

Sommaire

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction générale.....01

Chapitre I : Elevage bovin laitiers.....02

Chapitre II : Environnement des troupeaux.....10

Chapitre III : Caractères qualitatifs du lait cru.....18

Chapitre IV : Matériel et méthodes.....31

Chapitre V : Résultats et discussion.....51

Conclusion générale

Annexes

Références

Table des matières

Liste des abréviations

V.L.B.17	Aliment complet supplémentaire vitamines
ONAB	Office National de l'Alimentation du Bétail
LSTPA	Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale
PCR	Recommended International Code of Practice
FMAT	Flore Mésophile Aérobie Totale
UFC	Unité Formant une Colonie
PCA	Plate Count Agar
VRBL	Cristal Violet et au Rouge neutre Biliée Lactosée
VBL	Vert brillant Bouillant Lactosé
GC	Giolitti Cantoni
BHIB	Brain Heart Infusion Broth
SFB	Sélénite acide de sodium
SS	Salmonella-Shigella
NaCl	Chlorure de Sodium
pH	Potentiel d'hydrogène
<i>E. Coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
LTN	Lait de la Traite Manuelle
LTM	Lait de la Traite Mécanique
MT	Machine à Traire
Prs	Personnel
T	Témoin

Liste des figures

Figure 01 : Flux microbiens dans les étables de production laitière	12
Figure 02 : Cycle de contamination du lait.....	21
Figure 03 : Aspect des colonies d' <i>Escherichia coli</i>	23
Figure 04 : Aspect des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Figure 05 : Aspect des colonies de Streptocoque.....	27
Figure 06 : Aspect des colonies de Salmonelle.....	28
Figure 07 : Situation géographiques concernant la ferme de l'université.....	31
Figure 08 : Prélèvement du lait manuellement	35
Figure 09 : Prélèvement du lait de la machine à traire.....	36
Figure 10 : Prélèvement de l'eau de robinet (dont la source est le puits).....	36
Figure 11 : Prélèvement du concentré par flaconnage	37
Figure 12 : Prélèvement de la machine à traire par écouvillonnage	38
Figure 13 : Prélèvement de surface par écouvillonnage sur le mur de l'étable	39
Figure 13 : Identification des vaches par des boucles numérotées.....	51
Figure 14, 15, 16, 17 : Aspect macroscopique de la Flore Totale Aérobie Mésophile sur milieu PCA.....	52, 53
Figure 18, 19 : Aspect macroscopique des Coliformes fécaux sur milieu VRBL.....	54
Figure 20, 21 : Aspect macroscopique Streptocoques fécaux sur milieu Slanetz	55
Figure 22, 23 : Aspect macroscopique des <i>Staphylococcus aurues</i> sur milieu Chapman	56
Figure 24 : Aspect macroscopique des levures et moisissures sur milieu milieu Sabouraud.....	57

Figure 25, 26 : Aspect macroscopique des Streptocoques fécaux sur bouillon Eva Litsky.....	59
Figure 27 : Aspect macroscopique des coliformes fécaux sur bouillon VBL+ Cloche de Durham	60
Figure 28 : Aspect macroscopique d' <i>Ecehrichia Coli</i>	60
Figure 29 : Observation macroscopique des Staphylocoques sur bouillon GC.....	61
Figure 30 : Aspect macroscopique des <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Baird Parker.....	61
Figure 31 : Aspect macroscopique d'absence de la coagulation des Staphylocoques sur plasma de lapin, échantillon (MT).....	62
Figure 32 : Aspect macroscopique de la coagulation des <i>Staphylococcus aureus</i> à 37°C sur plasma de lapin.....	62
Figure 33 : Observation macroscopique de la réaction à la catalase.....	63
Figure 34 : Observation macroscopique test d'oxydase.....	63
Figure 35 : Aspect des souches isolées purifiées.....	64
Figure 36 : Observation microscopique des Streptocoques et <i>Staphylococcus aureus</i>	64

Introduction générale

Introduction générale

Le lait est le premier aliment de la vie et il garde tout au long de celle-ci une place très importante. Il est certainement l'aliment le plus complet, puisqu'il renferme toutes les substances indispensables à l'alimentation, il contient, en effet, des protides, des lipides, des glucides, des vitamines, du phosphore et surtout du calcium.

Le lait n'a pas seulement une valeur nutritive pour l'être humain, mais il est souvent un milieu de culture idéal pour la multiplication microbienne, d'altération et de contaminations par des microorganismes responsables d'intoxications ou toxi-infections alimentaires et certains nombres de la flore indigène ou originelle généralement reconnus comme non toxiques et bénéfiques pour la santé humaine.

Donc, le lait doit subir un contrôle de la qualité microbiologique, pour assurer et garantir une certaine sécurité hygiénique et un niveau de qualité organoleptique (Cauty et Perreau, 2009).

L'objectif de ce travail est de déterminer la flore environnementale pathogène qui influe sur la qualité hygiénique du lait cru.

Problématique

Est-ce que la flore environnementale pathogène influe-t-elle sur la qualité hygiénique du lait cru ?

Hypothèse

La flore environnementale influe sur la qualité hygiénique du lait cru.

Méthodes

Au niveau de cette recherche, nous avons utilisé deux méthodes, en l'occurrence :

- La méthode descriptive ;
- La méthode hypothético-inductive.

Etude Bibliographique

Chapitre I

Elevage bovins laitiers

1. Introduction

L'élevage bovin laitier est un secteur qui se développe de plus en plus quant à la capacité de production des vaches laitières. Cette tendance à mettre en place des animaux à la limite de leurs capacités physiologiques s'accompagne bien évidemment d'une fragilité exacerbée envers les divers agents pathogènes présents dans leur environnement. Qu'il s'agisse de micro-organismes commensaux des élevages ou d'agents pathogènes plus spécifiques, leur présence et surtout la pression infectieuse qu'ils exercent ont pour conséquence une dégradation des performances des animaux, une augmentation de la fréquence et de la gravité des maladies, ainsi qu'un accroissement des frais vétérinaires.

2. Bâtiment d'élevage

Les locaux d'élevage doivent assurer le confort et l'hygiène aux animaux. Pour cela, les facteurs suivants sont à prendre en considération :

- Le nombre de bâtiments destinés à l'élevage des animaux et au stockage des aliments ;
- Leur localisation par rapport au site principal d'exploitation et au logement du producteur, ce qui détermine le temps passé à surveiller les animaux en dehors des autres opérations (alimentation, traite...);
- La date de construction, la structure et la taille des bâtiments ainsi que leur orientation ;
- Le type de logement des animaux ;
- Le type de salle de traite et son année de mise en service (Cauty et Perreau, 2009).

3. Traite et installation de la traite

3.1. La salle de traite

La salle de traite comprend :

- Des quais de traite où les vaches sont immobilisées durant la durée de la traite ;
- Une fosse située entre les quais dans laquelle le trayeur va se déplacer pour réaliser les opérations de traite. Les vaches étant sur les quais, elles sont donc en position surélevée par rapport au trayeur ce qui facilite grandement le travail grâce à l'accessibilité des mamelles ;
- Des ouvertures pour l'entrée et la sortie des vaches.

Par rapport à la stabulation, la salle de traite doit être implantée de telle sorte que la vitesse de passage des animaux soit importante et qu'il n'y ait pas de temps morts. Lorsque les vaches sont au pâturage, on peut prévoir un accès direct à l'aire d'attente depuis l'extérieur de la stabulation (Cauty, Perreau, 2009).

3.2. La machine à traire

Lors de la traite mécanique, on imite ce que fait le veau pendant la tétée. Il aspire le lait en pressant le trayon. La pression n'est pas conduite, elle est intermittente puisque le veau doit avaler chaque gorgée de lait (entre 40 et 60/mm).

La machine à traire est composée de 4 différents composants :

- Les gobelets trayeurs ou mâchons trayeur ;
- Le faisceau trayeur ;
- Le système de vide ;
- Le circuit du lait.

3.3. La traite

La traite représente une opération très importante dans la conduite d'un troupeau laitier, elle est généralement effectuée deux fois par jour, elle exige une main d'œuvre de qualité ; elle peut entraîner des diminutions de production et accidents sanitaires.

La traite pour être efficace, nécessite :

- L'absence de simulations inhibitrices de l'injections (frayeur, mauvais traitement bruits anormaux, changement d'habitudes, de conditions de traites, etc.) ;
- Une stimulation de la glande mammaire juste avant la traite pour libérer l'ocytocine en quantité suffisante ;

Une traite rapide et complète du lait le plus riche en matières grasses se trouve en fin de traite (Cauty et Perreau, 2009).

3.3.1. Traite manuelle

La traite manuelle est utilisée dans les élevages au nombre de bovin très réduit. Elle exige un état d'hygiène de la part du trayeur. Un simple massage ou une friction des quartiers à l'aide d'un linge trempé dans de l'eau tiède javellisée, doit toujours précéder la traite de la vache laitière. Les lingettes doivent être individuelles. La traite doit toujours se faire à sec d'abord pour réduire les risques de gerçures ou de crevasses sur les mamelles, ensuite éviter

la pollution du lait par le liquide servant. Les premiers jets de lait sont recueillis à part dans un petit récipient afin de ne pas contaminer l'ensemble de la traite. Une fois la traite terminée, la mamelle est lavée avec une eau javellisée pour lui éviter une potentielle contamination due au milieu. Il est nécessaire de faire un post-trempage pour obstruer le sphincter du trayon qui est encore relâché (Rahal,2009).

3.3.2. Traite mécanique

- **Traite mécanique à chariot**

De plus en plus fréquente, elle facilite le travail au trayeur et lui permet de gagner plus de temps. Toutefois la machine à traire agit à la fois comme vecteur de mammites et comme cause favorisante car la sur-traite constitue un risque en affaiblissant la mamelle. Une installation en mauvais état détériore également les barrières naturelles du trayon.

L'utilisation d'un produit désinfectant réservé au nettoyage de la mamelle avant la traite est nécessaire car elle permet de réduire la contamination des gobelets de chariot par les germes qui se trouvent sur le trayon.

- **Traite mécanique en salle spécialisé**

Elle est utilisée uniquement dans les élevages modernisés, à haut potentiel de production dans les pays développés. Rare dans les fermes privées en Algérie, elle est présente dans les instituts agronomiques. Celle-ci demande un état d'hygiène important et une maîtrise. De même que pour la traite à chariot, il faut nettoyer la mamelle avant la traite et il est absolument nécessaire de procéder à la désinfection de l'ensemble de l'installation du matériel de la traite (I.D.E, 2000).

3.4. Hygiène de la traite

En ce qui concerne l'hygiène de la mamelle, les technologues savent que, pour pouvoir fabriquer des produits laitiers d'excellente qualité et qui sont bien conservés, il faut que le lait soit issu de mamelles saines et d'une qualité microbiologique irréprochable.

Dans la pratique, le massage est souvent remplacé par un simple lavage de la mamelle à l'eau froide, ce lavage doit être réalisé, soit à l'aide d'une éponge ou d'une lavette, et d'un seau dans le cas de traite en stabulation entravé, soit avec une douchette en salle de traite, le but de lavage est non seulement de stimuler la mamelle, mais aussi de la nettoyer, afin de

limiter les risques de contamination de lait, un bon lavage doit être effectué avec une eau propre et renouvelée et suivi obligatoirement d'un essuyage (Cauty et Perreau, 2009).

4. Abreuvement des bovins laitiers

L'eau représente généralement la moitié des deux tiers du poids de l'animal, elle assure de nombreuses fonctions indispensables à la vie, elle se trouve à raison de 70% à l'intérieur des cellules et de 30% dans le sang. Le besoin en eau des ruminants est assuré par l'abreuvement et celle contenu dans les aliments (surtout le fourrage vert), ces besoins varient en fonction de l'alimentation, de la production, de l'état physiologique et de la température (Wolter, 1997).

L'eau est le principal constituant de l'organisme, et son importance, tant physiologique que pour l'élaboration des différentes productions, n'est pas à négliger, l'eau doit être conforme du point de vue de sa qualité, et, en quantité suffisante (Cauty et Perreau, 2009).

4.1. En qualité

L'eau doit être, sinon classée potable, du moins indemne d'un certain nombre de contaminations qui peuvent être à l'origine de problèmes sanitaires (*Colibacilles*, *Streptocoques*, *Salmonelles*). Il peut être intéressant de procéder à des analyses régulières, qui permettraient de vérifier l'absence de ces germes pathogènes, et de connaître sa composition minérale. En effet, un ajustement de la complémentation des vaches, notamment en fonction de la teneur en calcium de l'eau de boisson peut permettre de réaliser des économies non négligeables (Cauty et Perreau, 2009).

4.2. En quantité

Les besoins en eau de boisson sont d'autant plus élevés que l'alimentation distribuée est basée sur un fourrage sec et que la production de lait est importante. On estime qu'une vache doit boire quatre litres d'eau par kilo de matière sèche ingérée et un litre par kilo de lait produit. La production laitière d'un troupeau peut chuter de 10% ou plus s'il n'a accès qu'une fois par jour aux abreuvoirs (Cauty et Perreau, 2009).

5. Alimentation des bovins laitiers

En général, les aliments sont groupés dans l'une des trois catégories suivantes (Wattiaux, 1998) :

- **Fourrages**

En général, les fourrages sont les parties végétatives des plantes herbacées qui contiennent une proportion importante de fibre de détergent neutre (FDN). Ils sont nécessaires dans la ration sous forme de longues particules (plus de 2,5 cm en longueur) pour maintenir le bon fonctionnement du rumen. En général, les fourrages sont produits à la ferme. Ils peuvent être pâturés ou récoltés et préservés sous forme d'ensilage ou de foin. La ration des vaches tarées peut être composée presque entièrement de fourrages. Par contre, chez la vache en début de lactation la ration doit contenir au moins 35% de fourrage pour y maintenir suffisamment de fibres. (Wattiaux, 1998).

- **Concentrés**

Il est difficile de définir ce qu'est un concentré. Cependant, ils peuvent être décrits par leurs caractéristiques et leurs effets sur le fonctionnement du rumen. Les concentrés, en général, ont les caractéristiques suivantes :

- Ils sont pauvres en fibre et riches en énergie (par comparaison aux fourrage) ;
- Ils ont un contenu variable en protéines ; les grains de céréales contiennent moins de 12% de protéines, mais les farines ou tourteaux d'oléagineux (soya, arachide, etc.) contiennent en général plus de 40% de protéines ;
- Ils ont une grande palatabilité et sont donc ingérés rapidement ;
- Au contraire des fourrages, les concentrés ont un faible volume par unité de poids (densité élevée) ;
- Au contraire des fourrages, ils ne stimulent pas la rumination ;
- Ils fermentent plus rapidement que les fourrages dans le rumen et donc ils augmentent l'acidité de son contenu (réduction de Ph), ce qui peut avoir un effet négatif sur la fermentation des fibres et provoquer l'acidose ruminale. Les vaches qui possèdent un grand potentiel de production laitière ont aussi un grand besoin en énergie et en protéines. Etant donné que la quantité de fourrage ingérée par jour est limitée, les fourrages seuls ne peuvent pas fournir l'énergie et les protéines requises.

Donc, la ration de la vache laitière doit souvent être complétée avec des sources concentrées en énergie et protéines pour pouvoir couvrir ses besoins. Les concentrés sont donc des aliments importants parce qu'ils permettent de formuler des rations qui maximisent la production laitière. La limite de concentrés dans la ration d'une vache de 600 kg est d'environ 12 kg, ce qui correspond à 60 – 70% de la matière sèche ingérée. Au-delà de cette limite, l'acidose ruminale apparaît et la santé de la vache se détériore (Wattiauw,1998).

- **Vitamines et minéraux**

Les minéraux et vitamines sont très importants pour la santé, la production et la reproduction des animaux. Par exemple, la fièvre de lait en début de lactation est due à un excès ou à un déficit en calcium et une pauvre fertilité des animaux peut être due à un déficit en phosphore. Les déficiences produisent des pertes économiques importantes. Chez les vaches en lactation, il faut faire particulièrement attention aux macro-minéraux suivants : le sel (chlorure de sodium : (NaCL), le calcium (Ca), le phosphore (P), et parfois le potassium (K), le magnésium (Mg) et le soufre (S). De plus, les micro-minéraux (fer, sélénium, iode, zinc, etc.) sont pratiquement toujours requis sous forme de suppléments dans la ration. Ils sont souvent mélangés avec des vitamines et ce « prémix » est à son tour mélangé avec les concentrés. Parfois, les micro-organismes sont inclus dans des blocs de sel à lécher (Wattiaux,1998).

6. Etat sanitaire des vaches laitières

Les facteurs qui peuvent affecter la santé des animaux sont la nutrition, la ventilation, les conditions de logement et la régie de troupeau. La douleur et l'inconfort provoqués par des problèmes de santé ont des répercussions sur le bien-être de l'animal. Le bien-être animal nécessite donc que les animaux soient en bonne santé.

Il est toujours préférable de pratiquer la prévention, que de recourir aux traitements. Les protocoles de gestion de la santé du troupeau et les mesures de biosécurité peuvent aider à prévenir et à endiguer les maladies.

- Suivre les protocoles de biosécurité à la ferme actuellement reconnus, afin de prévenir la transmission des maladies (p.ex. para tuberculose, virus de la leucémie bovine) ;

- Participer aux activités de formation continue traitant de santé et de bien-être des animaux ;
- Garder des registres exacts et détaillés sur la santé des animaux.

7. Santé et hygiène des troupeaux

7.1. Importance d'avoir un troupeau en bonne santé

En dehors de l'impact direct que pourra avoir une pathologie sur le bien-être des animaux atteints, l'apparition de maladies dans le troupeau aura des conséquences plus ou moins graves, selon les cas :

- Baisse de l'état général (faiblesse, amaigrissement) ;
- Baisse des performances : une quantité importante d'énergie est utilisée pour combattre la maladie, et fera donc défaut pour la production de muscle ou de lait ;

Baisse de la qualité des produits, liée à la modification de la composition du milieu intérieur qui pourra contenir et exporter un certain nombre de produits indésirables. Le lait d'une vache malade et traitée aux antibiotiques est interdit de collecte (Cauty et Perreau, 2009).

7.2. Maladies bovines

Tout animal malade est susceptible de transmettre un germe pathogène par le lait. Parmi les maladies principales des vaches laitières, il y'a :

- **Tuberculose**

Mycobacterium tuberculosis est l'agent causal de la tuberculose. Cette bactérie est également pathogène pour l'homme et elle est transmise par le lait cru (Broutin et *al.*, 2005).

L'infection par *M. bovis* constituait 1 à 5% des cas de tuberculose humaine, en majorité des localisations extra pulmonaires. Ces formes sont essentiellement liées à la consommation du lait (Gantere, 2003).

- **Brucellose**

La brucellose est due à une bactérie appartenant au genre *brucella*, trois espèces responsables de pathologies humaines ; *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis* (Cauty et Perreau,2009).

C'est une zoonose alimentaire, transmise par consommation des produits laitiers, laits ou fromage frais. L'homme étant l'hôte accidentel, il se contamine par voie directe lors de l'ingestion des produits laitiers non pasteurisés, ou indirecte en rentrant en contact avec les animaux infectés (fermier, vétérinaire) (Gantere, 2003).

- **Fièvre Q**

C'est une zoonose aiguë de répartition mondiale causée par *Coxiella burnetii*. La contamination humaine peut s'opérer selon trois modalités :

- Inhalation de gouttelettes virulentes (dans le local d'élevage après avortement notamment) ;
- Par contact direct avec l'animal infecté (contamination de lésions cutanées par exemple) ;
- Par ingestion de lait cru contaminé ;
- Infection de la mamelle (mammite). (Gantere, 2003).

- **Mammite**

La mammite est un état inflammatoire de la mamelle, caractérisée par la présence de germes pathogènes dans le lait, la présence de cellules, dites somatiques, en nombre anormalement élevés, et de modifications chimique et biochimique du lait (Beaudeau.F, et *al.*, 1997).

Classiquement, la mammite bovine peut se diviser en deux grandes catégories, contagieuse et environnementale. Les agents pathogènes de la glande mammaire qui sont considérés comme étant contagieux sont ceux qui sont adaptés pour une survie chez l'hôte, particulièrement au niveau de la glande mammaire. Le mode de transmission se fait principalement d'un quartier infecté vers un quartier sain et d'une vache à l'autre lors du moment de la traite. Les agents contagieux ont la capacité de persister au niveau de la glande mammaire.

Les microorganismes pathogènes environnementaux sont des agents opportunistes. Typiquement, ils infectent la glande mammaire, se multiplient, engendrent une réponse immune et sont rapidement éliminés (Julie-Hélène,2014).

Chapitre II

L'environnement des troupeaux

1. Introduction

Le lait constitue un milieu favorable à la croissance de plusieurs espèces de microorganismes dont certains sont pathogènes et peuvent être à l'origine de plusieurs maladies et intoxications humaines (Petranxiene et Lapied, 2002).

L'objectif de ce travail consiste à déterminer l'effet de certains facteurs environnementaux sur la qualité de lait produit dans la région de Mostaganem (Algérie).

2. Environnement des animaux

L'environnement des animaux est très fréquemment une source d'agents pathogènes. En effet lorsqu'un animal est malade, il excrète dans son milieu de vie des particules virulentes qui vont persister même s'il est isolé du reste du troupeau. La durée du risque est directement fonction de la résistance de l'agent infectieux dans le milieu, elle-même fonction du type de particule, des conditions externes et du milieu sur lequel la particule est déposée. On entend par environnement l'ensemble des supports potentiellement en contact avec les animaux et pas uniquement le sol ou les bâtiments (Brisabois et *al.*, 1997). Nous pouvons différencier les supports fixes (matériels, vêtement, locaux, sol), des supports mobiles (eau, air, homme et animaux non réceptifs, véhicules). L'air comprend également l'ensemble des particules et des insectes transportés par le vent. Les arthropodes non hématophages peuvent être une source environnementale en déplaçant sur leurs membres des particules infectieuses. Nous pouvons citer comme exemples *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, ou *Listeria monocytogenes* (Brisabois et *al.*, 1997).

La multiplication des agents pathogènes dans le milieu extérieur est très rare, l'environnement agit, la grande majorité du temps, comme « conservateur » durant une durée généralement limitée. Il existe quelques exceptions comme *Listeria monocytogenes* dans les ensilages dans certaines conditions, mais elles sont rares. La durée de la persistance dans l'environnement est très variable. Afin d'illustrer cette variabilité, il suffit de comparer la survie d'un mycoplasme, qui est de quelques minutes (en raison de l'absence de protection externe et de la dessiccation rapide), à celle d'une spore de *Bacillus anthracis* (fièvre charbonneuse), qui condamne des champs entiers durant plusieurs dizaines d'années. Il existe des facteurs d'inactivation des agents pathogènes, comme par exemple les ultraviolets, une très haute ou très basse température, l'oxydation, la dessiccation, etc. (Toma et *al.*, 2001).

Il apparaît donc qu'il est éventuellement possible de jouer soit sur le temps (à partir du moment où l'on connaît la survie d'un micro-organisme dans des conditions données), soit sur certains de ces facteurs d'inactivation pour diminuer la quantité d'un agent pathogène dans l'environnement des animaux.

3. Facteurs liés à l'environnement des troupeaux

L'environnement dans lequel vit un animal est défini comme étant une combinaison de tous les facteurs qui influencent l'expression d'un caractère donné. Ces facteurs sont liés à la conduite d'élevage (alimentation, abreuvement, mode de traite, tarissement, période de vêlage, hygiène, confort...etc.) et la saison (lumière, température...etc.). (Bouton, 2011).

3.1. Les flux microbiens à la ferme

Les différences de profils, entre les flores d'intérêts technologique et les flores d'altération qui demeurent dans les laits crus, ont pu être reliées aux pratiques de traite (Michel et *al*, 2001). Ainsi, l'existence de liens entre la composition de la flore des laits et certaines pratiques suggérées que la quantité et la nature de la flore ne seraient pas le fruit du hasard mais dépendraient des facteurs de production du lait. (Reboux et *al*, 2006).

La connaissance des réservoirs de flore et des flux de microorganismes existants dans l'étable et les salles de traite, semblent un préalable indispensable pour mieux appréhender l'influence des pratiques de production dans l'enrichissement des laits en flore d'intérêt technologique. Les microorganismes retrouvés dans le lait à la ferme peuvent avoir de multiples sources. Ils peuvent provenir de l'environnement des animaux (bâtiment, eau, fourrage), des animaux eux-mêmes, du matériel de traite, du trayeur (Montel, 2012). De plus, la mise en évidence de souches de la même famille, entre bactéries isolées du lait et celles isolées de l'environnement (aliment, poussières, trayeurs, manchons) tendait à montrer l'existence de flux microbiens depuis l'environnement de la ferme jusqu'au lait (Bouton et *al*, 2007).

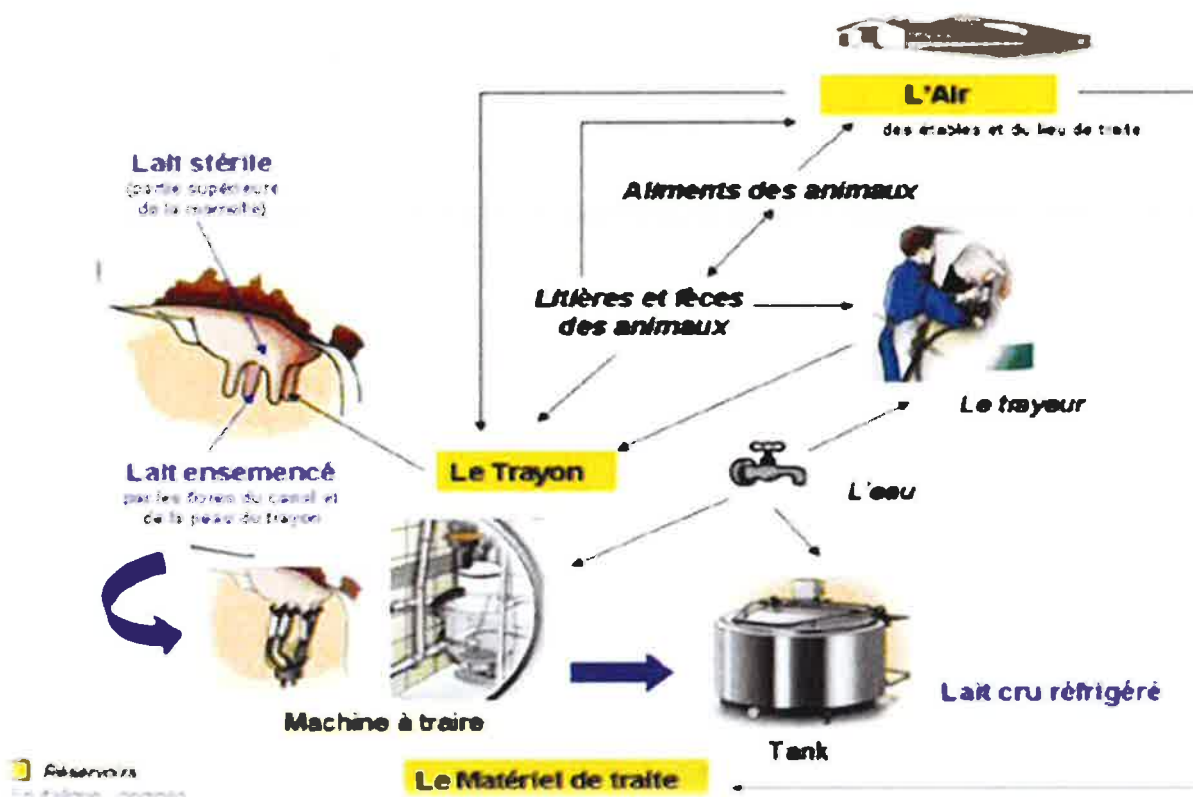


Figure 01. Flux microbiens dans les étables de production laitière (Normand et al., 2007).

Sur la **figure 01** sont représentées les sources potentielles de micro-organismes et leurs trajectoires possibles jusqu'au tank à lait. Si la littérature est assez bien fournie sur les contaminations du lait par les bactéries pathogènes ou d'altération (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium tyrobutyricum*...), peu d'études sont disponibles sur les réservoirs et les voies d'ensemencement du lait en flore d'intérêt technologique.

Ce chapitre fait le point sur les connaissances acquises récemment sur la composition microbienne, les réservoirs potentiels de flore (trayon, matériel de traite, air) et les pratiques influentes, ainsi que sur les origines possibles de ces micro-organismes en particulier d'intérêt laitier (litière, aliments du bétail).

3.2.L'aménagement du bâtiment

Cet élément contribue à rendre le bâtiment le plus efficace possible sur les plans du travail (le moins pénible et important possible), du confort des animaux, et de la qualité des produits.

Il faut s'assurer :

- D'une bonne ventilation et du respect des normes de volume d'air pour bonne ambiance ;
- Du respect des normes de surfaces pour que les animaux puissent se coucher et se mouvoir sans gêne. De plus l'activité physique favorise la venue en chaleur et en facilite la détection ;
- De l'indépendance maximale des différents circuits : lait, aliment, déjections et animaux, ceci pour des raisons d'hygiène ;
- De la facilité de circulation des engins de distribution du fourrage ou de paillage liée entre autre à la largeur des couloirs ;
- De l'implantation de la salle de traite et de l'aire d'attente ;
- De la facilité de circulation des animaux ;
- D'un sol non glissant (béton suffisamment rainuré pour éviter les accidents lors de chevauchements) et d'un nombre de marches limité sur l'ensemble du bâtiment ;
- De la facilité de curage des aires d'exercices ;
- De l'aménagement des abords ;
- D'un nombre de places à l'auge suffisant ;
- D'une bonne luminosité, grâce entre autres à l'utilisation de plaques translucides pour la toiture afin que la surveillance et le travail soient aisés et que la reprise d'activité ovarienne post-partum soit favorisée ;
- De la présence d'un bureau, d'une infirmerie, le box à vêlages, d'équipement de contention ou de jeu de barrières pour canaliser les animaux ;
- D'une bonne visibilité du troupeau au point de surveillance. Quand le bureau est installé en hauteur au-dessus de la laiterie, la surveillance est optimale ;
- Des possibilités de modification, par exemple passage d'une aire paillée à des logettes (Cauty et Perreau, 2009).

3.3. Les litières

La nature de la litière, son entretien, le renouvellement d'air de l'aire de couchage influencent les niveaux de flores des laits. Il a été montré que la présence de foin dans la litière et le confinement des animaux étaient associés à des niveaux plus élevés en *Lactobacilles* et bactéries propioniques des laits. (Bouton et *al.*, 2005). Par ailleurs, d'après Sévi et *al.*, 2003, l'utilisation de produit asséchant (bentonite) associé à un renouvellement des litières toutes les 4 semaines diminue la charge microbienne des laits (flore totale, coliformes, levures, moisissures, bactéries psychrotrophes).

De la litière et des aires de repos propres préviendront la contamination du bout des trayons par des sources environnementales. De plus, elles réduisent le temps de préparation avant la traite. À la ferme, les points à surveiller sont : un bon drainage des sols, l'enlèvement régulier du fumier, et une bonne ventilation. Une attention particulière doit être donnée aux vaches taries. D'autres points sensibles sont le surpeuplement des logettes et le type de litière utilisée. Les bovins au pâturage ne doivent pas avoir accès à des aires boueuses.
www.reseaumammite.org

3.4. Propreté du lieu de stockage

Le local d'entreposage du lait doit être séparé de l'étable. Il doit être propre, facilement nettoyable et ne pas avoir d'accès aux animaux nuisibles ou de tout autre source de contamination.

3.5. Propreté du matériel

La vaisselle laitière doit être soigneusement lavée et désinfectée. Le nettoyage est d'autant plus aisé que le matériel laitier comporte moins de parties anguleuses. (Rahal et *al.*, 2011).

Les équipements, matériels, outillages, emballages et autres instruments destinés à être mis en contact avec les denrées alimentaires, doivent être composés exclusivement de matériaux ne pouvant pas altérer ces denrées.

Le matériel de traite étant la principale source de détérioration de la qualité doit donc permettre tant par sa conception et son montage, que par son utilisation, l'obtention d'un lait de qualité (Rahal et *al.*, 2011).

➤ Nettoyage de la machine à traire

C'est une opération très importante car le matériel de traite est la principale source de contamination bactérienne du lait. Il est donc capital qu'il ne reste pas de trace de lait support de développement microbien dans l'installation de traite. De plus, l'encrassement des différentes parties en contact avec le lait peut nuire aux performances du matériel. (Cauty et Perreau, 2009).

3.6.L'éleveur laitier et l'environnement

Le manque de technicité de la main d'œuvre est à l'origine de la mauvaise conduite technique des élevages. Ces mauvaises techniques sont traduites par un faible rendement. Les compétences de l'éleveur et le sérieux de sa conduite technique jouent un rôle prépondérant dans le maintien d'un bon niveau sanitaire.

Le trayeur doit être en bon état de santé, responsable et soucieuse de l'intérêt de la qualité, il ne doit pas être atteint d'une maladie contagieuse et ne doit pas être porteur de microbes pathogènes susceptibles de contaminer le lait. Avant de commencer la traite, il doit se laver les mains et les essuyer avec un linge propre. Après chaque traite, il doit procéder rapidement à leur rinçage dans une solution antiseptique pour éviter de transmettre des affections dans le troupeau, sa tenue doit être également très soignée, il doit revêtir une blouse ou un tablier propre (Cauty et Perreau, 2009).

3.7.Les trayons

De nombreuses données sur la charge microbienne présente en surface de trayons (Desmasures et *al*, 1997 ; Joandel, 2007 ; et *al*, 2006) ont montrés qu'il existe une large variété microbienne présente en surface des trayons, et que les flores d'intérêt fromager sont largement dominantes dans la population globale.

Les flores qui la composent sont majoritairement des flores qui peuvent être qualifié de flore d'intérêt fromager, telles les flores acidifiantes mésophiles, les flores du surfaces (microcoques et corynébactéries), les entérocoques, les flores intervenant en affinage (*Lactobacilles* hétéro fermentaires facultatifs ou bactéries propionique (Joandel, 2007).

Les niveaux et la qualité de la flore microbienne présente en surface de trayon sont associés à la saison, les conditions de logement des animaux et la propreté et la nature des litières. Ainsi, les flores d'intérêt fromager sont présentes en quantité 4fois supérieures en hiver qu'en été. La présence ou l'absence d'une litière, ainsi que sa nature peuvent influencer

l'importance relative de certains groupes microbiens présents en surfaces des trayons (Bouton et *al.*, 2007).

3.8. Influence de la traite

Le lait juste issu de la mamelle de l'animal est considéré comme pratiquement aseptique, mais le premier contact avec l'extérieur de la mamelle, l'air ambiant ou le matériel de traite entraînent une contamination plus ou moins importante des mamelles insuffisamment lavées (les boues ou bouses), des lavettes sales ou contaminées des matériels en mauvais état ou mal nettoyés, sont responsables d'une mauvaise hygiène de traite (accumulation des germes dans les crevasses des trayons ou les soudes des installation (Michel et *al.*, 2001).

3.9. Effet d'abreuvement

L'impact de la qualité de l'eau peut porter à la fois sur la santé des animaux et sur la qualité sanitaire de leurs produits.

L'eau d'abreuvement peut être un vecteur de maladies ou parasitoses transmissibles aux animaux. S'agissant des risques biologiques, ils sont essentiellement à court ou moyen terme, il peut s'agir de bactéries, de virus ou de parasites. Les bactéries pouvant être transmises par l'eau sont très nombreuses et donc entraîner des maladies (brucellose, salmonellose, listériose...). Elles peuvent provenir de la flore intestinale des animaux

(*E. Coli*, entérocoques...) mais également de l'activité microbienne du sol ou de l'encrassement des canalisations d'eau (bactéries anaérobies sulfitoréductrices ou certains coliformes).

Il en est de même en ce qui concerne l'eau utilisée pour le nettoyage et la désinfection du matériel en contact avec le lait. La présence de bactéries (comme *Pseudomonas*, *Listeria*, *Salmonella*...) dans cette eau, pourra entraîner une contamination dans un premier temps du lait, puis du produit fini. Dans le cas d'un captage privé, une analyse d'eau pratiquée régulièrement selon la réglementation en vigueur pour l'eau potable est préconisée (même s'il n'y a pas d'obligation réglementaire) pour en vérifier la qualité : elle comportera un volet bactériologique et un volet chimique. Pour la partie bactériologique, ces contrôles ont pour but de rechercher non pas des germes pathogènes, mais des germes « témoins » d'une pollution. Présents en nombre important dans l'eau, ils indiquent que des bactéries potentiellement pathogènes sont susceptibles d'être également présentes. Les laboratoires agréés proposent différents types d'analyses qui incluent plus ou moins de paramètres. En

fonction des besoins ou de la problématique rencontrée, le choix portera sur des analyses simples (*Escherichia Coli*, entérocoques fécaux), qui pourront être complétées par les germes totaux, streptocoques fécaux, coliformes totaux et thermo tolérants, et/ou d'autres analyses particulières, tant au niveau bactériologique que chimique, non présentes dans les critères de potabilité (*Salmonella*, *Listeria*, *Pseudomonas*, métaux lourds, pesticides) moyennant une tarification supplémentaire. Dans ce cas, il faut bien se renseigner auprès du laboratoire sur la quantité d'eau nécessaire à l'analyse (Roussel, 2011).

3.10. Les substrats d'alimentation

Des matières premières de mauvaise qualité peuvent contenir des substances toxiques. Une ration déséquilibrée provoquera, au mieux, un état général insatisfaisant (animal trop gras ou trop maigre, fatigue de l'organisme lié à un excès d'azote...) et au pire des maladies métaboliques et des effets de carences (Cauty et Perreau, 2009).

3.11. L'air et la poussière

L'ambiance dans un bâtiment d'élevage est assurée par une multitude de facteurs. Une bonne ambiance signifie un meilleur confort des animaux, et une baisse de la sensibilité des animaux aux pathogènes présents, donc une meilleure productivité et une meilleure santé du troupeau.

Le milieu ambiant conditionne le confort des animaux. L'inconfort et la malpropreté sont susceptibles de compromettre leur bon état de santé (Cauty et Perreau, 2009).

Dans les étables de vaches laitières, la population des bactéries identiques dans l'air et la poussière sédimentée est représentée principalement par des Staphylocoques, des microcoques et des bactéries corynéformes (Denis et Desmasures, 2005), (Normand et al, 2009).

Chapitre III

Caractères qualitatifs du lait cru

1. Introduction

Le lait occupe une place exceptionnelle dans les satisfactions des besoins humains. Par sa composition et sa qualité nutritionnelle, il constitue un élément irremplaçable pour assurer la survie et la croissance des nouveau-nés (Vignola, 2002).

2. Généralité du lait de vache

Le lait de vache est un liquide opaque de couleur blanche, plus au moins jaunâtre selon la teneur en matière grasse en beta carotène. Sa saveur est douce et son odeur faible. Le lait de vache de par sa richesse en matière azotée, en calcium et en vitamines offre un intérêt alimentaire exceptionnel.

Les proportions des différents composants du lait de vache varient quelque peu selon les espèces de mammifères et parmi ces espèces selon leur race. Un litre de lait cru contient près de 900 g d'eau et 132 g d'extrait sec. Le pourcentage de matière grasse est sensiblement le même que dans le lait de chèvre. Cependant le diamètre moyen des globules gras dans le lait de vache est de 6 μ m, le lait de chèvre est d'environ 3 μ m.

Le lait contient presque toutes les vitamines indispensables à la vie, à l'exception de la vitamine C qui est en très petite quantité). Le tableau suivant décrit la composition générale du lait de vache.

Tableau 01 : composition générale du lait de vache.

Constituants majeurs	Variations limites%	Valeurs moyennes %
Eau	85,5 – 89,5	87,5
Matière grasse	2,4 – 5,5	3,7
Protéines	2,9 – 5,0	3,2
Glucides	3,6 – 5,5	4,6
Minéraux	0,7 – 0,9	0,8

Constituants mineurs : enzymes, vitamines, pigments, cellules diverses, gaz.

Source : Carole, 2010.

3. Caractères qualitatifs du lait cru

Le lait apparaît comme un liquide opaque blanc mat plus ou moins jaunâtre selon la teneur en ² carotènes de la matière grasse. Il a une odeur peu marquée, mais reconnaissable.

La qualité d'une manière générale peut définir sur l'aptitude du produit à satisfaire des besoins donnés, c'est-à-dire à répondre à des attentes des utilisateurs. Il y a donc trois composantes de la qualité :

3.1. Qualité technologique

Dépendant de la composition chimique (TP, TB), de la qualité bactériologique et de l'aptitude à la transformation.

3.2. Qualité gustative

C'est-à-dire du lait provenant de vaches saines non porteuses de germes responsables de maladies transmissibles à l'homme, et ne présentant aucune trace d'antibiotiques, d'antiseptiques, ou de pesticides (Cauty et Perreau, 2009).

3.3. Qualité sanitaire

C'est la qualité primordiale recherchée en industrie laitière car le lait doit être exempt de tout microbe ou toxine. Ceci impose donc, un contrôle rigoureux tout au long de la chaîne de fabrication. Celui-ci signifie une bonne saveur, absence de goût désagréable, pas rancissement (Vignola, 2002).

4. Caractères bactériologiques du lait cru

4.1. La flore originelle ou indigène

La flore indigène du lait se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, le lait provient d'un animal sain, et prélevé dans des conditions aseptiques, il devrait contenir moins de 5000 UFC/ml. Les germes dominants de la flore indigène sont principalement des microorganismes mésophiles (Lefresne.G, 2000).

4.2. La flore d'altération

Elle causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont ;

Pseudomonas sp, Proteus sp, E. coli, Bacillus sp, Clostridium sp, et certaines levures et moisissures (Lefresne.G, 2000).

4.3. La flore de contamination

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes ajoutées au lait, de récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène capable de provoquer des malaises chez des personnes (Lamontagne et al, 2002).

Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine, est contaminé par une grande variété de microorganismes (Larpen, 1997).

La présence de ces microorganismes peut avoir comme source ; l'animal, l'environnement et l'homme. Les principaux sont : *Coliforme fécaux, Staphylococcus aureus Streptocoques fécaux Salmonella sp, Clostridium botulinum et Clostridium perfringens Listerie monocytogenes Yersinia enterocolitica* (Lefresne.G, 2000).

La contamination du lait se fait surtout au cours de la traite, par les manchons trayeurs et les lavettes utilisées pour plusieurs vaches. La prévention passe par :

- Le bon réglage de la machine à traire pour éviter le problème « d'impact » qui peut entraîner une contamination d'une vache saine traite après une qui serait atteinte ;
- L'hygiène de traite, le nettoyage des équipements de traite et l'hygiène du trayeur ;
- La détection des mammites ;
- Les soins des gerçures, crevasses et boutons sur les pis qui peuvent héberger des *Staphylocoques* ;
- Des dispositifs permettant d'éviter que les vaches aient accès à la zone de couchage tout de suite après la traite (Cauty et Perreau, 2009).

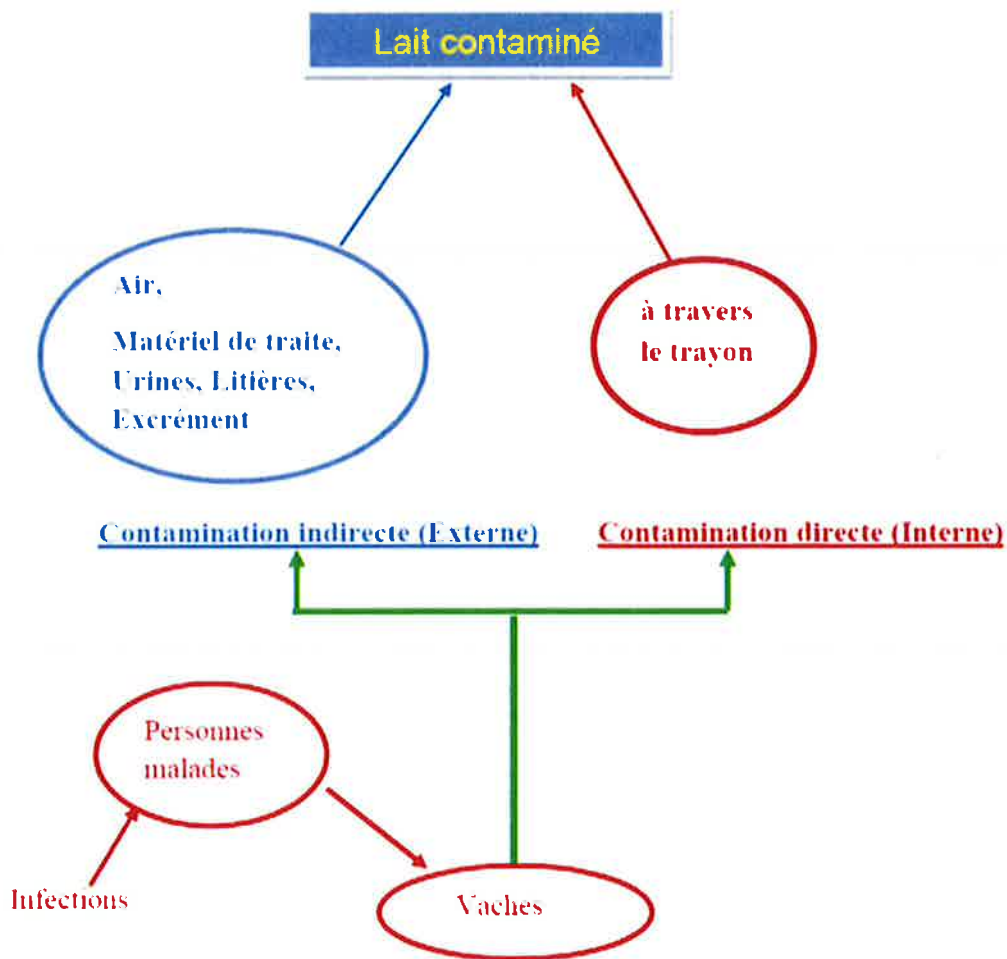


Figure 02 : cycle de contamination du lait (Lebres, 2006).

Les principales sources de contamination sont les suivantes :

- Fèces et téguments de l'animal : *Coliformes*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Salmonella* ;
- Sol : *Streptomyces*, bactéries sporulées, spores de champignons ;
- Litières et aliments : flore banale, *Lactobacilles*, *Clostridia butyrique* (ensilage) ;
- Air et eau : flores diverses ;
- Equipement de traite et stockage du lait : flore lactique, *Microcoques*, *Lactobacille*, *Chromobactérium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobactérium*, *Acinitobacter*, levure ;

- Manipulateurs (le personnel) : *Staphylocoques* des mains, germes d'expectoration et de contamination fécale ;
- Vecteurs divers : insectes en particulier.

4.3.1. Germes totaux

Les micro-organismes, dénombrés lors de l'analyse bactériologique du lait, sont de différentes natures et n'ont pas tous les mêmes impacts. On peut distinguer les bactéries lactiques, des germes indésirables.

Les germes « indésirables », au contraire, sont à proscrire car, soit, ils génèrent des problèmes de transformation fromagère, soit, ils peuvent être gênants pour le consommateur. La lutte contre les germes totaux réduit le nombre de bactéries lactiques banales mais diminue aussi (et c'est le plus important) la concentration en germes indésirables.

D'une manière très générale, la lutte contre les germes rejoint dans les grandes lignes, les axes de prévention du problème des cellules (en particulier tout ce qui touche à l'hygiène avant et pendant la traite). Par ailleurs, la bonne réfrigération du lait après la traite constitue un point crucial. (Cauty et Perreau, 2009).

4.3.2. Coliformes fécaux

(Ex : *Escherichia coli*) elles sont issues d'une contamination fécale due à un manque d'hygiène (environnement, traite, eau contaminée). Elles présentent des risques pour la santé humaine. Elle peut entraîner des infections intestinales et urinaires ainsi que des méningites ou des septicémies chez les nourrissons. *Escherichia coli* présente dans le tube digestif des animaux qui l'excrète dans le milieu extérieur par les bouses où elle se multiplie. La prévention contre les coliformes passe par :

- L'hygiène des bâtiments pour la propreté des mamelles ;
- L'hygiène du trayeur et la propreté du matériel ;
- La propreté de la zone autour du tank ;
- La détection et les soins des mammites ;
- Et la qualité de l'eau utilisée en salle de traite et pour le tank (Cauty et Perreau, 2009).

Escherichia coli

Escherichia coli appelé colibacilles, est bactérie intestinale des mammifères très commune chez les êtres humains. Découvertes en 1985 par *Théodore Escherichia*, dans les selles de nourrissons, certaines souches d'*Escherichia coli* peuvent être pathogènes.

C'est une bactérie normalement présente parmi la microflore digestive de l'homme et des animaux à sang chaud.

Cette bactérie était initialement sensible à beaucoup d'antibiotiques, mais d'acquisition de la résistance est fréquente, surtout en milieu hospitalier (Nauciel et vildé, 2005).

Cette espèce qui a fait l'objet d'un très grand nombre d'études, constitue le modèle des bacilles à gramme négatif aérobie (Bernard et Beynaud, 2003).

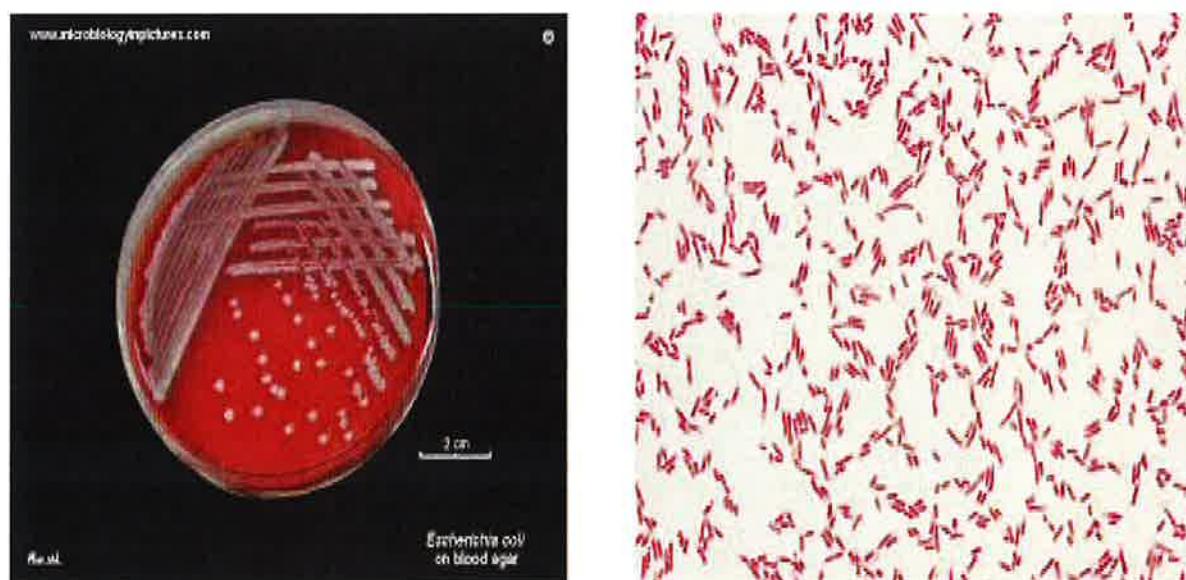


Figure 03 : Aspect des colonies d'*Escherichia coli* (Bernard et Beynaud, 2003)

E. coli est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux. Chez l'homme il est présent à raison de 10^9 bactéries/g de selle, de densité cependant très inférieur à celle des anaérobies qui constituent la flore dominante. La présence d'*E. coli* dans l'environnement est le témoin d'une contamination fécale, on peut les retrouver également au niveau de diverses muqueuses chez l'homme et chez les animaux.

Chez l'homme, cette bactéries se retrouve surtout dans les infections génito-urinaires et aussi dans les syndromes digestifs (appendicites, lithiase, biliaires infectée), circulatoires à endocardites), de plus *E. coli* apparait comme un des agents des infections néonatales (Septicémie méningite). (Fauchère et Avril , 2002).

Les coliformes sont des bâtonnets courts, Gram négatif et peuvent former des chaines. Dans des conditions de culture défavorable par exemple en présence d'antibiotique), des formes longue et filamenteuses apparaissent. Dans les certaines variétés d'*E-coli* produisent de l'hémolyse sur la Gélose au sang. *E-coli* décomposent de nombreux hydrates de caractère avec production de gaz (Jawetz et Malnik et Adelberg, 1973).

E. coli possède des caractères biochimiques particuliers permettant de le différencier des espèces voisines, parmi ces caractères :

- Production d'indole à partir du tryptophane.
- Absence d'utilisation du Citrate comme de Carbone.

4.3.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylocoques aureus occupe une place très importante dans la pathologie infectieuse humaine et animale ; en effet sa découverte dès l'aube de l'ère pasteurienne, le 3 mai 1880, Pasteur et Koch décèlent sa présence dans des pus de furoncle d'ostéomyélite. Un parasite microscopique en forme de grains sphériques associés plus fréquemment en amas ou en grappe de raisin et après une coloration de Gram, ces cocci regroupés en amas retiennent le violet et gentiane. Les *staphylococcus aureus* produisent une catalase et coagulase, ils sont aéro-anaérobies et poussent facilement sur un milieu ordinaire.

Elles sont répandues dans la nature, aussi bien dans l'air que dans le sol ou dans l'eau, elle est très souvent responsable d'infection pyogènes graves, depuis la peau, jusqu'à la moelle osseuse (Avril, 2002).

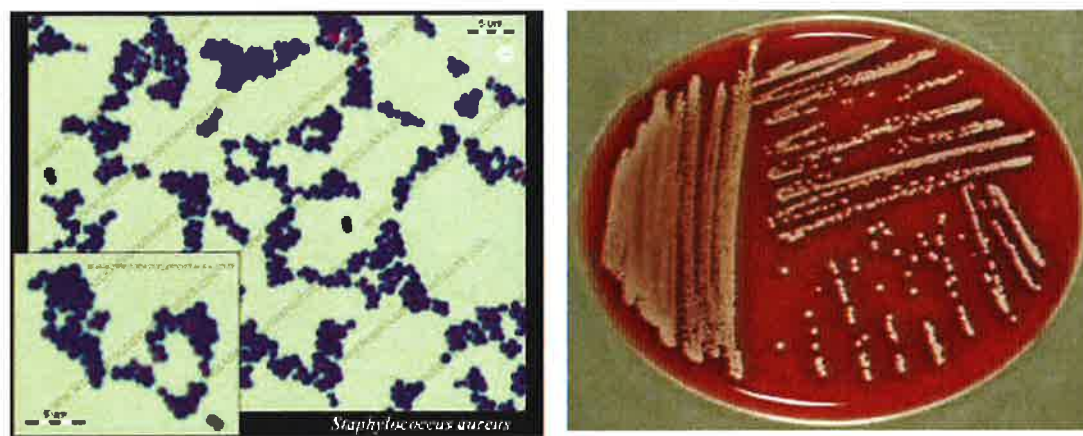


Figure 04 : Aspect des colonies de *Staphylococcus aureus* (Enelkirk ,2008).

Staphylococcus aureus est un germe ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air, et l'eau (Fauchère et Avril , 2002). La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme environ un tiers des sujets sont porteurs sains, ils hébergent la bactérie au niveau des muqueuses (principalement de la fosse nasale antérieure, ainsi que sur la peau, la bouche, le pharynx et le périnée.) et les zones cutanées humides (périnée, aisselles) (Nauciel et Vildé, 2005).

Staphylococcus aureus peut diffuser sous le mode épidémique (maternités, crèches, services de chirurgie et de réanimation), et aussi dans le milieu extérieur et est retrouvé dans l'environnement, notamment hospitalier (base de transmission indirecte des souches à partir des vêtements, de la literie, du matériel médical, de l'air et des poussières).

Les *Staphylocoques* apparaissent à l'examen microscopique comme des cocci à Gram positif, bactéries sphériques de 0.8 à 1 mm de diamètre (figure 04), regroupés en diplocoques ou en petits amas (grappes de raisin). Ils sont immobiles, sporulés habituellement sans capsules. Ces bactéries sont aéro-anaérobies, à métabolisme respiratoire et fermentaire, se cultivant facilement en 24 heures sur milieux ordinaires. *S. aureus* peut être aussi isolé sur milieux sélectifs (Chapman), les colonies sont connexes, lisses de 1 à 4 mm de diamètre (Berche et al, 1989).

- **Caractères biochimiques**

De nombreuses souche de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré ou citron, non diffusibles (caroténoïdes), et sont hémolytiques à la gélose du sang. Toutes les espèces du genre *Staphylococcus* sont catalase positif. L'espèce *S. aureus* est capable de fermenter le mannitol, et le produire des enzymes extracellulaires (Staphylocoagulase et DNA ase), et il est possible de mettre en évidence la protéine A de la paroi, chez près de 90% des souches (Berche et al, 1989).

En résumé, le *Staphylococcus aureus* présente :

- Une catalase active ;
- Absence d'Oxydase ;
- Existences de cytochromes D et E, de coagulase,
- Présente d'une gélatinasse.

Elle a la capacité de réduire la tellurite de Potassium, d'hydrolyser l'hippurite de Sodium et de produit de l'Ammoniaque à partir de l'arginine (Avril J.L et al., 1992).

La transmission directe de *Staphylococcus aureus* est possible de lésion ouvertes, telles que les infections cutanées ou muqueuse (Rhinopharyngites, Sinusites). Elle se fait directement par des gouttelettes, par la poussière, des squames cutanées et des objets.

Epidémiologique entre la source du comptage et le sujet infecté, donc l'air et ses poussières sont des vecteurs indiscutables de *S. aureus* qui se trouve sur les squames cutanées émises en permanence dans l'air.

A cet égard, le personnel hospitalier représente un vecteur important des *Staphylocoques* hospitalier (Ferron, 1984).

Staphylococcus aureus peut causer :

Des lésions suppurées, soit en :

- Formes cutanées : atteinte plus ou moins sévère des follicules pilo-sébacés (folliculite, furoncle, anthrax), atteinte péri-unguéale (onyxis, perionyxis, atteinte du sous-cutané panaris, phlegmons) ;
- Certaines formes superficielles (impétigo) peuvent se compliquer en de lésions bulleuses graves lorsque la souche de staphylocoque est productrice d'exfoliatine ;
- Elle est aussi responsable de mastites chez les femmes qui allaitent ;
- Des atteintes pulmonaires peuvent s'observer notamment chez les nourrissons et chez les malades sous ventilation assistée (Nauciel et vildé, 2005).

4.3.3. *Streptocoques fécaux*

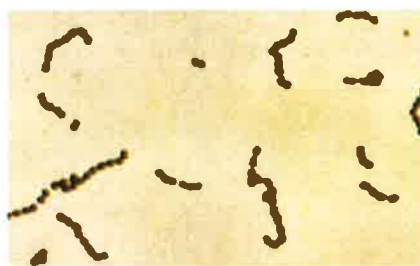


Figure 05 : Aspect des colonies de Streptocoque

Les streptocoques fécaux (Entérocooccus ou streptocoques du groupe D) sont des commensaux de l'intestin., sont des indicateurs de contamination fécales, elles sont présentes dans les intestins d'environ 75% des humain (Avril, (2002).

De toutes les bactéries non sporogènes, ces germes sont parmi ceux qui résistent le mieux à des conditions de milieu favorables.

Selon Moussel (1968) cité par Waes (1973) constate que l'on commence à comprendre pourquoi tant de rapports se contredisent quant à l'aptitude ou à l'inaptitude des streptocoques meilleurs indicateurs de la qualité hygiénique du lait. Toutefois, ces germes sont moins souvent associés aux germes pathogènes que les coliformes fécaux. Ils ne renferment pas d'espèce considérée pathogène du point de vue alimentaire. Leurs présences en nombre relativement élevé, témoigne d'une prolifération bactérienne indésirable dans le lait et fait présumer une qualité douteuse.

4.3.4. Levures et moisissures

Les levures et les moisissures sont des cellules eucaryotes. Regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre ainsi que dans tous les autres produits laitiers. On retrouve aussi dans le domaine laitier des levures nuisibles responsables de certaines dégradations détectées par des odeurs d'alcool, par un gonflement des emballages et du fromage dû à la production de gaz.

Les champignons de moisissures métabolisent de la même manière que les bactéries et les levures. Dans la laiterie, l'effet des moisissures sur la matière grasse et les protéines est très intéressant. Elles peuvent être utiles ou indésirables en industrie alimentaire elles se développent en surface ou dans les parties internes aérées. C'est ainsi que le *Penicilium camemberti* et *Penicilium roqueforti* sont utilisés dans la fabrication de divers types de fromages et jouent un rôle important dans la transformation du lait (Beuvier et Feutry, 2005).

4.3.5. Salmonelles



Figure 06 : Aspect de Salmonelle

Les Salmonelles sont transmissibles des animaux à l'homme, par le biais d'aliment contaminés, elles peuvent provoquer des septicémies parfois mortelles. Les traitements thermiques (type pasteurisation) détruisant les *Salmelles*, les produits laitiers sont rarement responsables des cas recensés ; néanmoins, il existe des souches résistantes. Le problème est présent dans certains élevages bovins où sous leur forme clinique, elles provoquent des diarrhées sanguinolentes, une forte fièvre et des avortements ainsi que des septicémies chez les veaux. La gravité des symptômes (risque élevé de mort) et l'évolution rapide font qu'il est nécessaire de soigner le plus vite possible, les animaux atteints. Certains *Samonelles* résistent aux antibiotiques, il est donc parfois dur de s'en débarrasser.

La contamination des bovins peut se faire par consommation d'eau ou ingestion d'aliments souillés par les déjections d'un animal atteint, éventuellement d'une autre espèce

(porcs, volailles, oiseaux, animaux sauvages) et qui excrète des *Salmonelles* dans le milieu extérieur. Ces bactéries peuvent résister plusieurs semaines dans le milieu extérieur.

Les animaux atteints doivent être séparés du reste du troupeau pour éviter la propagation de la maladie. L'ensemble du cheptel sera surveillé afin de détecter rapidement d'autres cas. Après une phase de Salmonellose clinique dans un élevage, des animaux porteurs sains peuvent être excréteurs, surtout pendant l'hiver.

Des troupeaux peuvent être contaminés sans jamais manifester des symptômes extérieurs. Même si leur excrétion de *Salmonelles* est plus faible que celles des malades, elle suffit à transmettre les germes aux autres animaux qui n'étaient pas encore touchés par la maladie.

Le lait, quant à lui, peut être contaminé par les *Salmonelles* présentes dans les bouses ou l'eau utilisée lors du lavage du matériel de traite. Pour la prévention contre les Salmonelles il faut :

- La préservation des fourrages et des concentrés vis-à-vis d'une éventuelle contamination par les déjections ;
- Le contrôle de la potabilité de l'eau (1 à 2 fois/an), aussi bien celle utilisée pour l'abreuvement que pour le nettoyage du matériel de traite ; pas d'utilisation de mares (risque de forte contamination de l'eau par les bouses) ;
- Le nettoyage et la désinfection des locaux et des abreuvoirs ;

En cas de présence de la maladie dans le troupeau, il faudra :

- Interdire toute consommation de lait cru dans l'élevage ;
- Prévenir la laiterie ;
- Prendre des précautions d'hygiène avant, pendant, et après les interventions sur un animal à soigner ;

Assainir les déjections contaminées. (Cauty et Perreau, 2009).

Expérimentation

1. Objectif

L'objectif de cette étude est de déterminer la flore pathogène de bovins laitiers de la ferme expérimentale de l'université de Mostaganem, et ce, pour l'appréciation de sa qualité et afin de mettre en évidence la relation entre les différentes techniques d'hygiène de la traite, l'environnement (le bâtiment, l'ambiance et le personnel), et la flore pathogène existante dans le lait cru.

Notre but s'inscrit dans l'étude de l'influence de l'environnement, sur la qualité du lait.

2. Zone d'étude

2.1. Présentation de la zone d'étude

Le travail a été réalisé à la ferme expérimentale de l'université Abdelhamid Ben Badis, sise, à Hassi Mameche (wilaya de Mostaganem). La surface de la ferme est de 65 Hectares.



Source : <https://scontent-mrs1-1.xx.fbcdn.net/v/t34.0-1>

Figure 07 : situation géographique de la ferme de l'université.

○ : Situation de l'étable et du pâturage.

2.2. Situation sanitaire de la ferme

L'entretien concernant l'état sanitaire du troupeau s'est déroulé avec des personnes qualifiées de la ferme, et l'entretien concernant l'état santé de la vache s'est déroulé avec le médecin vétérinaire de la ferme.

En ce qui concerne le personnel de la ferme, il y a six employés ayant la qualité d'éleveurs et de trayeurs. A cet effet, nous avons constaté qu'ils ne portaient ni gants, ni blouse. De plus, ils ne se nettoyaient les mains qu'avec de l'eau, sans utiliser, soit de l'eau javellisée, soit du savon. Pour ce qui est d'un trayeur, en plus de ne pas porter de gants, il présente des gerçures sur une main.

Concernant l'élevage, il comprend 3 vaches et 3 veaux. Elles sont numérotées pour leur identification. La production de ces 3 vaches est variée entre 18 et 20 litres par jour.

Nous avons constaté que la conservation de l'eau pour le nettoyage se trouve dans une citerne, tandis-que la source de l'eau utilisée pour l'abreuvement est l'eau du puits, qui a fait l'objet d'une installation permettant la distribution de l'eau au moyen de robinet.

Le matin et le soir, au moment de la traite, le concentré, V.L.B.17, aliment complet supplémenté en vitamines, produit par l'Office National de l'Alimentation du Bétail (Annexe 1). Il est composé de céréales, tourteaux de soja, issues de meuneries, calcaire, phosphate, sel, oligo-aliments et vitamines (A, E et D3).

Après la traite, les vaches vont sur le terrain, elles ingèrent le fourrage et de luzerne. Dès leur entrée du pâturage, elles s'abreuvent ad-libitum.

En ce qui concerne les analyses d'expérimentation, elles ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche des sciences et techniques de production animale (LSTPA) Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale.

2.3.Présentation du laboratoire LSTPA

Ce laboratoire est situé à Hassi Mameche dans l'enceinte de la ferme expérimentale de l'université de Mostaganem. Il s'agit d'un laboratoire de recherche scientifique composé de :

- Bureau du directeur;
- Bureaux des chefs d'équipe ;
- Bureau de l'ingénieur de laboratoire ;
- Deux salles de laboratoire pour les analyses bactériologiques ;
- Une sale de laboratoire pour les analyses physicochimiques ;
- Une sale pour la PCR ;
- Magasin de stockage des produits chimiques ;
- Deux salles de cours ;
- Espace doctorant ;
- Une kitchenette et des sanitaires.

3. Matériel et méthodes des analyses microbiologiques

Cette expérimentation bactériologique exprime les effets des facteurs de variation sur la qualité du lait cru.

3.1.Matériel et réactifs

Tous les milieux de culture, les réactifs et le matériel que nous avons utilisés dans cette expérimentation, sont présentés dans l'Annexe 02

Les prélèvements des différents échantillons pour nos expérimentations ont été réalisés en période indiquée au tableau suivant :

Tableau 02: Période des prélèvements des différents échantillons

Prélèvements	Echantillons	Dates des prélèvements	
		1 ^{er} prélèvement	2 ^{eme} prélèvement
<i>Lait</i>	Traite manuelle	17/04/2017 à 07 :00	29/04/2017 à 07 :05
	Traite mécanique	17/04/2017 à 07 :15	29/04/2017 à 07 :18
<i>L' abreuvement</i>	L'eau de puits	17/04/2017 à 07 :20	29/04/2017 à 07 :25
<i>L'alimentation</i>	Le concentré	17/04/2017 à 07 :30	29/04/2017 à 07 :36
<i>L'ambiance</i>	L'air	17/04/2017 à 07 :00	29/04/2017 à 07 :05
<i>La surface</i>	La machine à traire	17/04/2017 à 10 :15	29/04/2017 à 10 :13
	Le personnel	17/04/2017 à 10 :20	29/04/2017 à 10 :20
	Le mur	17/04/2017 à 10 :25	29/04/2017 à 10 :25

3.2.Echantillonnage et prélèvements

Il est important que l'échantillon soit représentatif de la surface soumise à essai et non modifié, ni par le transport et le stockage, ni par des résidus de désinfectants. Concernant le préleveur, une protection doit couvrir l'ensemble de sa chevelure, et le lavage de ses mains doit se faire avec du savon, et séché avec du papier à usage unique.

3.2.1. Traite et prélèvements du lait

Etant donné que le but de l'étude est de mettre en évidence la relation entre les différentes techniques de traite manuelle et mécanique, et la flore pathogène existante dans le lait cru, l'opération concernant le prélèvement de lait a été réalisé par flaconnage pour les deux traites (manuelle et mécanique).

- **Lait de la traite manuelle**



Figure 08 : Prélèvement du lait manuellement

Nous avons réalisé le prélèvement en appliquant certaines conditions d'hygiène de la traite, dont le nettoyage des mains avec un savon et le port de gants. Les mamelles uniquement sont nettoyées avec l'eau pré-chaude javellisée, séchées avec une serviette stérilisée, propre. Nous avons désinfecté la surface des pis à l'aide d'un coton contenant de l'eau javellisée, les premiers jets sont prélevés dans un récipient noir pour avoir un aperçu sur l'aspect qualitatif du lait. Le prélèvement de lait est réalisé manuellement directement du pis vers le flacon stérilisé (figure 08) et conduit au laboratoire rapidement.

- **Lait de la traite mécanique**



Figure 09 : Prélèvement du lait de la machine à traire

Le prélèvement a été réalisé par un ouvrier chargé des animaux qui s'est nettoyé les mains seulement avec de l'eau, et n'a pas porté de gants. Les mamelles sont nettoyées avec l'eau pré-chaude additionnée d'eau de javel pour les désinfecter et éviter les risques de contamination. Les premiers jets de lait sont jetés dans un gobelet, ensuite la machine à traire est branchée sur les quatre pis. Le lait est réceptionné dans un bidon propre et le prélèvement est réalisé dans un flacon stérilisé et transféré au laboratoire rapidement.

3.2.2. Prélèvement de l'eau de puits



Figure 10 : Prélèvement de l'eau de robinet
(Dont la source est le puits).

Avant tout prélèvement de l'eau, dont la source est le puits, nous avons procédé à la stérilisation du robinet. Pour cela, l'extérieur et l'intérieur du bec du robinet doivent être nettoyés à l'aide d'une pièce de coton propre imbibé d'une solution d'eau de javel (environ 5

% d'hypochlorite de sodium) ou de l'alcool (alcool à friction). Afin de s'assurer que l'eau prélevée est représentative de celle circulant dans le système de distribution, il faut laisser couler l'eau pendant 5 minutes avant de prélever un échantillon.

Le contenant doit être rempli au moins jusqu'au niveau indiqué dans des flacons de 250 ml autoclavés au four Pasteur à 180°C durant 30mn. Et en dessous de l'espace d'air d'au moins 2,5 cm entre la surface du liquide et du bouchon.

Le formulaire accompagnant le prélèvement d'analyse doit être rempli soigneusement. L'échantillon doit être conservé à environ 4 °C avant l'opération d'analyse.

3.2.3. Prélèvement de l'aliment

- **Concentré**



Figure 11 : Prélèvement du concentré par flaconnage

Le concentré a été recueilli dans des flacons stériles qui sont plongés dans le sac du concentré, puis le flacon fermé avec précaution (figure 11).

L'échantillon est ensuite rapidement transporté au laboratoire et conservé à 4°C dans l'attente de l'analyse.

3.2.4. Prélèvement de l'air ambiant

Nous avons ouvert les boîtes de Pétri, qui ont été coulées par des géloses spécifiques, par terre, sur la litière, là où les vaches s'abreuvent et ingèrent le concentré, et nous les avons laissées ouvertes pendant 15min, ensuite, les boîtes ont été transportées au laboratoire pour être incubées rapidement dans des étuves à différentes températures, selon le type de la bactérie à rechercher.

3.2.5. Prélèvement personnel

Nous avons réalisé le prélèvement sur les mains de l'ouvrier en présumant qu'il les avait auparavant nettoyés. À l'aide d'un écouvillon stérile imbibé à l'eau peptonée, nous avons fait un frottis forme va-et-vient sur les deux paumes des mains de gauche et droite, entre les doigts, les angles et sur toute la surface de la main. Les écouvillons sont transférés au laboratoire immédiatement après le prélèvement.

3.2.6. Prélèvement de la machine à traire



Figure 12 : Prélèvement par écouvillonnage, de la machine à traire.

Pour réaliser un prélèvement sur le bidon et les faisceaux de la machine à traire, nous avons sorti un écouvillon de son emballage stérile, humidifié son extrémité en le plongeant dans un tube contenant le diluant eau peptonée, l'excès de diluant est éliminé en le pressant contre la paroi du tube. A l'aide de l'extrémité de l'écouvillon, puis nous avons tracé des stries sur la surface de la machine à traire en faisant tourner l'écouvillon entre le pouce et l'index. L'écouvillon est replacé dans le tube avec le diluant en coupant le bâtonnet. Les écouvillons sont acheminés au laboratoire immédiatement après le prélèvement (figure 12).

3.2.7. Prélèvement de la surface du bâtiment



Figure 13 : Prélèvement de surface par écouvillonnage sur le mur de l'étable.

Concernant le mur du bâtiment, nous avons suivi le même principe de prélèvement que précédemment, en le réalisant sur une surface estimée entre 20 et 100 cm² (figure 13).

3.3.Méthodes d'analyse microbiologique

Selon la législation (JORA, N° 35, 1998), nous avons recherché les germes suivants dans le lait:

- Les germes aérobies mésophiles totaux à 30°C ;
- Les coliformes fécaux ;
- Les Streptocoques fécaux ;
- Les *Staphylococcus aureus* ;
- Les Salmonelles.

NB : la recherche des *Clostridium sulfito-réducteurs* n'a pas été réalisé par manque de moyens.

Concernant le contrôle d'ambiance et de l'environnement (l'étable) nous avons procédé pour l'analyse bactériologique à la recherche des mêmes germes recherchés dans le lait et ce, afin de pouvoir faire une comparaison des résultats.

3.3.1. Préparation des dilutions

Avant toute analyse microbiologique qui doit être réalisée dans des conditions d'asepsie, nous avons effectué une série de dilutions qui sont réalisées à partir de la solution mère. Nous avons préparé des dilutions décimales pour faciliter l'examen microbiologique.

Principe

Les écouvillons pour les prélèvements de la surface (machine à traire, personnel, mur), sont mis dans des tubes stériles contenant 9ml d'eau peptonée tamponnée, le contenu de ces derniers est considéré comme solution mère.

Concernant l'aliment (concentré), nous avons pesé 25g de concentré mélangé avec 225ml d'eau peptonée tamponnée, puis nous avons broyer l'aliment 6 à 8 minutes, dans un broyeur de type STOMACHER à 25°C qui a été considéré comme solution mère (Norme NF V 08 – 002).

La suspension mère est homogénéisée avant son utilisation pour éviter l'émulsion obtenue. A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, 1ml de la solution mère est introduite dans un tube contenant 9 ml de diluant stérile (eau peptonée), la solution est homogénéisée à l'aide d'un vortex pendant 5 à 10 secondes. A partir de cette dilution 10^{-1} , on réalise les autres dilutions, de 10^{-2} à 10^{-5} , en évitant le contact de la pipette avec le diluant, nous avons utilisé une nouvelle pipette pour chaque dilution, et agité la suspension avant les ensemencements. (Norme NF V 08- 010).

Chaque échantillon a subi les analyses suivantes :

3.3.2. Recherche de la flore aérobie mésophile total (FTAM)

La Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présentes dans un produit. Ce dénombrement se fait à 30 °C ce qui permet de dénombrer trois grands types de flore :

- La flore thermophile, température optimale de croissance à 45 °C ;
- La flore mésophile, température optimale de croissance entre 20 °C et 40 °C
- La flore psychrophile, température optimale de croissance à 20 °C.

Technique

A partir de dilutions (10^{-1} à 10^{-5}), que nous avons versé aseptiquement 1ml de chaque dilution, dans une boîte Pétri, et complété avec 20ml de gélose PCA (Plate Count Agar) fondue puis refroidie à 45°C . Nous avons réalisé ensuite des mouvements circulaires de va-et-vient en forme de huit pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, les boîtes de Pétri sont placées à l'envers dans l'étuve pour une incubation de $72 \pm 3\text{h}$ à 30°C (Norme NF ISO 7218).

Interprétation des résultats

La flore aérobie mésophile totale présente après 72 heures d'incubation des colonies différentes sous formes lenticulaires en masse blanche et jaune, de différentes tailles, de formes cocci et bacille, et le nombre des colonies obtenues est multiplié par l'inverse de la dilution pour avoir le nombre de germes (Norme XP V 08-102).

3.3.3. Recherche des coliformes fécaux

Les coliformes thermo tolérants ou coliformes fécaux sont un sous-groupe des coliformes totaux et capables de fermenter le lactose à une température de 44°C .

- **Ensemencement en masse (profondeur) dans un milieu VRBL**

A partir des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-3}), nous avons porté aseptiquement 1ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri vide pour un ensemencement en profondeur, ensuite, nous avons versé la gélose, environ 15ml de gélose au cristal Violet et au Rouge neutre Biliée Lactosée (VRBL) fondue et refroidie à 45°C , puis nous avons homogénéisé les boîtes par des mouvements circulaires, sous forme de huit (Norme NF ISO 7218).

Une fois la gélose solidifiée sur paillasse, les boîtes sont portées à une incubation de 44°C pendant 24 à 48 heures en position inversée.

Interprétation des résultats

Les coliformes fécaux présentent après 24 heures d'incubation, des colonies violacées d'un diamètre égal ou supérieur à 0,5mm (Norme XP V 08-102).

- **Ensemencement dans un bouillon VBL avec Cloche de Durham (pour la confirmation)**

Nous avons introduit 1ml des différentes dilutions dans chaque tube Vert brillant Bouillant Lactosé (VBL) des 3 tubes 10^{-1} , 3 tubes 10^{-2} et 3 tubes 10^{-3} , chassé le gaz présent dans les cloches avant l'incubation, puis les tubes ont été incubés pendant 24 - 48h à 44°C (Norme NF ISO 4831).

Interprétation des résultats

L'acidification du milieu et le dégagement de gaz, après incubation de 24-48 h à 44°C, indique la présence des coliformes fécaux.

3.3.4. Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli*

La présence d'*Escherichia coli* dans l'environnement signe toujours une contamination fécale.

- **Test de confirmation d'*Escherichia Coli***

Nous avons repiqué 3 à 5 colonies caractéristiques sur le milieu eau peptonée exempt d'indole, ces derniers ont été incubés à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation, nous avons ajouté aux tubes ensemencés, 2 gouttes de réactif Covax.

Interprétation des résultats

La formation d'un anneau rouge signifie la production d'indole (indole+), ce qui indique la présence d'*Escherichia coli*.

3.3.5. Recherche des *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de l'homme et l'animal. La présence de leurs toxines est responsable d'intoxications alimentaires (Cauty et Perreau, 2009).

- **Ensemencement en surface dans un milieu Chapman**

A partir des dilution (10^{-1} à 10^{-3}), nous avons versé aseptiquement, une quantité de 0,1 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri, puis nous avons étalé l'inoculum dans toute la surface de la boîte à l'aide d'une pipette râteau, sans toucher la paroi de la boîte, pour ne pas gêner par la suite le dénombrement. Les boîtes sont incubées à 37°C , pendant 24 heures à 48 heures.

Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés comme présente sur le tableau 03 :

Tableau 03 : La lecture dans un milieu Chapman au mannitol

Observation	Interprétation	Conclusion
Colonies jaunes brillantes	Virage de l'indicateur de pH, sa teinte est due à la production de composés acides par les bactéries	Utilisation du mannitol par les bactéries. Elles sont dites mannitol(+).
Colonies rouges	Absence de virage de l'indicateur de pH .	Absence d'utilisation du mannitol par les bactéries. Elles sont dites mannitol(-)

Source : (Joffin et Leyral,2014).

- **Ensemencement dans le bouillon Giolitti Cantoni**

Nous avons coulé H 15 ml du bouillon Giolitti Cantoni (GC), additionné d'une ampoule et demi de Tellurite de potassium dans des tubes stériles, puis nous avons pris 2 colonies suspectes, et les avons introduites dans ces tubes, ensuite incubé à 37°C pendant 48h.

Interprétation des résultats

Le changement de la couleur de bouillon GC, d'une couleur jaune vers une couleur noire, est considérée comme un résultat positif. Nous avons confirmé ce résultat, par la méthode des cadrans (Norme XP V 08-102).

- **Ensemencement dans un milieu Baird Parker**

Nous avons versé environ 18ml de gélose Baird Parker fondue et refroidie dans chaque boîte Pétri, après la solidification de la gélose, les boîtes sont retournées,

A l'aide d'une anse de platine, nous avons ensemencé sur des boîtes de gélose Baird Parker à partir de chaque bouillon de GC positif. Ensuite nous les avons incubées pendant à 48 ± 2 h à 37°C (Norme NF ISO 6888).

Interprétation des résultats

Un résultat est comme positif, lorsque les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent, en 24-48heures, noires entourées d'un halo clair (Norme XP V 08-102).

- **Test de coagulase**

Ce test a pour but de mettre en évidence la pathogénicité d'un *Staphylocoque*. Les *Staphylocoques* pathogènes secrètent une enzyme dite "la staphylocoagulase" qui a la propriété de coaguler le plasma.

La staphylocoagulase est une enzyme qui permet de catalyser la transformation du fibrinogène (soluble) en fibrine (insoluble) selon la réaction suivante:

Staphylocoagulase

Fibrinogène soluble + H_2O \longrightarrow Fibrine insoluble + peptides

Le test de la coagulase se réalise en deux test. On considère qu'il y a une réaction positive lorsque le plasma est coagulé.

➤ **Test de BHIB**

A l'aide d'une anse de platine et à partir d'une colonie suspecte sur le milieu Chapman, nous avons ensemencé un bouillon coeur-cerveille (ou Brain Heart Infusion Broth = BHI Broth). Puis nous avons agité les tubes dans un vortex, ces derniers sont incubés à 37°C pendant 20 à 24 h.

Interprétation des résultats

La présence d'un trouble microbien dans les tubes de BHIB, indique la multiplication des *Staphylococcus aureus*.

➤ **Test au plasma de lapin**

A côté d'un bec benzène, et dans un nouveau tube stérile, nous avons mélangé 0,1 ml de la culture obtenue en de BHIB avec 0,3 ml de plasma de lapin. Porter à l'étuve à 37°C et examiner les tubes 6h puis 24 h après (Norme NF ISO 6888 -2).

• **Interprétation des résultats**

Une coagulation rapide le coagulum occupe + des $\frac{3}{4}$ du volume du liquide initial, après environ 6 heures, indique la présence des *Staphylococcus aureus* (Norme NF ISO 6888 -2).

Le test de la coagulase permet l'identification de 99% des souches de *S. aureus* mais certaines souches ne produisent pas de coagulase. L'identification de l'espèce est dans ce cas réalisée par d'autres tests : Tests d'agglutination, et l'identification biochimique. Nous n'avons pas réalisé ces tests, en manque de produit.

3.3.6. Recherche des streptocoques fécaux

Les *streptocoques fécaux* sont des indicateurs de contamination fécale. Leurs présences dans les denrées alimentaires sont un indice de manipulations non-hygiéniques, et sont la cause d'intoxications alimentaires (Waes,1973).

- **Ensemencement en surface dans un milieu Slanetz**

A partir de dilutions (10^{-1} à 10^{-3}), nous avons prélevé avec une pipette Pasteur 2 ou 3 gouttes (environ 0,1 ml) de chaque dilution que nous avons déposé et étalé avec un râteau sur la gélose Slanetz, solidifiée dans les boîtes de Pétri. Après solidification de la gélose, ces dernières sont incubées à 37°C pendant 48 heures en position inversée.

Interprétation des résultats

Les colonies présentant une coloration rouge à marron doivent être considérées comme caractéristiques des *streptocoques*.

La recherche des *streptocoques fécaux* ou de streptocoques du groupe D de la classification de Lancefield Cette recherche se pratique en deux étapes :

- **Test présomptif dans un bouillon Rothe**

Ce milieu permet l'enrichissement entérocoques d'un inoculum de produit alimentaire. Un trouble signe la présence éventuelle de ces bactéries qu'il faudra ensuite confirmer par le test de de Litsky.

- Ensemencement :

A partir des dilutions (10^{-1} à 10^{-3}), nous avons porté aseptiquement 1 ml de chaque dilution que nous avons versé dans des tubes contenant 9ml de milieu de Rothe, et nous avons mélangé l'inoculum dans le milieu, puis nous l'avons mélangé dans un vortex électronique, ces derniers sont incubés à 37°C , pendant 24 à 48 heures.

Interprétation des résultats

Les tubes présentant un trouble microbien, sont considérés comme positifs, et sont soumis au test confirmatif.

- **Test confirmatif dans un bouillon Eva Litsky**

Nous avons fait le repiquage des tubes positifs à l'aide d'une anse de platine bouclée que nous avons introduit au test de présomption des tubes contenant un milieu Eva Litsky. Après avoir mélangé l'inoculum dans le milieu, l'incubation se fait à 37°C , pendant 24 heures.

Interprétation des résultats

L'apparition d'un trouble microbien confirme la présence d'un *Streptocoque fécal*, parfois la culture s'agglomère au fond du tube en fixant le colorant et en formant une pastille blanchâtre de signification identique à celle du trouble.

3.3.7. Recherche des salmonelles

Les salmonelles sont transmissibles des animaux à l'homme, par le biais d'aliments contaminés. Les salmonelloses sont la première cause d'intoxication alimentaire chez l'homme, chez qui, elles peuvent provoquer des septicémies, parfois mortelles (Cauty et Perreau, 2009).

- **Pré-enrichissement**

Nous avons déposé 25 ml de l'échantillon à analyser (cas liquide), ou 25g de l'échantillon à analyser (cas solide) dans un flacon contenant 225ml d'eau peptonée, qui sont ensuite mis à incuber à 37°C pendant 16- 20 heures.

- **Enrichissement**

Après l'incubation, le flacon de pré-enrichissement est bien agité, puis 100 ml de cette solution sont rajoutés dans un flacon contenant 90ml de bouillon SFB (sélénite acide de sodium) additionné de 20 disques de sélénites et agités, puis incubés à 37°C pendant 18-24 heures.

- **Isolement**

Fondue et refroidie à 45± 1°C, le milieu SS(Salmonella-Shigella) est coulé dans les boites de Pétri et laissé se solidifier. Ensuite, nous avons rajouté dans la boite de Pétri 3 gouttes du milieu d'enrichissement qui sont étalées avec une pipette Pasteur forme râteau. Les boites sont incubées à 37°C pendant 24 heures (Norme NF V 08 6- 052).

Interprétation des résultats

Les salmonelles qui ne fermentent pas le lactose, présentent des colonies incolores, transparentes, avec ou sans centre noir (production d'H₂S). Tandis-que les Shigellas sont incolores et les coliformes présentent des colonies rouges ou rosées.

3.3.8. Recherche des levures et moisissure

Nous avons fondu et refroidi le milieu Sabouraud à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, qui est coulé dans les boîtes de Pétri et laissé se solidifier. Ensuite, nous les avons laissées ouvertes par terre, sur la litière là où les vaches s'abreuvent, ingèrent le concentré et se couchent, pendant 15 minutes, puis elles ont été incubées à 25°C pendant 5 jours (Norme NF ISO 7954).

Interprétation des résultats

La majorité des levures sont de couleur blanche à neige. Un certain nombre d'entre eux produisent des pigments caroténoïdes ; les colonies sont alors colorées en orange ou en rouge, d'une surface lisse ou rugueuse.

La croissance des moisissures est représentée par des zone mates, feutrées, blanches, grises ou brunes.

3.3.9. Isolement et dénombrement des bactéries pathogènes

Le dénombrement reflète la quantité microbiologique générale et la stabilité des produits ainsi que la qualité (propreté) des installations (Guiraud,2003).

Le comptage direct des colonies se fait par comptage des colonies isolées à partir des milieux gélosés. L'unité UFC (Norme XP V 08-102).

$$N \text{ (UFC)} = X \cdot L' \text{inverse } 10^{-n}$$

N : somme totale des colonies comptées.

n : nombre de dilution

X : nombre des colonies comptées.

3.3.9.1. Examen macroscopique

L'aspect macroscopique des cultures sur milieu solide, constitue encore, une part importante de l'identification d'un microorganisme. Sur milieu solide, après une culture en surface (isolement), on peut caractériser les bactéries selon l'aspect des colonies formées. Plusieurs critères sont pris en ligne de compte : la taille ; la forme ; l'aspect.

1.1.1.1. Examen microscopique

L'observation microscopique permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce bactérienne.

- **Examen microscopique après coloration de Gram**

A partir des colonies suspectes isolées sur les milieux de cultures précédents, nous avons réalisé une coloration Gram Annexe 3

1.1.1.2. Test à la catalase

La recherche d'une catalase est un test important pour différencier les *Staphylocoques* des *Streptocoques*. Les staphylocoques donnent des réactions positives alors que les autres donnent des réactions négatives. La catalase est une enzyme qui dégage l'eau oxygène (issus de la voie respiratoire Oxydative directe) en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante:



- ✓ **Principe**

Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée à 20 volumes et y ajouter directement une partie de la colonie prélevée sur milieu sélectif.

- **Interprétation des résultats**

Si la souche examinée possède une catalase, nous observons un dégagement immédiat de bulles gazeuses.

1.1.1.3. Test d'oxydase

C'est un test discriminant qui permettra de faire des hypothèses sur l'identité de la bactérie étudiée.

Dans les mêmes conditions précédentes, et avec l'anse de platine, nous avons placé une colonie sur un disque d'oxydase.

1.1.1.4. Purification des souches bactériennes**✓ Principe**

On prépare les boîtes de pétri et des bouillons. On prend une colonie (qui répond aux critères précités) et la mettre sur la boîte contenant le milieu sélectif ainsi dans le tube du bouillon, puis incubation à 30°C pour les mésophiles et 42°C pour les thermophiles pendant 24 heures.

✓ Remarque

On ne prend qu'une seule colonie, on doit mentionner les informations sur la boîte concernant la colonie. Il faut flamber l'anse après chaque strie et refroidir avant de faire les stries.

Chapitre V
Résultats et discussion

Résultats

1. Résultats d'analyses microbiologiques

1.1. Situation de l'exploitation

La ferme expérimentale de l'université de Mostaganem, est caractérisée par la présence d'une seule race, la HOLSHTEIN pie noire. Cette race est plus répandue dans les régions littorales du pays et se caractérise par une production laitière élevée.

Pour l'aménagement des locaux, nous avons remarqué les insuffisances suivantes : local de mise bas ; local de jeune bovin ; la salle de traite. Par contre, il y a un local pour stocker les aliments, afin d'éviter leur contamination. La surface du sol de l'étable est en béton, avec une superficie de 3m² par vache, nous avons noté l'absence d'un pédiluve à son entrée. Nous avons enregistré la présence d'autres espèces animales dans l'exploitation, tels que, les ovins, les chiens, les chats et la volaille. Les éleveurs éloignent ces animaux des bovins et ceci pour éviter la transmission des maladies.

Concernant les animaux, ils sont identifiés par des boucles numérotées à l'aide d'un code spécial à la wilaya de Mostaganem (figure 13), cela signifie que l'exploitation est agréée auprès des services vétérinaires de la wilaya de Mostaganem et que les troupeaux sont suivis du point de vue sanitaire. Aucune maladie n'a été observée en 2017 : ni mammite, ni fièvre vitulaire, ni de mortalité embryonnaire.



Figure 13 : Identification des vaches par des boucles numérotées.

1.2. Examen macroscopique des bactéries pathogènes

1.2.1. La flore aérobie mésophile totale

Dans le milieu PCA, après l'incubation de 24-72h, nous avons observés deux types de colonies différentes : blanche et jaune, de différentes tailles, de formes cocci et bacille dans le lait de la traite mécanique (LTM), et sur la machine à traire (MT) (figure 14), et le personnel (Prs) par contre, sur le mur, nous avons observé que des colonies blanches, de différentes tailles, de formes cocci (figure 15), ainsi leur présence dans l'eau (figure 17). Concernant la FTAM de l'air, nous avons remarqué la présence de quelques levures et moisissures dans les différentes boites (figure 16).

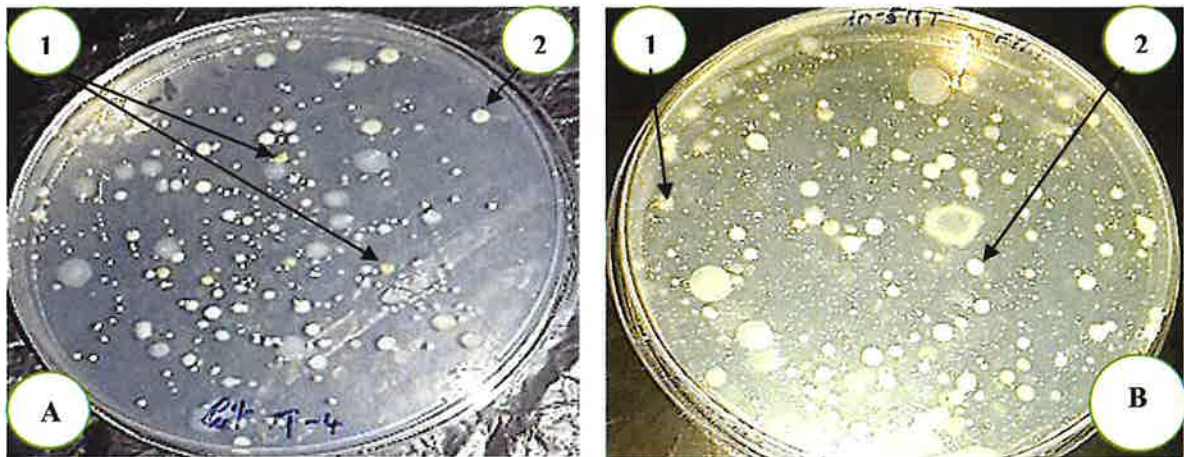


Figure 14 : Aspect macroscopique de la Flore Totale Aérobie Mésophile sur milieu PCA, A : (echantillon : LTM, dilution 10^{-4}) et B : (echantillon : MT,dillution 10^{-4}). 1 :colonie jaune et 2 :colonie blanche.

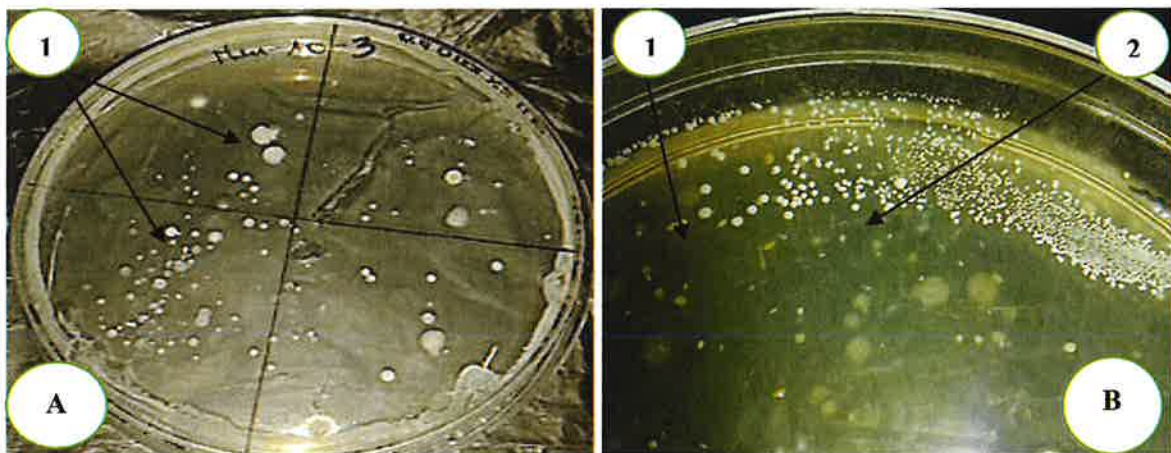


Figure 15 : Aspect macroscopique de la Flore Totale Aérobie Mésophile sur milieu PCA, A : (echantillon : mur, dilution 10^{-3}) et B : (echantillon : Prs,dillution 10^{-4}) ; 1 :colonie jaune et 2 :colonie blanche.

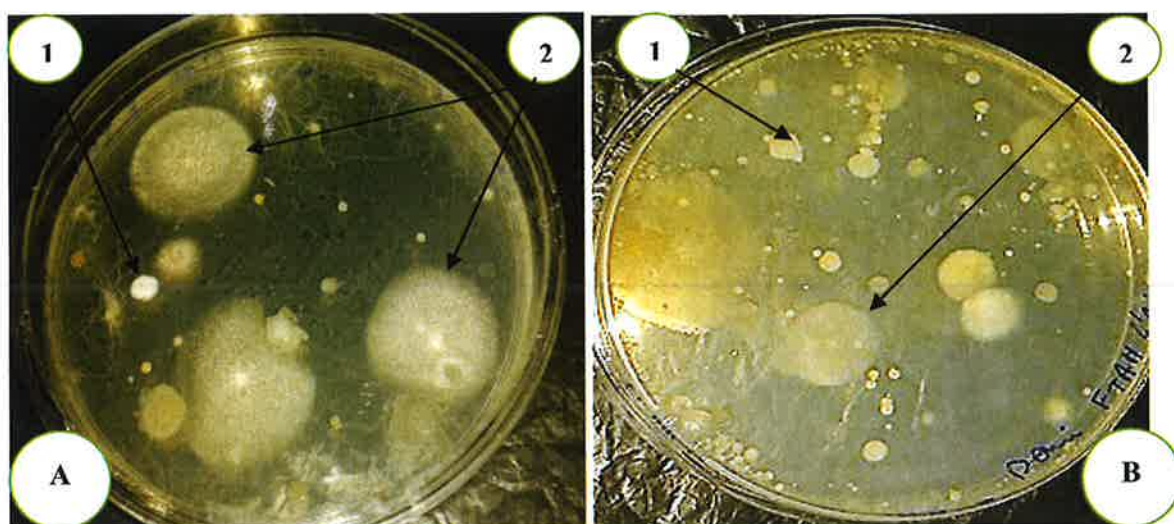


Figure 16 : Aspect macroscopique de la Flore Totale Aérobie Mésophile sur milieu PCA, A :(echantillon :l'air, zone d'abreuvement) et B : (echantillon : l'air, zone de la litière).

1 :levures et 2 :moisissures.

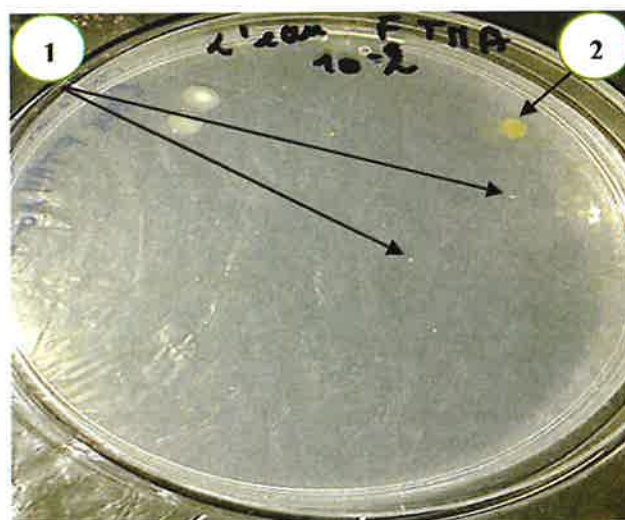


Figure 17 : Aspect macroscopique de la Flore Totale Aérobie Mésophile sur milieu PCA,(echantillon :l'eau, dilution 10^{-2}). 1 :colonie jaune et 2 :colonie blanche.1 :colonie jaune et 2 :colonie blanche.

1.2.2. Coliforme fécaux

Nous avons obtenu dans l'échantillon (MT, LTM) (figure 18) et l'échantillon (Prs), et leur absence dans l'eau (figure 19), ainsi dans les autres échantillons : air, aliment et lait de la traite manuelle.

Le milieu VRBL est un milieu sélectif pour l'isolement des coliformes fécaux que nous avons observé sous formes de colonies rondes et certaines à bords dentelés violacées de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm



Figure 18 : Aspect macroscopique des Coliformes fécaux sur milieu VRBL, A : (échantillon : MT, dilution 10^{-3}). B : (Echantillon : LTM, dilution 10^{-3}). C : colonies violacées.

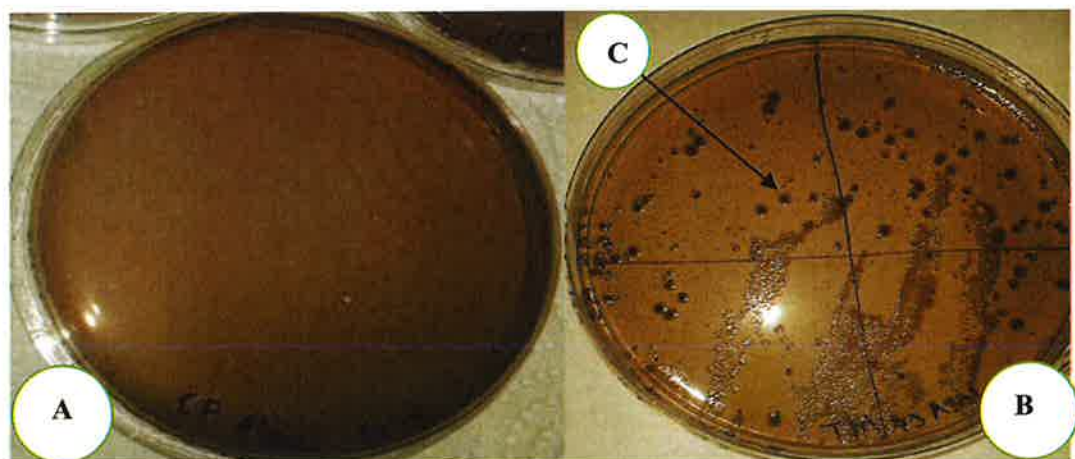


Figure 19 : Aspect macroscopique des Coliformes fécaux sur milieu VRBL, A : (échantillon : eau, dilution 10^{-2}). B : (Echantillon : Prs, dilution 10^{-3}). C : colonie violacée.

1.2.3. Streptocoques fécaux

Le milieu Slanetz, est sélectif pour l'isolement des Streptocoques fécaux, il nous a permis d'observer des colonies rondes rouges à marron. Nous avons remarqué l'absence de ce germe dans : l'eau (figure 21), l'aliment ; air le lait de la traite manuelle. Par contre leur présence dans les échantillons (LTM, MT) (figure 20), ainsi que sur le mur et le personnel.

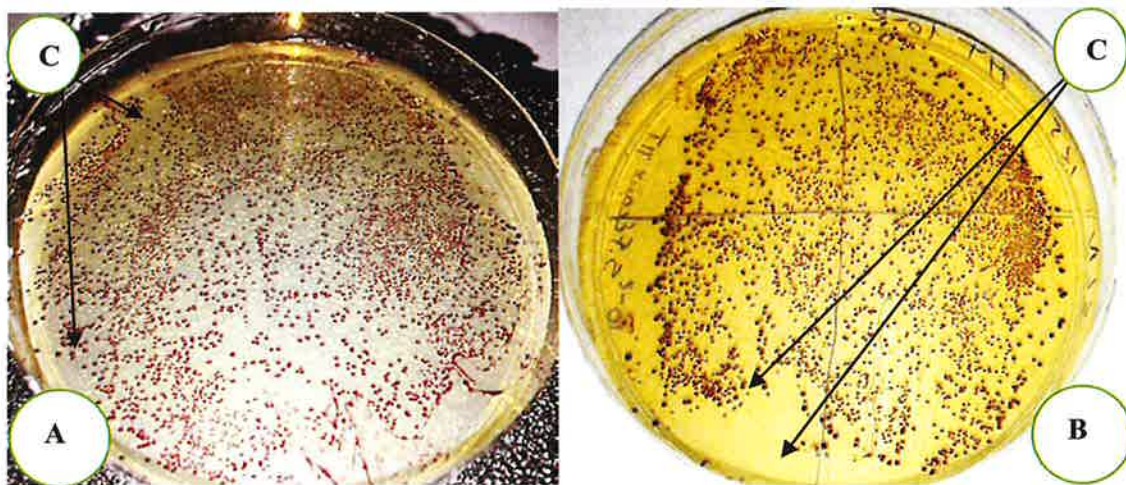


Figure 20 : Aspect macroscopique Streptocoques fécaux sur milieu Slanetz, A : (échantillon : MT, dilution 10^{-3}). B : (Echantillon :LTM, dilution 10^{-3}). C : colonies rouges à marron.



Figure 21 : Aspect macroscopique des Streptocoques fécaux sur milieu Slanetz, (échantillon : eau, dilution 10^{-2}).

1.2.4. *Staphylococcus aureus*

Dans cette étude, nous avons fait la recherche des *Staphylococcus aureus* dans le milieu Chapman. Ce dernier est un milieu sélectif pour l'isolement des Staphylocoques. Nous avons obtenu des bactéries sous forme des colonies rondes, jaunes, brillantes de différentes tailles, et nous avons remarqué la dégradation de la couleur jaune (figure 22) qui signifie l'utilisation du mannitol.

Nous avons remarqué la présence de ce germe dans le mur et dans le lait de la traite mécanique (figure 22). La figure 23 montre la présence de staphylocoque d'une autre espèce dans le personnel, ainsi que dans la machine à traire, sachant que nous avons confirmé ça dans les tests (Photos 29, 30 et 32), Nous avons remarqué l'absence de ce germe dans l'eau (Figure 23), et dans les autres échantillons : le lait de la traite manuelle, l'aliment, et l'air.

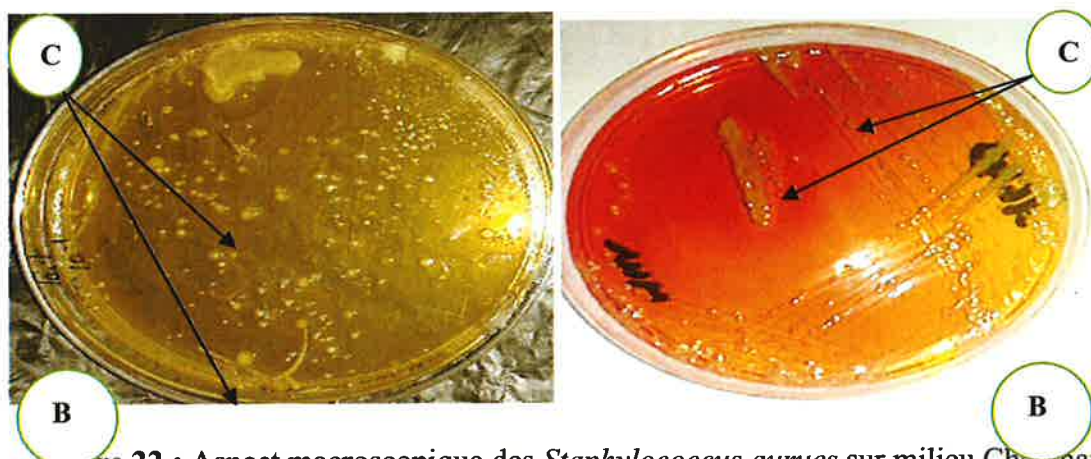


Figure 22 : Aspect macroscopique des *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman, A : (échantillon : LTM, dilution 10^{-3}). B : (Echantillon : Mur dilution 10^{-3}). C : colonies jaune brillantes.

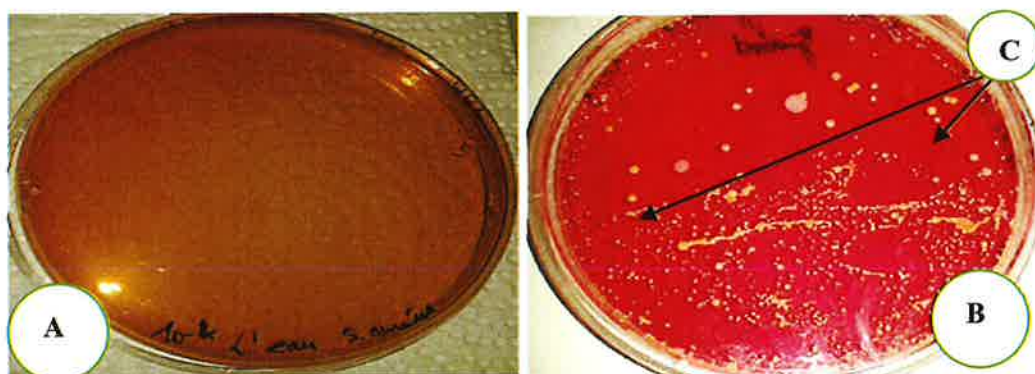


Figure 23 : Aspect macroscopique des Staphylocoques sur milieu Chapman, A : (échantillon : Eau, dilution 10^{-2}), B : (Echantillon : Prs, dilution 10^{-3}). C : colonies jaune brillantes.

1.2.5. Levures et moisissures

Le milieu Sabouraud est un milieu sélectif pour l'isolement des levures et des moisissures.

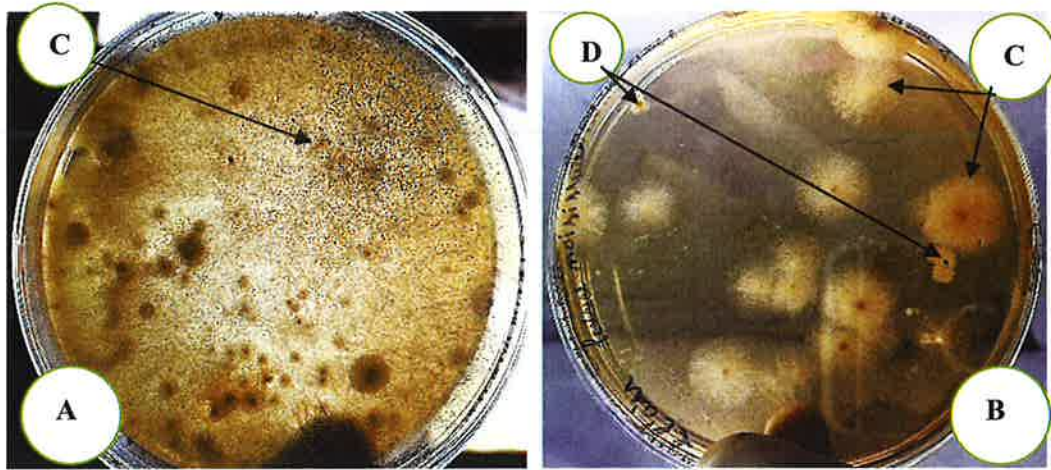


Figure 24 : Aspect macroscopique des levures et moisissures sur milieu sabouraud à 25 °C, A : air, zone de la litière. B : air, zone d'abreuvement. C : moisissures, D : levures

1.3. Dénombrement bactérien

Le comptage direct des colonies se fait par l'unité UFC

$$N \text{ (UFC)} = X \cdot L' \text{inverse } 10^{-n}$$

N : somme totale des colonies comptées.

n : nombre de dilution

X : nombre des colonies comptées.

Normes selon le journal officiel algérien N°35, 1998 *:

- Germe totaux à 30°C 10⁴
- Coliformes fécaux 10³
- Streptocoques fécaux absence/0,1ml
- *Staphylococcus aureus* absence
- Salmonelles absence

Tableau 04 : Analyse microbiologique pour les germes concernés (UFC/ml) des 8 différents échantillons

Echantillons	FTAM	CF	<i>S.aureus</i>	S.F	Salmonelles
LTN	10 ⁴	Absence	Absence	Absence	Absence
LTM	125.10 ⁴	60.10 ³	129.10 ³	748.10 ³	Absence
Prs	103.10 ⁴	65.10 ³	Absence	105.10 ³	Absence
Mur	85.10 ³	Absence	136.10 ³	192.10 ³	Absence
Air	26	Absence	Absence	Absence	Absence
Eau	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
ALM	3.10 ²	Absence	Absence	Absence	Absence
MT	192.10 ⁴	60.10 ³	Absence	924.10 ³	Absence
Norme*	10 ⁴	10 ³	Absence	Absence/0,1ml	Absence

FTAM : Flore Aérobie Mésophile Totale ; CF : Coliformes fécaux ; S.F : Streptocoques fécaux ; LTM : lait de la traite mécanique ; LTN : lait de la traite manuelle.

* Norme Algérienne concernant le lait.

1.4. Tests présomptifs et confirmatifs

1.4.1. Test confirmatif sur bouillon Eva Litsky

Les figures 25 et 26 montrent la confirmation des streptocoques fécaux dans le milieu Eva Litsky dans le mur, le personnel et le lait de la traite mécanique.

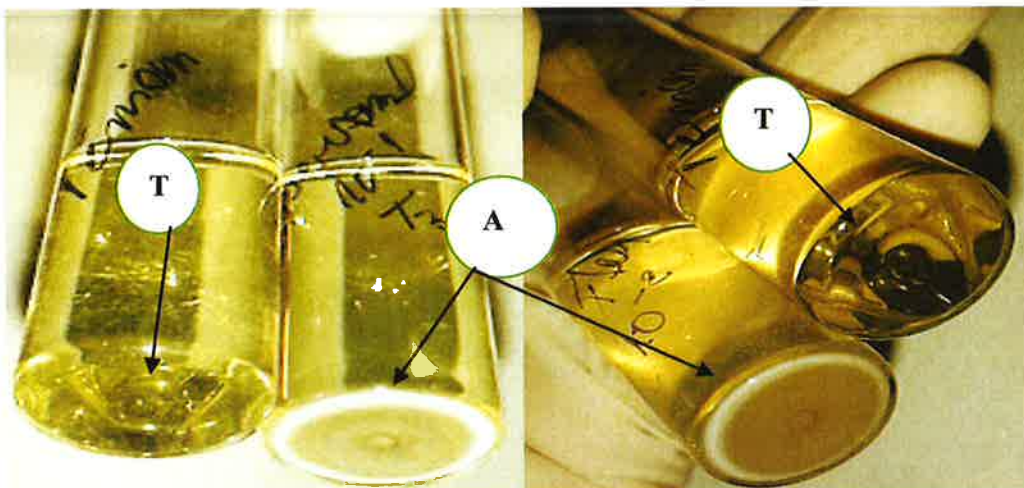


Figure 25 : Aspect macroscopique des streptocoques fécaux sur bouillon Eva Litsky; A : test (+) des échantillons (Prs et mur), une pastille blanche représente des Streptocoques fécaux à 37°C, T : témoin.

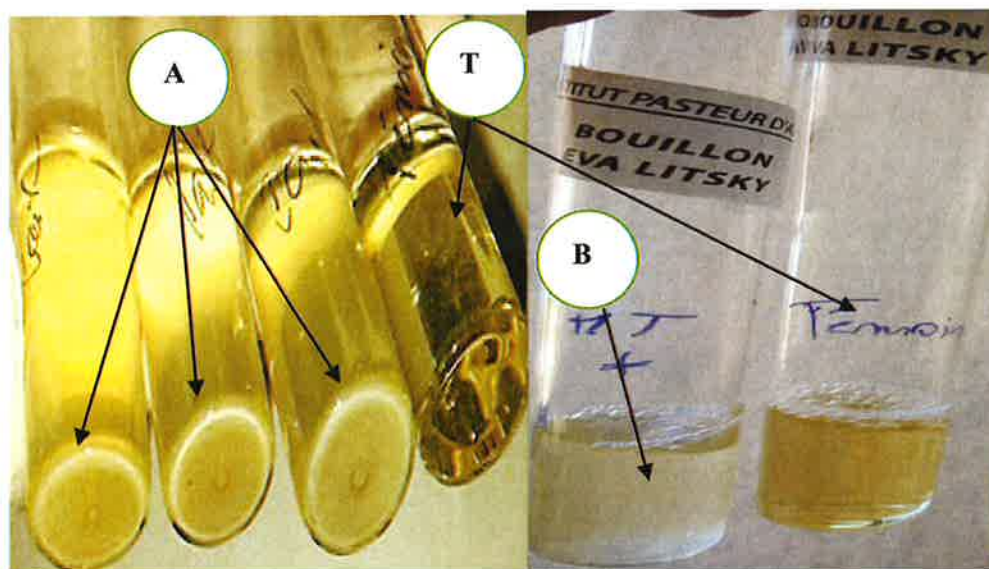


Figure 26 : Aspect macroscopique des streptocoques fécaux sur bouillon Eva Litsky ; A : Une pastille blanche représente des Streptocoques fécaux à 37°C, test (+) échantillon (LTM) ; B : Absence des streptocoques fécaux à 37°C , test (-) échantillon (MT) ; T : Témoin.

1.4.2. Dégagement de gaz sur bouillon VBL

L'acidification du milieu et le dégagement de gaz dans la Cloche du Durham (A), signifie la présence des coliformes fécaux dans la machine à traire.

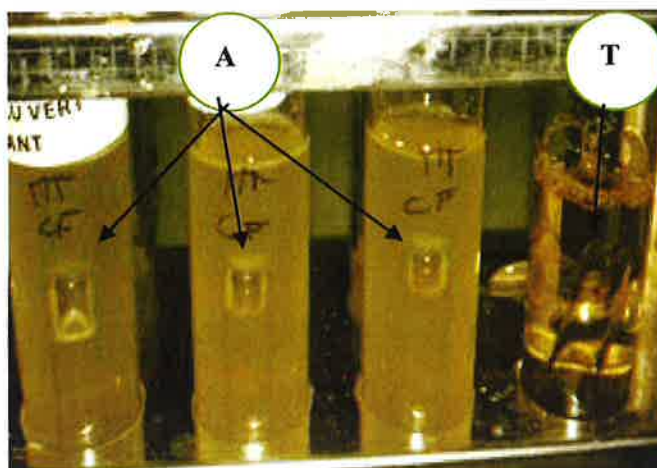


Figure 27 : Aspect macroscopique des coliformes fécaux sur bouillon VBL. A : présence des coliformes fécaux , test (+) échantillon (MT) ; T : Témoin.

1.4.3. Test d'urée d'indole

Le résultat de l'ensemencement dans un milieu eau peptonée exempt d'indole additionné d'un réactif Covax, après l'incubation à 37°C, pendant 24h, représenté dans la figure 28.

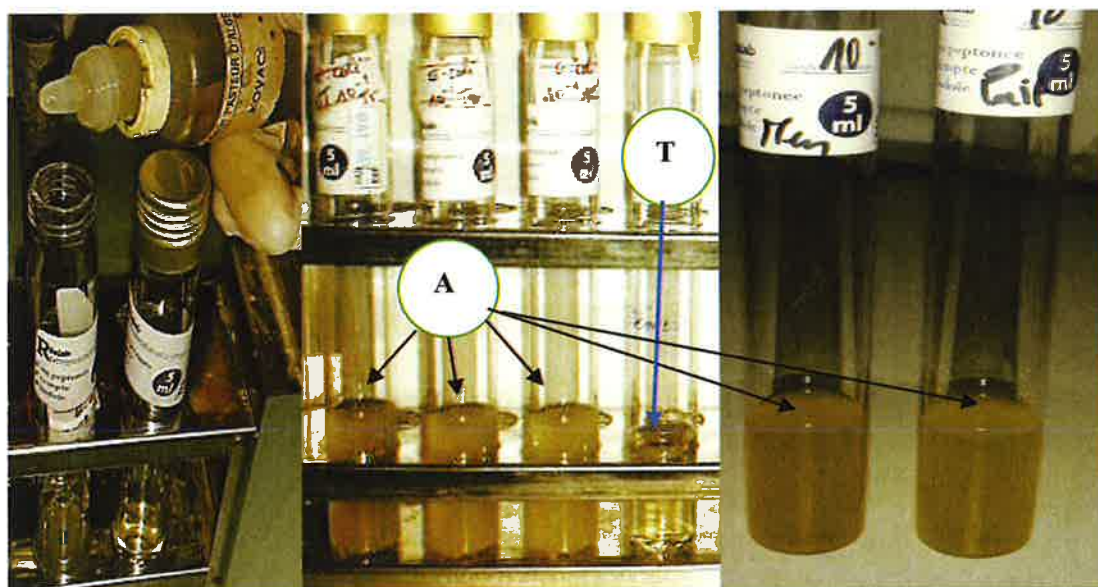


Figure 28 : Aspect macroscopique Absence d'*Ecehrichia Coli*; A : Absence d'anneau rouge, test (-) échantillons : (LTM), (Mur) ; T : Témoin.

1.4.4. Test de Giolitti Cantonii

Le résultat de l'ensemencement dans un milieu Giolitti Cantonii après l'incubation à 37°C, pendant 24h, représenté dans la figure 29.

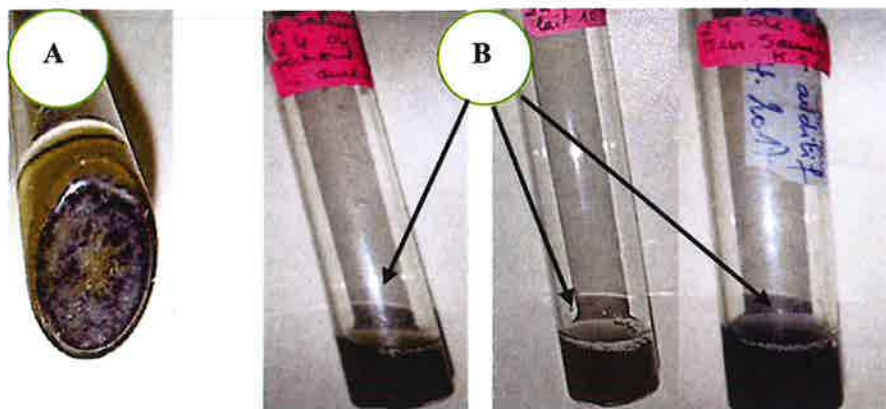


Figure 29 : Observation macroscopique des Staphylocoques sur bouillon GC;

A : Agrandissement d'un trouble noire ; B : test (+) coloration noire, échantillons : (LTM), (Mur) et (Prs).

1.4.5. Confirmation des *S.aureus* sur Baird Parker

Ce milieu est utilisé en microbiologie alimentaire pour l'isolement des Staphylococcus après enrichissement. Il est hautement sélectif par l'action du tellurite qui inhibe la plupart des bactéries à Gram négatif. Dans la figure 30. Nous avons obtenu des colonies de *Staphylococcus aureus*, qui apparaissent, en 48h sur Baird de Parker, noires entourées d'un halo clair.



Figure 30 : Aspect macroscopique des *Staphylococcus aureus* sur milieu Baird Parker, après incubation.

1.4.6. Test de la coagulase

Après une incubation de 8h de réactif de plasma de lapin enrichie d'un bouillon BHIB, nous avons obtenu une coagulation du plasma, prise en masse du contenu du tube des échantillons (LTM et le mur) (figure 32) ce qui indique la présence des *Staphylococcus aureus*, par contre le contenu du tube reste liquide pour l'échantillon (MT) donc coagulase négatif (figure 31).



Figure 31 : Observation macroscopique de l'absence des *Staphylococcus aureus* à 37°C, échantillon (MT)

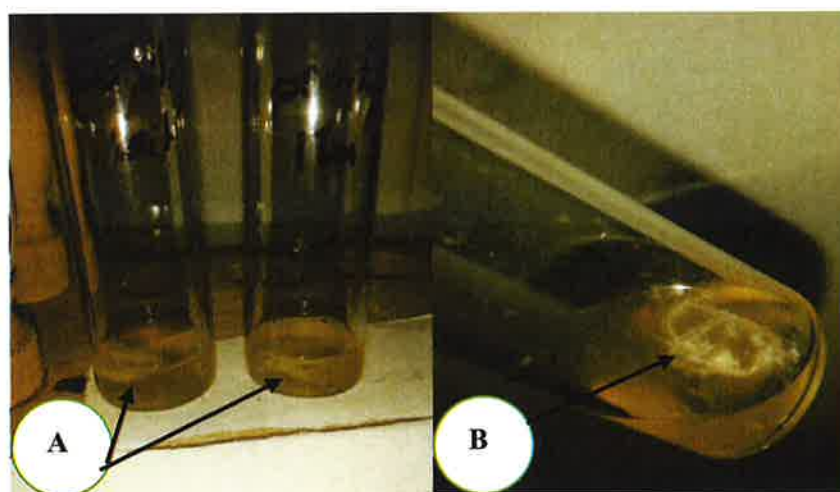


Figure 32 : Aspect macroscopique de la coagulation des *Staphylococcus aureus* à 37°C sur plasma de lapin. A : test (+) échantillons (mur) ; (LTM) ; B : agrandissement coagulation du plasma.

1.4.7. Test à la catalase

Ce test est indispensable à la pré identification des bactéries.



Figure 33 : observation macroscopique de la réaction à la catalase ; A : test (+) de l'échantillon (LTM) ; B : test (-) de l'échantillon (mur).

1.4.8. Test d'oxydase

la figure 34 (A) représente une oxydase négative, aucun changement dans les deux échantillons, par contre (B) représente une oxydase positive avec virage de la couleur vers le mauve.

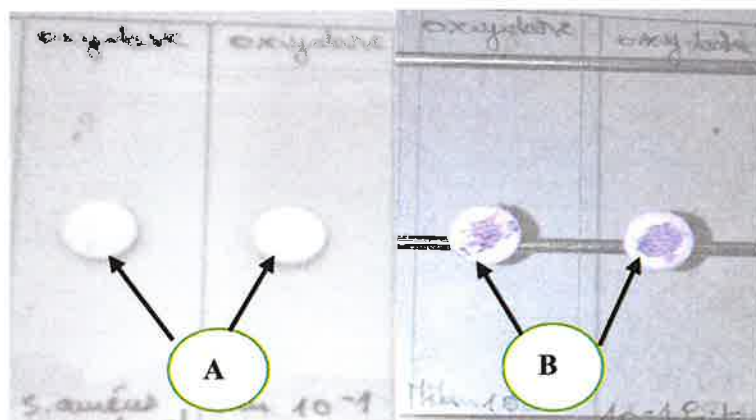


Figure 34 : Observation macroscopique test d'oxydase ; A : test (-) oxydase négatif ; B : test (+) oxydase positif.

1.5. Purification

Les résultats de la purification des isolats sont représentés dans la figure ci-dessous.

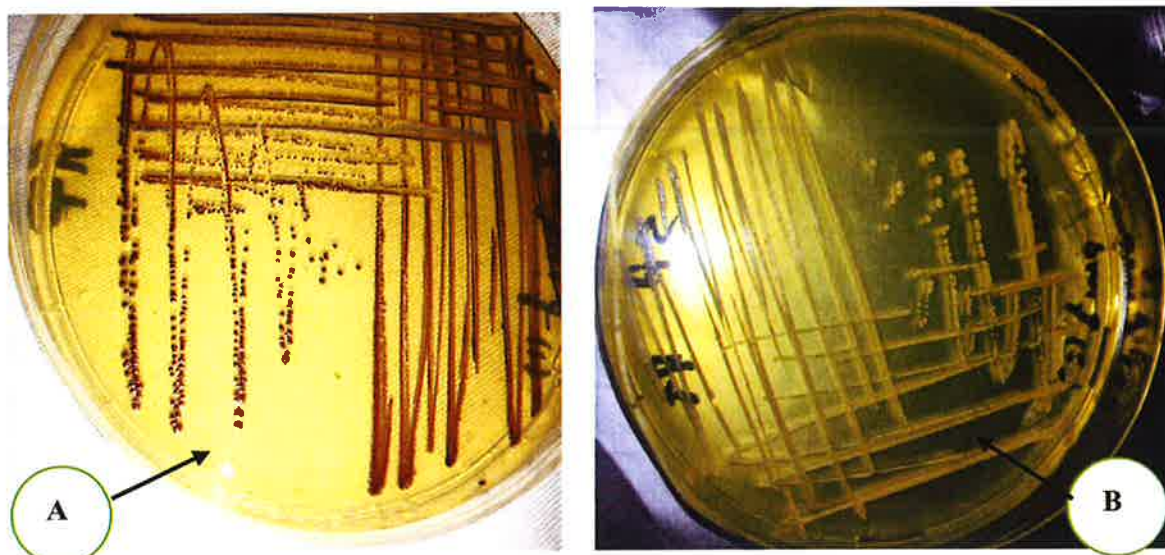


Figure 35 : Aspect des souches isolées purifiées; A : purification des Streptocoques fécaux ; B : purification des *Staphylococcus aureus*.

1.6. Examen microscopique

Les résultats microscopique des isolats après coloration de Gram représentés dans la figure suivante.

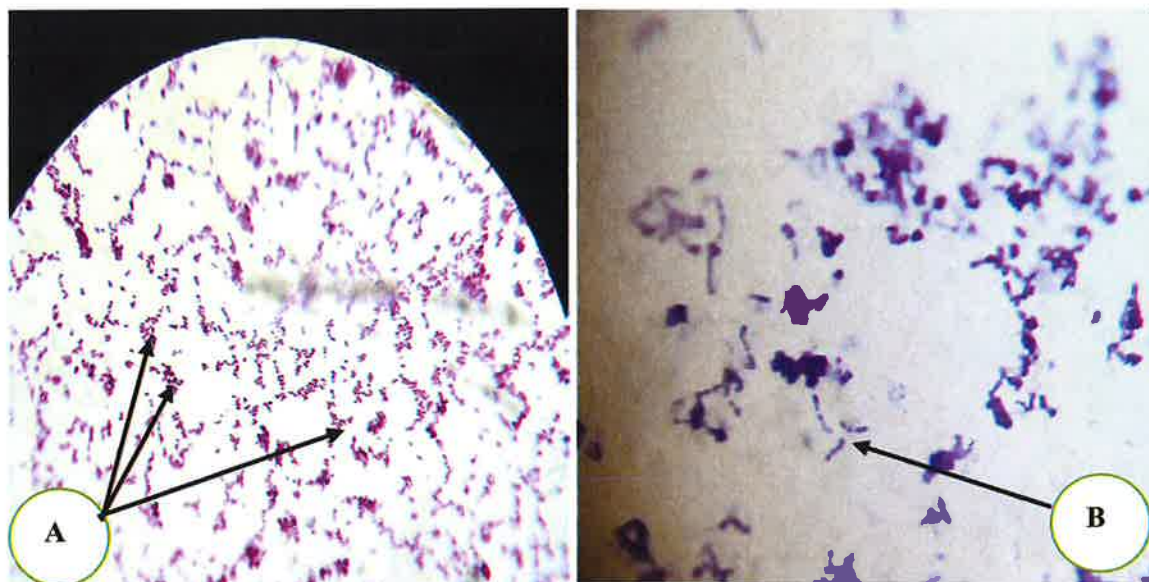


Figure 36 : Observation microscopique des Streptocoques et *Staphylococcus aureus*; A : des grappes de raisin représente des *Staphylococcus aureus*, B des chainettes représente des Streptocoques.

Discussion

2. Discussion des analyses microbiologiques

Les vaches sont des êtres sensibles, elles exigent pour une meilleure production de leur lait, un environnement sain et propre. Nous avons constaté lors de notre étude que la présence des germes suivants dans l'environnement (matériels, bâtiment, air et personnel) a un impact sur la qualité du lait de vache.

2.1. Flore aérobie mésophile totale (FTAM)

Dénombrer la flore totale, c'est tenter de compter les microorganismes présents afin d'apprécier la pollution microbienne du produit (Joffin et Joffin, 2000).

La flore aérobie mésophile totale a été retrouvée dans différents échantillons (tableau 04), avec des taux élevés sur la machine à traire, 192.10^5 UFC, le mur, 85.10^3 UFC, le personnel, 103.10^5 UFC, et le lait prélevé sur la machine à traire, 125.10^5 UFC. Ainsi, il a été remarqué que le taux relatif au lait, dépasse la norme algérienne.

Par contre, le taux de ces germes est beaucoup plus faible sur les prélèvements réalisés sur l'air 26 UFC, l'eau, le lait de la traite manuelle et l'aliment indénombrables moins de 15 colonies.

Les microorganismes retrouvés dans le lait à la ferme peuvent avoir de multiples sources. Ils peuvent provenir de l'environnement des animaux (bâtiment, eau d'abreuvement, fourrage), des animaux eux-mêmes et de leurs déjections, du matériel de traite, du trayeur ou de l'ambiance. Les résultats que nous avons retrouvés montrent bien l'étroite relation entre la présence d'une flore élevée (FTAM), dans le lait, et dont l'origine est bien le milieu environnant.

En effet, nous avons observé que le lavage de la mamelle est réalisé avec de l'eau chaude mélangée avec l'eau de javel, il n'y a pas d'autres désinfectants et l'ouvrier trayeur n'élimine pas le premier jet avant la traite. Cette méthode réalisée sur un pot à fond noir permet de vérifier la qualité du lait et de détecter un changement même très léger de son état et éventuellement la présence de grumeaux, témoins d'une mammite (Vignola, 2002). De plus, le trempage des trayons dans un gel après la traite n'existe pas. Concernant la machine à traire, son nettoyage n'est pas effectué directement après la traite, et quand il est réalisé, il l'est uniquement avec de l'eau, ce qui contribue à un dépôt de résidus de lait à l'origine d'une prolifération bactérienne au niveau des faisceaux trayeurs.

Concernant la tenue vestimentaire professionnelle du trayeur, il porte une tenue de travail et des bottes, mais il ne porte pas de gants. On ne peut pas savoir si l'éleveur pratique les règles d'hygiène quotidiennement lors de la traite, ou seulement en notre présence. La traite hygiénique diminue l'apport de bactéries dans le lait, le trayeur doit se laver les mains et mieux encore, porter des gants jetables (Vignola, 2002).

Lors de la traite manuelle, il a été constaté une présence partielle de la FTAM, ce qui est expliqué par le port des gants lors de la traite que nous avons réalisée par nos soins (figure 08). Par contre, lors de la traite mécanique, qui a été réalisée par l'ouvrier trayeur, nous avons constaté un taux élevé de la FTAM, donc la machine à traire ou l'ouvrier trayeur ont influé sur la qualité du lait.

Bien que nous avons observé une litière sèche, cette dernière n'est pas évacuée avant la traite et peut être à l'origine de la contamination de la mamelle. Une étude réalisée dans 16 fermes bovines de Franche-Comté (France), sur le cheminement des microorganismes depuis l'étable jusqu'au lait a montré que la majorité des espèces bactériennes recensée dans le lait avait pour origine l'environnement de la salle de traite (air, nourriture utilisées pendant la traite, trayons) ; par contre, celles qui se caractérisent par des hauts niveaux d'hygiène sur l'ensemble de l'exploitation (hygiène des trayons, propreté de la machine à traire et de salle de traite, bâtiment bien aéré et propre) produisent des laits ayant une faible diversité (Joffin et Joffin, 2000).

2.2. Coliformes fécaux

La présence des coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale récente. En effet, ces bactéries sont commensales de l'intestin et ne peuvent survivre en dehors de l'intestin très longtemps. De plus, leur densité est également proportionnelle au degré de pollution par les matières fécales (Joffin et joffin,2000).

Leur présence a été constatée sur la machine à traire (figure 27) sur le lait de la traite mécanique (figure 18) et sur le personnel (Figure 19), ce qui nous amène à affirmer que leur présence au niveau du lait n'est que le corollaire de leur présence au niveau de la machine à traire, du personnel et le mur, d'une part, et pour ce qui est de l'origine de la contamination, elle est d'ordre fécal, soit d'origine humaine, soit d'origine animale, d'autre part.

Nous avons remarqué dans le tableau 04 que le taux de ce germe présent dans le lait de la traite mécanique 60.10^3 UFC, dépasse la norme algérienne (JORA N° 35, 1998). Ainsi, pour le personnel, il est de 65.10^3 UFC et pour la machine à traire, de 60.10^3 UFC. Par contre, il a été constaté l'absence totale de ce germe dans le lait de la traite manuelle, l'eau (figure 19) et l'aliment, est le signe que ces échantillons répondent aux normes algérienne, qui exigent une absence totale de coliformes fécaux dans le lait, l'eau et l'aliment (JORA N° 35, 1998).

La présence de ces germes dans l'environnement signe toujours une contamination fécale. Pour éviter la contamination par les coliformes fécaux, les mesures sont basées sur le respect des règles d'hygiène à la ferme (hygiène des bâtiments, du trayeur, des bidons de la machine à traire et la détection et les soins des mammites). De même, des installations mal conçues seraient par ailleurs source de coliformes (Cauty et Perreau, 2009).

2.3. *E. Coli*

La présence d'*Escherichia coli* dans l'environnement signe une contamination fécale.

Le (tableau 04), montre une absence totale de ce germe dans tous les échantillons analysés exactement, et sont conforme à la norme algérienne l'exige (JORA N° 35, 1998).

Ainsi que la (figure 28) montre l'absence d'anneau rouge qui signifie l'absence d'*E.Coli* dans le lait de la traite mécanique et le mur.

2.4. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques retrouvés dans la machine à traire et le personnel (figure 23), leurs tests (figure 31) n'ont pas confirmés la présence des *Staphylococcus aureus*. L'absence totale des *Staphylococcus aureus* dans le lait de la traite manuelle, l'aliment et l'eau d'abreuvement signifie que ces échantillons sont conformes, et répondent aux normes algérienne (tableau 04) qui exigent l'absence totale de ces germes dans le lait, l'eau et l'aliment (JORA N° 35, 1998).

Staphylococcus aureus, a été décelé sur le mur et sur le lait de la traite mécanique (figure 22), qui a été réalisé dans l'enceinte de l'étable (figure09), sachant qu'il n'existe pas de salle de traite spécifique pour réaliser la traite. La présence de *Staphylococcus aureus* sur le mur, 136.10^3 UFC, est certainement à l'origine de la contamination du lait de la traite mécanique, 129.10^3 UFC, au moment du transfert du lait de la cuve de la machine à traire, au pot destiné à recevoir le lait dont le taux est supérieur à la norme algérienne.

La contamination du lait par ce germe provient également et essentiellement de l'animal lors de la traite, du matériel souillé, de par les manipulateurs infectés par des affections cutanées (Joffin et Joffin, 2000).

2.5. *Streptocoques fécaux*

Le taux des streptocoques est en rapport avec l'état de santé des vaches, les conditions hygiéniques de la traite, d'une pollution fécale ancienne humaine ou animale. Ce sont des streptocoques des matières fécales, leur présence dans le lait traduit une contamination fécale puisque le germe incriminé est un germe commensal de l'intestin (Joffin et Joffin, 2000).

Nous avons remarqué dans le tableau 04, que le lait de la traite mécanique dépasse fortement la norme algérienne qui est de 748.10^3 UFC, et qui exige l'absence totale de ce germe dans le lait (figure 20), (JORA N° 35, 1998). La présence de ce germe sur la machine à traire (figure 20), de 924.10^3 UFC, le personnel, de 105.10^3 UFC, et le mur, de 192.10^3 UFC, est probablement une contamination due, soit, à un manque d'hygiène du personnel (mains sales, gerçures sur les mains, port de blouses sales, absence d'eau, de savon et serviette individuelle ou, le déroulement de la traite mal fait), soit le manque d'hygiène de la machine à traire (le bidon et les faisceaux trayeurs) parce qu'elle est mal lavée après chaque collecte, sinon à cause de la litière qui n'a pas été changée avant chaque traite, ce qui facilite le transfert des streptocoques fécaux vers le mur. Toute ces facteurs dégradent la qualité du lait à son arrivé à l'usine.

On remarque sur le tableau (tableau 04), une absence totale de ce germe dans le lait de la traite manuelle qui est expliqué par le port des gants lors de la traite que nous avons réalisée par nos soins (figure 08), ainsi que leur absence totale dans l'aliment et l'eau d'abreuvement (figure 21), ces derniers échantillons répondent aux normes qui exigent une absence totale de *Streptocoques fécaux* dans le lait, l'aliment et l'eau (JORA N° 35, 1998).

2.6. *Salmonelles*

Les Salmonelles sont des bactéries toujours pathogènes qui provoquent des gastro-entérites. Leur recherche et leur identification permettent de montrer le danger possible d'un produit. La localisation digestive des Salmonelles entraîne la contamination des matières fécales : les malades, les porteurs asymptomatiques (porteurs sains) souvent d'anciens malades, éliminent les Salmonella dans leurs selles. Ainsi les aliments à l'occasion d'une contamination fécale, pourront être eux-mêmes pollués par des Salmonella (Joffin et Joffin, 2000).

Chez l'homme, les Salmonelles sont à l'origine de gastroentérites, la contamination du lait peut être due soit, aux Salmonelles présentes dans les bouses, soit par l'eau utilisée lors du lavage du matériel de traite (Cauty et Perreau, 2009).

Chez les vaches, dont l'élevage se fait essentiellement par voie orale à partir d'eau ou d'aliments souillés par des animaux domestiques eux-mêmes contaminés (volailles, autres ruminants) ou par des animaux sauvages (rats et oiseaux) (Institut de l'élevage, 2000).

D'après le (tableau 04), nous avons remarqué l'absence totale de ce germe dans tous les échantillons analysés. Ces derniers répondent à 100%, aux normes algérienne qui exigent l'absence totale de ce germe dans le lait, l'aliment et l'eau (JORA N° 35, 1998).

2.7. *Levure et moisissures*

La recherche de ces germes sur milieu sabouraud a montré leur présence au niveau de l'air et de l'aliment. De même que quelques levures et moisissures ont été observé lors de la recherche de FTAM dans les différentes boites de Pétri sur milieu PCA (figure 16). Nous avons effectué cette recherche pour avoir un aperçu général de leur présence, toujours est-il que nous n'avons pas été en mesure de les identifier.

Différentes espèces de levures et moisissures peuvent être associées au lait, le danger provient des mycotoxines qui pourraient être produites dans l'aliment, notamment par les moisissures et qui sont susceptibles de provoquer de multiples effets toxiques.

Conclusion générale

Conclusion générale

De cette recherche, nous avons pu établir une relation entre la qualité sanitaire du lait cru de bovins laitiers et les procédés d'hygiène de la ferme expérimentale de l'université de Mostaganem. Ainsi, les résultats des analyses réalisées sur les différents échantillons, ont permis de mettre en évidence que la flore, notamment celle de contamination, diminuait avec les bonnes pratiques d'hygiène de la traite, de l'hygiène de la vache et de l'étable.

A propos de la flore pathogène, celle-ci est variable selon les facteurs liés à l'environnement dans lequel se trouve l'animal.

Au niveau de la ferme expérimentale, nous avons constaté un manque de moyens pour une meilleure gestion de l'élevage :

- L'absence de salle de traite, la traite est réalisée dans l'étable ;
- Mauvaise conditions d'hygiène de la traite ; insuffisance de nettoyage et désinfection des quartiers avant et après chaque traite, utilisation de machine à traire mal entretenue ;
- Mauvaise conditions de travail pour le personnel ; absence de tenue vestimentaire réglementaire, vestiaires et de sanitaires, et il ne pratique pas les règles d'hygiène liées particulièrement à la propreté des animaux et de leur environnement.

Suite à ces constatations, nous proposons ce qui suit pour essayer d'améliorer l'état sanitaire de l'étable, afin d'obtenir un lait sain :

Mise en place dans la ferme d'élevage, d'un laboratoire d'autocontrôle de microbiologie spécialisé, vu son rôle dans le suivi et le contrôle de la qualité sanitaire du lait cru ;

- Amélioration de l'étable d'élevage : disponibilité des salles de traite spéciales, une aire de repos qui répond aux normes d'hygiène ;
- Amélioration de l'application de mesures d'hygiène adéquates, particulièrement lors de la traite ;
- Amélioration des conditions de travail du personnel de la ferme d'élevage ;
- Contrôle et suivi de l'élevage par des prélèvements réguliers, effectués par le médecin vétérinaire chargé du suivi de l'élevage.

Annexes

Annexe 01

L'aliment V.L.B 17

م.ع.ق مجموعة تربية الدواجن المغرب
شركة بالاسهم ذات رأس مال 2703.000.000,00
المقر الإداري طريق الميناء صلاحدو مستقلم

يقرة حلوب (B 17)
غذاء كامل، مزود و مقتمن

التكوير: حبوب، كسب بقور لصوجه، مخلقت الطحين ،
كالكير ، فوسلت، ملح، العناصر النادرة، فيتامينات.

التكمولات :

فيتامينات: A , E, D3

لوزن الصافي 50 كغ.
تاريخ الإنتاج
يستهلك قبل ثلاثة 03 أشهر.
الوحدة مستقلم

E.P.E Groupe Avicole de l'Ouest
SPA au capital social de 2703.000.000,00 DA
Siege Social: Route de Salamandre Mostaganem

V. L. B 17

Aliment Complet Supplemente Vitaminise

COMPOSITION:

Céréales, Tourteaux de Soja, Issues de
mélangerie, Calcaire, Phosphate, Sel,
Oligo-éléments, Vitamines .

Supplémentations :

Vitamines:

25 D3
2017 أبريل

Poids net 50 kgs.

Fabriqué le

Unité Mostaganem

A consommer avant Trois (3) mois

Annexe 02

Le tableau suivant présente les différentes températures et milieux sélectifs pour la croissance des bactéries pathogènes :

Milieux et réactifs	Germes recherchés	Température / temps
PCA	FTAM	Etuve à 30°C / 72h
VRBL / VBL+cloche	CT	Etuve à 37°C / 48h
VRBL/ VBL+cloche	CF	Etuve à 44°C / 48h
Eau peptonné exempt d'indole + Covax	E.COLI	Etuve à 37°C / 24h
Chapman, GC, BHIB, plasma de lapin	<i>Staphylococcus aureus</i>	Etuve à 37°C / 48h
Slanetz, Rothe, Eva Litsky	<i>Streptocoques fécaux</i>	Etuve à 37°C / 48h
Eau peptonné, SFB+ disques, SS + aditif	<i>Salmonelles</i>	Etuve à 37°C / 72h

Tableau 05 : Milieux de culture et températures spécifiques pour les bactéries pathogènes

Tableau 06 : Réactifs et matériel pour l'identification bactérienne

	Etat frais	Test d'oxydase	Test catalase	Coloration de Gram
Réactifs	l'huile d'immersion, eau distillé.	Disques d'oxydase	eau oxygéné	Cristal violet, lugol, fushine, éthanol, l'huile d'immersion, eau distillé.
Matériels	microscope optique(§ 40, X 100), lame et lamelle anse.	Lame, anse	Lame, l'anse	Lame, l'anse microscope optique(X100,X 40).

Autre matériels :

Bain marie à 45°C et 63°C

Etuve 30°C, 37°C et 44°C

Micropipette (100, 1000 µl)

Les écouvillons stériles

Flacons stériles

Annexe 04

Formules des milieux de culture

PCA standard (gélose ordinaire pour dénombrement)

Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	5
Extrait de levure	2,5
Glucose	1
Agar	15
Dissoudre 23,5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; pH =7,0	

Source (JORA N° 70, 2004)

Rothe (Bouillon d'enrichissement des Entérocoques)

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	20,0 g
Glucose	5,0 g
Azide	0,2 g
NaCl	5,0 g
Hydrogenophosphate De Potassium	2,7 g
Dihydrogénophosphate De Potassium	2,7 g
Dissoudre 36,2 g par litre d'eau distillée (simple concentration); autoclaver 15min à 25°C ; pH=6,8	

Source (<http://www.solabia.fr/solabia/produitsDiagnostic.nsf>)

Solution peptone-sel (Eau peptonée)

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	1,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	8,5 g
Eau	1000 ml
Dissoudre 9,5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 25°C ; pH =7,0	

Source (JORA N° 70, 2004)

Références

Table des matières

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction générale.....01

Chapitre I : Elevage bovin laitiers

1. Introduction	02
2. Bâtiment d'élevage.....	02
3. Traite et installation de la traite.....	02
3.1. La salle de la traite.....	02
3.2. La machine à traire.....	03
3.3. La traite.....	03
3.3.1. Traite manuelle.....	03
3.3.2. Traite mécanique.....	04
3.4. Hygiène de la traite.....	04
4. Abreuvement des bovins laitiers.....	05
5. Alimentation des bovins laitiers.....	07
6. Etat sanitaire des vaches laitières.....	07
7. Santé et hygiène des troupeaux.....	08
7.1. Importance d'avoir un troupeau en bonne santé.....	08
7.2. Maladies bovines.....	08

Chapitre II : Environnement des troupeaux

1. Introduction.....	10
2. Environnement des animaux.....	10
3. Facteurs liés à l'environnement des troupeaux.....	11
3.1. Les flux microbiens à la ferme.....	11
3.2. L'aménagement du bâtiment.....	13
3.3. Les litières.....	14
3.4. Propreté du lieu de stockage.....	14
3.5. Propreté du matériel.....	14
3.6. L'éleveur laitier et l'environnement.....	15
3.7. Les trayons.....	15
3.8. Influence de la traite.....	16
3.9. Effet d'abreuvement.....	16
3.10. Les substrats d'alimentation.....	17
3.11. L'air et la poussière.....	17

Chapitre III : Caractères qualitatifs du lait cru

1. Introduction.....	18
2. Généralité du lait de vache.....	18
3. Caractères qualitatifs du lait cru.....	19
3.1. Qualité technologique.....	19
3.2. Qualité gustative.....	19
3.3. Qualité sanitaire.....	19
4. Caractères bactériologiques du lait cru.....	19
4.1. La flore originelle ou indigène.....	19
4.2. La flore d'altération.....	20
4.3. La flore de contamination.....	20
4.3.1. Germes totaux.....	22
4.3.2. Coliformes fécaux.....	22
4.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	25
4.3.4. Streptocoques fécaux.....	27
4.3.5. Levures et moisissures.....	28
4.3.6. Salmonelles.....	28

Chapitre IV : Matériel et méthodes

1. Objectif.....	31
2. Zone d'étude.....	31
2.1. Présentation de la zone d'étude.....	31
2.2. Situation sanitaire de la ferme.....	32
2.3. Présentation du laboratoire LSTPA.....	33
3. Matériel et méthodes des analyses microbiologiques.....	33
3.1. Matériel et réactifs.....	33
3.2. Echantillonnage et prélèvements.....	34
3.2.1. Traite et prélèvements du lait.....	35
3.2.2. Prélèvement de l'eau de puits.....	36
3.2.3. Prélèvement de l'aliment.....	37
3.2.4. Prélèvement de l'air ambiant.....	38
3.2.5. Prélèvement personnel.....	38
3.2.6. Prélèvement de la machine à traire.....	38
3.2.7. Prélèvement de la surface du bâtiment.....	39
3.3. Méthodes d'analyse microbiologique.....	39
3.3.1. Préparation des dilutions.....	40
3.3.2. Recherche de la flore aérobie mésophile total (FTAM).....	40
3.3.3. Recherche des coliformes fécaux.....	41
3.3.4. Recherche et dénombrement d' <i>Escherichia coli</i>	42
3.3.5. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	42
3.3.6. Recherche des streptocoques fécaux.....	45
3.3.7. Recherche des salmonelles.....	47
3.3.8. Recherche des levures et moisissures.....	48

3.3.9. Isolement et dénombrement des bactéries pathogènes.....	48
3.3.9.1.Examen macroscopique.....	49
3.3.9.2.Examen microscopique.....	49
3.3.9.3.Test à la catalase.....	49
3.3.9.4.Test d'oxydase.....	50
3.3.9.5.Purification des souches bactériennes.....	50

Chapitre V : Résultatset discussion

1. Résultats des analyses microbiologiques.....	51
1.1. Situation de l'exploitation.....	51
1.1.1. La flore aérobie mésophile totale.....	52
1.1.2. Coliforme fécaux.....	54
1.1.3. Streptocoques fécaux.....	55
1.1.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	56
1.1.5. Levures et moisissures.....	57
1.2. Dénombrement bactérien.....	58
1.3. Tests confirmatifs.....	59
1.3.1. Test confirmatif sur bouillon Eva Litsky.....	59
1.3.2. Dégagement de gaz sur bouillon VBL.....	60
1.3.3. Test d'urée d'indole.....	60
1.3.4. Test de Giolitti Cantonii.....	61
1.3.5. Confirmation des <i>S.aureus</i> sur Baird Parker.....	61
1.3.6. Test de la coagulase.....	62
1.3.7. Test à la catalase.....	63
1.3.8. Test d'oxydase.....	63
1.4. Purification.....	64
1.5. Examen microscopique.....	64
2. Discussion des analyses microbiologiques.....	65
2.1. La flore aérobie mésophile totale.....	65
2.2. Coliforme fécaux.....	66
2.3. <i>E.Coli</i>	67
2.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	67
2.5. <i>Streptocoques fécaux</i>	68
2.6. Salmonelles.....	69
2.7. Levures et moisissures.....	69

Conclusion générale

Annexes

Références

Table des matières