



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة زيان عاشور بالجلفة



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université Ziane Achour de Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا
Département de Biologie

Option : Biotechnologie Microbienne - Microbiologie -

Mémoire
Pour l'obtention du Diplôme
De Magister

Thème :

**Evaluation quantitative de l'exposition
au *Staphylococcus* à coagulase positive
dans le lait cru de vache consommé dans la ville de
Laghouat**

Présenté par : SOUIDA Zineb Hanane

Soutenu publiquement devant le jury :

Président	M. Azzouzi Bilal	Professeur	U.Z.A., Djelfa
Examineur	M. Hakem Ahcen	Professeur	U.Z.A., Djelfa
Examineur	M. Gouzi Hicham	Maître de Conférences (A)	U.A.T., Laghouat
Examineur	M. Hamidi M.	Maître de Conférences (A)	U.Z.A., Djelfa
Examineur	M. Mostefaoui A	Maître de Conférences (B)	U.Z.A., Djelfa
Rapporteur	M. CHOUKRI A.	Professeur	U.Z.A., Djelfa
Co-rapporteur	M. ZIANE M.	Maître de Conférences (A)	C.U. Ain-Temouchent

Année Universitaire 2016-2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tout je tiens à remercier celui qui nous a créé, protégé, aidé et celui qui m'a donné la patience et le courage pour pouvoir accomplir entre autre mon mémoire de magister en disant «Dieu Merci ».

Mon profond respect et mes sincères remerciements à mon promoteur : le professeur CHOUKRI A., Professeur à l'Université de ZIANE Achour, Djelfa, pour avoir accepté de diriger la réalisation de ce mémoire et pour son soutien ;

Je tiens à remercier infiniment le Docteur ZIANE M., Maître de conférences classe A, au centre universitaire de Aïn Témouchent, à qui j'exprime ma gratitude pour m'avoir accordé sa confiance et pour son aide si précieuse ;

Je remercie Monsieur Azzouzi Bilal, Professeur à l'Université de Djelfa, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Mes remerciements vont également à Messieurs HAKEM Aïcen, HAMIDI Mohammed, Mostefaoui Abdallah et Gouzi Hicham, respectivement, Professeur à l'Université de ZIANE Achour, Djelfa, Maître de conférences à l'Université de Djelfa, Maître de conférences à l'Université de Djelfa et Maître de conférences à l'université de Laghouat, d'avoir accepté de participer au jury.

Je tiens à remercier également tout le personnel travaillant au laboratoire du département de Biologie, université de Laghouat.

Je remercie amplement le professeur Belhadj S., responsable de la PG à l'université de Djelfa pour les efforts qu'elle a déployé ;

Je remercie tous ceux qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce travail que je dédie :

A la mémoire de mon père qui a souhaité vivre longtemps juste pour voir qu'est-ce que nous allons devenir ;

A ma chère mère qui m'a apporté beaucoup d'amour et d'affection, je la remercie de sa présence dans les meilleurs moments comme les mauvais.

Que dieu leur accorde une longue vie.

A mes chers frères et sœurs : Bahria, Ammar, Saadi, Youcef,

Abdel Rahman, Fatima, Nadia et Khadija ;

A mon mari : Abdallah, compagnon de ma vie. Qui m'a fourni le courage dont j'avais besoin, et surtout pour sa patience.

A ma chère belle-sœur Aicha souiah : qui m'a aidé et encouragé à sa façon.

A mes beaux-frères Brahim, Atallah et Noureddine : en témoignage de ma profonde reconnaissance ;

A toute la promotion 2011 de Magister -Biotechnologie Microbienne-

A toute ma famille.

A tous ceux qui sont chers et que j'ai oublié.

Zineb Hanane

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
Chapitre I : Généralités Sur Le Lait De Vache	
I. 1. Définition	03
I. 2. Composition du lait	03
I. 2.1. Eau	04
I. 2.2. Les glucides	04
I. 2.3. Matière grasse	05
I. 2.4. Protéines	05
I. 2. 4. 1. Les caséines	06
I. 2.4.2. Les protéines solubles ou protéines du lactosérum	07
<u><i>α-lactalbumine</i></u>	07
<u><i>β-lactoglobuline</i></u>	07
<u><i>Sérum-albumine</i></u>	07
<u><i>Les immunoglobulines</i></u>	07
<u><i>Protéoses-peptones</i></u>	08
I. 2. 5. Les minéraux	08
I. 2. 6. Les vitamines	09
I. 2. 7. Enzymes	09
I. 3. Propriétés physico-chimiques du lait	10
I. 3. 1. Densité	10
I. 3. 2. Point de congélation	10
I. 3. 3. Point d'ébullition	11
I. 3. 4. Acidité	11
I. 4. Microflore du lait	11
Chapitre II : <i>Staphylococcus aureus</i>	
II. 1. Historique	13
II. 2. Classification des Staphylocoques	13
II. 3. Description générale du <i>Staphylococcus aureus</i>	15

II. 3.1. Caractères morphologiques	15
II. 3.2. Caractères cultureux	15
II. 3.3. Caractères physiologiques et biochimiques	17
II. 4. Réservoirs naturels et transmission de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
II. 5. Substances élaborées par <i>S. aureus</i>	18
II. 5.1. Enzymes produites par <i>Staphylococcus aureus</i>	19
II. 5.1.1. Coagulase libre	19
II. 5.1.2. Coagulase liée	19
II. 5.1.3. Fibrinolysine ou Staphylokinase	19
II. 5.1.4. Autres enzymes	19
✚ Catalase	19
✚ Protéases	20
✚ Hyaluronidase	20
✚ Nucléases	20
✚ Phosphatases	20
✚ Lysosyme	20
✚ Lipases et estérases	21
✚ β -lactamases	21
II. 5.2. Toxines produites par <i>Staphylococcus aureus</i>	21
II. 5.2.1. Staphylolysines ou hémolysines	21
✚ L'Alpha-hémolysine ou alphatoxine staphylococcique	21
✚ La bêta-hémolysine	21
✚ La gamma-hémolysine	22
✚ La delta-hémolysine	22
✚ La leucocidine de Panton Valentine	22
✚ Exfoliatine ou épidermolysine	22
II. 5.2.2. Les entérotoxines	23
II. 5.2.3. Toxine du Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique (SCTS)	23
II. 5.2.4. Toxines pyrogènes	23
II. 5.2.5. Succinic oxidase factor	24
II. 6. Les manifestations digestives	24
❖ Toxi-infections alimentaires	24
II. 7. Support génétique de la virulence	24

Chapitre III : Evaluation Du Risque Microbiologique	
III. 1. Dangers alimentaires	25
III. 2. Définition de l'évaluation du risque	25
III. 3. Historique d'évaluation du risque microbiologique	26
III. 4. Objectif de l'évaluation du risque	26
III. 5. Principes d'évaluation du risque	27
III. 6. Types d'évaluation des risques microbiologiques	28
III. 6. 1. Évaluation du risque de type qualitative	28
III. 6. 2. Évaluation semi-quantitative du risque	29
III. 6. 3. Évaluation quantitative du risque	29
III. 6. 3. 1. Approche déterministe	29
III. 6. 3. 2. Approche stochastique	29
III. 7. Les étapes de l'évaluation du risque	30
III. 7. 1. Formulation de l'objectif de l'évaluation des risques	30
III. 7. 2. Identification du danger	30
III. 7. 3. Caractérisation du danger	31
III. 7. 4. Évaluation d'exposition	32
III. 7. 5. La caractérisation du risque	33
III. 7. 6. Rapport formel	34
III. 8. Réévaluation du risque	35
III. 9. Interaction durant le processus d'évaluation du risque	35
III. 10. Les difficultés d'évaluation du risque dans les pays en développement	35
IV. Matériel Et Méthodes	
IV.1. Caractéristiques de la région de l'étude	37
IV.2. Méthodologie de l'évaluation d'exposition	37
IV.2. 1. Caractéristique du scénario de consommation du lait cru	38
• Au niveau du vendeur	38
• Au niveau du consommateur	38
IV.2. 2. Modélisation de la concentration de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	39
IV.2. 2. 1. Module 1 : Contamination initiale du lait par <i>S. aureus</i>	39
IV.2. 2. 1. 1. <i>Echantillonnage et prélèvement du lait</i>	39
IV.2. 2. 1. 2. <i>Préparation des échantillons</i>	40
IV.2. 2. 1. 3. Recherche de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	40

IV.2. 2. 1. 4. Dénombrement de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	40
IV.2. 2. 1. 5. Confirmation de l'authenticité	41
IV.2. 2. 1. 6. Recherche de la coagulase	41
IV.2. 2. 1. 7. Conservation des souches	41
IV. 2. 2. 2. Module 2 : Destruction de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive dans le lait	41
IV.2. 2. 3. Module 3 : Croissance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive dans le lait	42
IV.2. 2. 3. 1. Étude de la croissance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	42
IV.2. 2. 3. 2. Détermination de paramètre de croissance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	43
IV. 3. Simulation de Monte Carlo	44
V. Résultats Et Discussions	
V. 1. Analyse des données de l'enquête descriptive	46
V. 1. 1. Chez les points de vente du lait	46
V. 1. 2. Chez le consommateur	48
V. 2. Modélisation des modules d'évaluation de l'exposition	51
V. 2. 1. Module 1 : Contamination initiale en <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	51
V. 2. 1. 1. Obtention des isolats de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	51
V. 2. 1. 2. Prévalence et dénombrement de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	53
V. 2. 2. Module 2 : Destruction de <i>Staphylococcus aureus</i> durant le chauffage	54
V. 2. 2. 1. Thermorésistance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	54
V. 2. 2. 2. Prévalence de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive après le chauffage	55
V. 2. 3. Module de croissance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive durant la conservation	55
V. 2. 3. 1. Détermination de paramètres de croissance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	55
V. 2. 3. 2. Concentration de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive à différentes conditions de stockage	57
V. 3. Estimation de nombre de personne exposé à <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Conclusion	58
Références Bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

<i>Abréviation</i>	<i>Signification</i>
AFNOR	Association Française de Normalisation
CAC	Codex Alimentarius Commission
cm	Centimètre
D	Valeur du temps de la réduction décimale
EQRM	Évaluation Quantitative du Risque Microbiologique
ERM	Évaluation du Risque Microbiologique
FAO	Food and Agricultur Organisation of the united nations
g	Gramme
h	Heure
ICMSF	Commission Internationale de la Spécification Microbiologique
INRS	Institut national de la recherche scientifique
Kg	Kilo gramme
l	Litre
Max	Maximale
Min	Minimale
ml	Millilitre
Moy	Moyenne
NAS	National academy of science
OMS/WHO	Organisation Mondiale de la Santé
Pi	Point iso électronique
PM	Poid moleculaire
TIA	Toxi-infections alimentaires
TSE	Tryptone sel Eau
UFC	Unité Formant Colonie
μ	Taux de croissance
Nf	Concentration finale

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Constituants principaux des laits de diverses espèces animales (g/ litre) (FAO, 1998).	04
Tableau 02	Composition lipidique du lait (Amiot et <i>al.</i> , 2002).	05
Tableau 03	Composition moyenne du lait de vache en protéines (Renner, 1983 <i>In</i> FAO, 1998).	06
Tableau 04	Classification des protéines (Brunner, 1981 <i>In</i> Pougheon, 2001).	08
Tableau 05	Composition du lait en minéraux (Amiot et <i>al.</i> , 2002).	09
Tableau 06	Caractéristiques des principaux enzymes du lait (Amiot et <i>al.</i> , 2002).	10
Tableau 07	Acidité naturelle du lait et apport des différents constituants (Amiot et <i>al.</i> , 2002).	11
Tableau 08	La flore microbienne du lait (Leyral et Vierling, 2001).	12
Tableau 09	Classification hiérarchique du Phylum XIII (Firmicutes) basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN/ARN 16S (Garrity et <i>al.</i> , 2007).	14
Tableau 10	Caractères distinctifs de <i>Staphylococcus aureus</i> (Fauchere et Avril, 2002).	18
Tableau 11	Différents modules de la consommation du lait cru de vache à partir du point de vente.	37
Tableau 12	Recueil des différentes techniques microbiologiques utilisées.	41
Tableau 13	Variables, distributions et modèles utilisés au MRPM du lait cru de vache.	45
Tableau 14	Les paramètres de croissance et les concentrations de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive à différents scénarios.	57

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Structure biochimique de micelle et sous micelle de caséine (Vignola et <i>al.</i> , 2002).	06
Figure 02	Aspect morphologique de <i>S. aureus</i> observée au microscope électronique (Leyral et Vierling, 2007).	15
Figure 03	Micrographie optique de <i>S. aureus</i> suite à une coloration de Gram (Anonyme, 2013).	15
Figure 04	Aspect des colonies de <i>S. aureus</i> sur milieu gélosé au sang 18 h à 37°C (Hart et Shears, 1997).	16
Figure 05	Questions à répondre lors d'identification du risque (Lammerding, 2004).	31
Figure 06	Principaux composants de caractérisation du danger (Lammerding, 2004).	32
Figure 07	Principaux Questions d'évaluateur du risque lors d'évaluation d'exposition (Lammerding, 2004).	33
Figure 08	Problématique à résoudre lors d'évaluation du risque (Lammerding, 2004).	34
Figure 09	Image satellitaire établie par Google Earth montrant la situation géographique de différents points de prélèvements des échantillons du lait cru de vache vendu dans la ville de Laghouat y compris les points de vente interrogés (cercle en rouge), zone de distribution des questionnaires au niveau de consommateurs (cercle en jaune) (Photo prise le 13 Mars 2017).	39
Figure 10	Distribution cumulée de marché du lait cru de vache dans la ville de Laghouat. a): Quantité du lait (l) achetée par les vendeurs par jour ; b): Quantité vendue ; c): Quantité du lait restante.	47
Figure 11	Distribution cumulée de temps de stockage du lait vendu.	48
Figure 12	Distribution a): Quantité du lait (l) achetée par ménage ; b) : Quantité du lait consommée par achat.	49
Figure 13	Distribution cumulée de temps de stockage durant la consommation.	50
Figure 14	Distribution cumulé de temps de chauffage du lait avant la consommation.	50
Figure 15	Aspects des colonies de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive sur Baird Parker. a): isolat 27 et b) : isolat 23.	51
Figure 16	Observation microscopique des <i>Staphylocoques</i> après coloration de Gram. a) : isolat 27 Gram + et b) : isolat 23 Gram+.	52
Figure 17	Résultats du test de coagulase positive (coagulase libre). a) : test de coagulase positive ; b) : test de coagulase négative.	52
Figure 18	Représentation graphique de la cinétique de thermo-résistance de la souche E 23.	54
Figure 19	Représentation graphique de la cinétique de croissance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive E23.	56

INTRODUCTION

L'Algérie est le premier consommateur du lait au Maghreb, avec près de trois milliards de litres par an (Kirat, 2007). Le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part des protéines d'origine animale. Il fournit également une matrice facilement accessible, riche en grande variété de nutriments essentiels à savoir les minéraux, les vitamines et les protéines faciles à digérer (Ouadghiri, 2009).

Cependant, il peut être le réservoir de plusieurs microorganismes parfois pathogènes. En effet, il contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ ml) (Larpen, 1997). Par ailleurs, certains microorganismes peuvent être apportés durant la traite ou bien durant sa commercialisation. De plus, l'animal lui-même peut être l'origine de microorganismes pathogènes à savoir les microorganismes impliqués dans les mammites à savoir *Staphylococcus aureus* (Tourette, 2002), *Listeria monocytogens* (Jami et al., 2014), *E. coli* (Margo et al., 2012) et des bactéries aérobies sporulantes comme *B. cereus* (Magnusson, 2007 ; Gopal et al., 2015).

En Algérie, *Staphylococcus aureus* est considérée comme le troisième agent de TIAC causant des intoxications alimentaires, après *Salmonella* et *Clostridium perfringens* (Ananou et al., 2005). Les Salmonelles sont généralement liées aux œufs et ovo produits, également, Clostridium est liée aux produits conditionnés en anaérobiose. Cependant, *Staphylococcus aureus* est présente naturellement sur l'ensemble de la peau, des trayons et des muqueuses des bovins et souvent la mamelle infectée des vaches laitières en production (Asperger et Zangerl, 2011) dont le lait et les produits laitiers occupent la première place des aliments incriminés dans les TIA (DGROA/DQC/SDNPA/2014).

Les intoxications à *S. aureus* sont dues à l'ingestion d'aliments, dans lesquels une souche de *S. aureus* s'est multipliée, notamment que le lait est considéré comme un substrat très favorable au développement de microorganismes en raison de sa forte teneur en eau et de son pH voisin de la neutralité (6,7) (Guiraud, 1998). Elle produit une ou plusieurs entérotoxines (Sutra et al., 1998).

La majorité des cas des intoxications notifiés à *Staphylococcus aureus* sont déterminés par suspicions des symptômes, et certainement certains cas s'échappent à la déclaration (par exemple automédication). À cet effet, probablement le nombre de cas des intoxications à *Staphylococcus aureus* reste sous-estimé malgré les efforts faits par les autorités compétentes.

De ce fait, ce travail vise à estimer le nombre de personnes exposées à *Staphylococcus* coagulase positive qui doit être absente dans le lait et les produits laitiers selon la réglementation Algérienne (JORAD N° 35, 1998).

Dans cette optique, nous nous proposons par ce travail de rechercher *Staphylococcus* à coagulase positive dans le lait cru de vache puis d'estimer sa prévalence et son niveau de contamination dans ce dernier. Enfin d'estimer le nombre de personnes exposées à des concentrations risquées (5 log UFC/ml) de ce germe incriminé (Heidinger et *al.*, 2009).

Pour atteindre nos objectifs, nous avons partagé ce travail en deux parties. La première partie bibliographique sur le lait de vache, le *Staphylococcus aureus*, et la méthodologie de l'évaluation du risque.

Par ailleurs, la partie expérimentale consiste à illustrer la méthodologie de l'évaluation de l'exposition et le risque de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru de vache consommé dans la ville de Laghouat et les résultats obtenus.

CHAPITRE I
GENERALITES SUR LE LAIT
DE VACHE

I. 1. Définition

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant «Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum » (Pougheon et Goursaud, 2001).

Le lait apparaît comme un liquide opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon sa teneur en β -carotènes et en matière grasse. Il a une odeur peu marquée mais reconnaissable (Cniel, 2006).

Sans indication de l'espèce animale de provenance, il correspond au lait de vache (Larpen et *al.*, 1997). Sa saveur est douce et son odeur est faible mais identifiable et son pH est voisin de la neutralité (FAO, 1998).

De très nombreux facteurs peuvent intervenir sur la composition du lait principalement l'espèce, la race, le stade de lactation, la saison, l'état sanitaire, et l'alimentation (Mahaut et *al.*, 2000).

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme dont la date limite de conservation est courte (un à deux jours) (Fredot, 2006).

I. 2. Composition du lait

Le lait est composé de plusieurs éléments de concentrations différentes. Il contient un pourcentage trop élevé en eau, ainsi que des matières grasses, du lactose, des protéines, des sels minéraux et des vitamines (Guiraud, 1998). Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon Pougheon et Goursaud (2001) sont :

- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles ;
- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire ;
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras ;
- Les glucides principalement représentés par le lactose ;
- L'eau, très majoritaire ;

La composition biochimique moyenne du lait est donnée par le tableau 01.

Tableau 01 : Constituants principaux des laits de diverses espèces animales (g/ litre) (FAO, 1998).

Constituants	Vache	Bufflonne	Chamelle	Jument	Chèvre	Brebis
Extrait sec total	128	166	136	109	134	183
Protéines	34	41	35	25	33	57
Caséine	26	35	28	14	24	46
Lactose	48	49	50	60	48	46
Matières salines	9	8	8	4	7,7	9
Matières grasses	37	68	45	20	41	71

I. 2.1. Eau

D'après Amiot et *al.* (2002), l'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides (Ghaoues, 2011).

I. 2.2. Les glucides

Mathieu(1999), évoque que le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau. C'est un disaccharide, sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, composé de glucose et de galactose. Il est synthétisé par la glande mammaire à partir du glucose du sang (FAO, 1998).

Le lactose peut être hydrolysé par des β -galactosidases (lactase) en un mélange de glucose et galactose. L'hydrolyse du lactose apparait donc comme une réaction très intéressante pouvant être intégrée dans la transformation industrielle du lait et des lactosérums (Durand et Monsan, 1982).

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache.

Cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait (Hodenet Coulon, 1991).

I. 2.3. Matière grasse

Jeantet et *al.* (2008), rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10µm et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés (Mahaut et *al.*, 2000).

Le tableau 02 indique les proportions des différents constituants de la fraction lipidique du lait.

Tableau 02 : Composition lipidique du lait (Amiot et *al.*, 2002).

Constituants	Proportions dans les lipides du lait (%)
Triglycérides	98
Phospholipides	1
Fraction insaponifiable	1

I. 2.4. Protéines

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes et elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers (Amiot et *al.*, 2002). Le tableau 03 ci-après présente la composition moyenne du lait de vache en différentes protéines.

Selon Jeantet et *al.* (2007), le lait de vache contient 3.2 à 3.5% de protéines réparties en deux fractions distinctes :

- Les caséines qui précipitent à pH 4.6, représentent 80% des protéines totales ;
- Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% des protéines totales.

Les protéines du lait sont classées en deux groupes :

I. 2. 4. 1. Les caséines

Selon Vignola (2002), Les caséines forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait ; leur pH isoélectrique moyen est de 4,65.

Jean et Dijon (1993), rapportent que la caséine est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine. Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 μm (cf. Figure 01).

Tableau 03 : Composition moyenne du lait de vache en protéines (Renner, 1983 *In* FAO, 1998).

Protéines	Moyennes absolues (g /litre)	Moyennes relatives (%)
Protides totaux ou matières azotées totales	34	100
Protéines	32	94
Protéines non solubles ou caséine entière	26	82
Caséine α	12,0	46
Caséine β	9,0	35
Caséine κ	3,5	13
Caséine γ	1,5	6
Protéines solubles	6	18
B-lactoglobuline	2,7	45
α -lactoglobuline	1,5	25
Sérum-albumine	0,3	5
Globulines immunes	0,7	12
Protéoses peptones	0,8	13

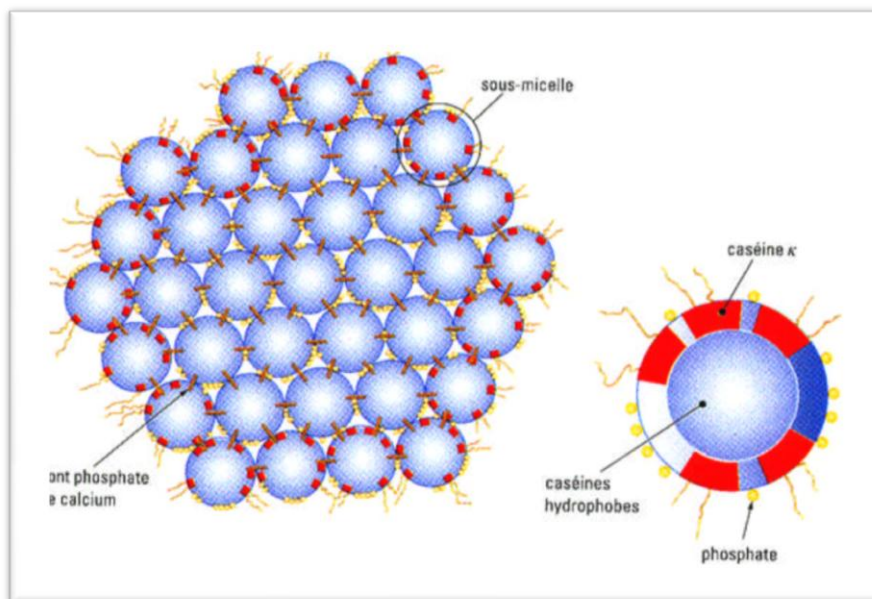


Figure 01 : Structure biochimique de micelle et sous micelle de caséine (Vignola et *al.*,2002).

I. 2.4.2. Les protéines solubles ou protéines du lactosérum

Les protéines du Lactosérum représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées (Debry, 2001). Le tableau 04 illustre la composition du lait en protéine.

Thapon (2005), définit les protéines du lactosérum comme protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais sont sensibles à la dénaturation thermique.

α -lactalbumine

L' α -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés comportant trois variantes génétiques (A, B, C). Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22% des protéines du sérum (Vignola, 2002).

β -lactoglobuline

La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est 5.1 la β -lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés comportant 7 variantes génétiques (A,B, C,D,E,F,G). Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une β -lactoglobuline se fasse également par un pont disulfure (Debry, 2001).

Sérum-albumine

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 82 d'acides aminés. Comptant un seul variant génétique A est identique au sérum albumine sanguine (Vignola, 2002).

Les immunoglobulines

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines: IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (Thapon, 2005).

Protéoses-peptones

Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4.6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine β (Debry, 2001).

Tableau 04 : Classification des protéines (Brunner, 1981 *In* Pougheon, 2001).

Noms	% des protéines	Nombre d'aa
Caséines	75-85	
Caséine α_{S1}	39-46	199
Caséine α_{S2}	8-11	207
Caséine	25-35	209
Caséine k	8-15	169
Caséine g	3-7	-
Protéines du Lactosérum	15-22	
α -Lactoglobuline	7-12	162
β -Lactalbumine	2-5	123
Sérum-albumine	0,7-1,3	82
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	1,9-3,3	-
Protéoses-peptones	2-4	-

I. 2. 5. Les minéraux

Le lait et les produits laitiers sont les principales sources alimentaires en calcium et en phosphore (cf. Tableau 05). Ils couvrent plus de la moitié de nos besoins journaliers (Mahaut *et al.*, 2000 ; Vignola, 2002).

Le lait contient des sels à l'état dissous. La fraction minérale du lait est constituée de plusieurs composés ; les éléments basique majeurs, comme, le calcium et le phosphore ont les taux suivants : le taux moyen de calcium est de 1,3g /kg, le taux moyen de phosphore est de 1g/kg. Le rapport phospho-calcique est proche de 1,4.

Les teneurs en calcium et en phosphore sont indépendantes de l'alimentation. La teneur en magnésium de lait est de l'ordre de 120 mg/l. ce taux correspond à la limite inférieure des besoins du jeune.

Par contre le lait est pauvre en fer, particulièrement chez la vache (0,6mg/kg) (Vignola, 2002 ; Alves, 2003 ; Vimahieu, 2005).

Tableau 05 : Composition du lait en minéraux (Amiot et *al.*, 2002).

Minéraux	Teneur (mg/kg)	Minéraux	Teneur (mg/kg)
Sodium (Na)	445	Calcium (Ca)	1180
Magnésium (Mg)	105	Fer (Fe)	0,50
Phosphore(P)	896	Cuivre (Cu)	0,10
Chlore (Cl)	958	Zinc (Zn)	3,80
Potassium (K)	1500	Iode (I)	0 ,28

I. 2. 6. Les vitamines

Selon Vignola (2002), les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser.

Le lait constitue une source intéressante de vitamines. Toutes les vitamines connues sont présentes dans le lait de vache (Gregory, 1975 *In* FAO, 1998).

Elles sont classées en deux catégories :

- Les vitamines hydrosolubles : solubles dans l'eau et dans le lactosérum (vitamines de groupe B et vitamines C).
- Les vitamines dites liposolubles : solubles dans les graisses et donc la crème (vitamines A, D, E, et K) (Mahaut et *al.*, 2002).

I. 2. 7. Enzymes

Les enzymes sont des protéines globulaires spécifiques produites par les cellules vivantes. Ce sont des biocatalyseurs, car elles accélèrent les réactions biochimiques où chaque enzyme est spécifique à un substrat (constituant ou groupe de constituants) (cf. Tableau 06).

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température (Amiot et *al.*, 2002).

Le tableau 06, résume les principales classes d'enzymes du lait ainsi que leur pH et leur température d'activité maximale.

Tableau 06 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait (Amiot et *al.*, 2002).

Groupes d'enzymes	Noms d'enzymes	pH	Température (°C)	Substrats
Hydrolases	Estérases	8,5	37	Triglycérides
	Lipases	9 – 10	37	Esters
	Phosphatase alcaline	4,0 - 5,2	37	phosphoriques
	Phosphatase acide			Esters phosphoriques
	Protéases : Lysosyme Plasmine	7,5 8	37 37	Parois cellulaires microbiennes Caséines
Déshydrogénases ou oxydases	Sulphydriole oxydase	7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydase	8,3	37	Bases puriques
Oxygénases	Pyroxydase			Composés réducteurs +H ₂ O ₂

I. 3. Propriétés physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Amiot et *al.*, 2002).

I. 3. 1. Densité

La densité du lait est exprimée par le rapport du poids d'un volume du lait à une température donnée sur le poids d'un volume identique d'eau à la même température. La densité du lait à 15°C varie de 1,028 à 1,035 pour une moyenne de 1,032 (Vignola, 2002).

I. 3. 2. Point de congélation

Jensen (1995), a pu montrer que le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait.

Sa valeur moyenne se situe entre - 0.54 et - 0.55°C, celle-ci est également la température de congélation du sérum sanguin. On constate de légères fluctuations dues aux saisons, à la race de la vache, à la région de production (Mathieu, 1999).

I. 3. 3. Point d'ébullition

D'après Amiot et *al.*, (2002), on définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100.5°C.

I. 3. 4. Acidité

Selon Jean et Dijon(1993), l'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques et de l'acidité développée, due à l'acide lactique formé dans la fermentation lactique (cf. Tableau 07). L'acidité titrable du lait est déterminée par dosage par une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine. Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (°D) (1°D=0.1g d'acide lactique par litre de lait).

Tableau 07: Acidité naturelle du lait et apport des différents constituants (Amiot et *al.*, 2002).

Constituants	Acidité (% d'équivalent d'acide lactique)
Caséines	0,05 à 0,08
Phosphates	0,05 à 0,07
Lactalbumine	0,01
CO ₂	0,01 à 0,02
Acide citrique	0,01

I. 4. Microflore du lait

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ ml) (Larpen, 1997). En effet, dans des conditions de propreté et d'hygiène normale, le lait cru renferme de nombreux germes constituant la flore originale. Cette microflore est représentée essentiellement par des lactobacilles et des streptocoques lactiques commensaux provenant du pis et des canaux galactophores (Hermier et *al.*, 1997).

La qualité du lait cru repose pour une grande part sur l'importance quantitative et qualitative de la flore microbienne qui s'y trouve dans le lait collecté après la traite (cf. Tableau 08).

Cette population microbienne est le résultat de la combinaison :

- D'une flore originelle dont les germes proviennent de l'intérieur de la mamelle à l'issue d'une traite aseptique ;
- D'une flore de contamination dont les germes sont apportés par le milieu extérieur lors de la traite ou des manipulations ultérieures (yabrir, 2014).

D'autres parts, le lait peut être contaminé par divers microorganismes de l'environnement : Entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, microcoques, Corynébactéries, *Bacillus*...etc. par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait (Leyral et Vierling, 2001).

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries, et éventuellement, d'entérobactéries pathogènes (*Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter*...).

Les laits d'animaux malades peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme (*Staphylococcus aureus*, *Brucella*, *Listeria*). Ceci explique l'importance d'un contrôle sanitaire rigoureux (Leyral et Vierling, 2001).

Tableau 08 : La flore bactérienne du lait (Leyral et Vierling, 2001).

Bactéries des canaux galactophores	Bactéries contaminantes le lait pendant et après la traite	Bactéries d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
Lactobacilles Streptocoques lactiques	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> Entérobactéries, microcoques, Corynébactéries, <i>Bacillus</i> , <i>Sterptococcus faecalis</i> <i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i> <i>Campylobacter</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Brucella</i> , <i>Listeria</i>

CHAPITRE II
STAPHYLOCOCCUS AUREUS

II. 1. Historique

Dans les deux premières communications à l'académie des sciences en 1876 et 1880, Louis Pasteur a révélé et insisté sur l'existence de *Staphylococcus aureus*, qu'il avait isolée à la fois du pus de l'anthrax et de l'ostéomyélite et aussi des eaux de la seine (Fasquelle, 1974).

En 1878, Robert Koch a décrit ces germes, disposés en grappes de raisin à l'examen microscopique (Spicer, 2003). Ce n'est qu'en 1882 que le nom "Staphylocoque" a été donné par le chirurgien Ogston, pour décrire ces grains (kokkos), groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (Staphylos) (Ogston, 1882; Eykin, 1996).

Enfin, en 1884, en Allemagne, Rodenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en cultivant les bactéries sur milieu solide. En 1884, Rodenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries (Hennekinne, 2009).

II. 2. Classification des Staphylocoques

Selon la classification de Garrity et *al.* (2007), le phylum Firmicutes est constitué de quatre classes: Clostridia, Mollicutes, Bacilli, Togobacteria. La classe des Bacilli est constituée de deux ordres: Bacillales et Lactobacillales, dont chacun est divisé en quatre familles; Staphylococcaceae constitue la 4^{ème} famille des Bacillales, celle-ci comprend un seul genre: *Staphylococcus* (GC% 30-39%) (cf. Tableau 09).

Le genre *Staphylococcus* est proche des genres *Listeria* et *Bacillus* et occupe une place très importante en pathologie humaine et animale.

Tableau 09 : Classification hiérarchique du Phylum XIII (Firmicutes) basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN/ARN 16S (Garrity et *al.*, 2007).

<p>Phylum XIII : <i>Firmicutes</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Classe I : <i>Clostridia</i> • Classe II : <i>Mollicutes</i> • Classe III : <i>Lactobacillales</i> • Classe IV : <i>Bacilli</i> ❖ Ordre I : <i>Bacillales</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Famille I : <i>Bacillaceae</i> Genre : <i>Bacillus</i> ▪ Famille II : <i>Planococcaceae</i> Genre : <i>Planococcus</i> ▪ Famille III : <i>Listeriaceae</i> Genre : <i>Listeria</i> ▪ Famille IV : <i>Staphylococcaceae</i> Genre : <i>Staphylococcus</i>
--

La classification du genre *Staphylococcus* a subi plusieurs remaniements successifs qui reposent sur l'analyse des séquences des gènes codant pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S (Garrity et *al.*, 2002). Elle aboutit à la reconnaissance de 45 espèces et sous espèces de staphylocoques, que l'on peut identifier grâce à leurs différents caractères phénotypiques (réactions biochimiques, structure de la paroi) et génotypiques (polymorphisme de restriction, ribotypage et autres) (Garrity et *al.*, 2007). Ce dernier étant le plus souvent réservé aux études épidémiologiques.

Parmi ces espèces, dix sept sont retrouvées chez l'Homme. D'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments (Aouati, 2009).

II. 3. Description générale du *Staphylococcus aureus*

Il est appa rait comme l'espèce de Staphylocoque la plus pathogène, aussi bien pour l'homme que pour les animaux (Sutra et *al.*, 1998).

II. 3.1. Caractères morphologiques

Comme toutes les espèces du genre *Staphylococcus*, les bactéries de l'espèce *Staphylococcus aureus* sont des coques à Gram positif de 0,5 à 2,5 m de diamètre, qui sont associées par paire, en chainettes de 3 à 5 coques, ou en amas irréguliers ou en grappe de raisin (Sutra et *al.*, 1998) (cf. Figure 02 et 03).

Il forme des colonies rondes, lisses, de 4 à 6 mm de diamètre de couleur blanche, jaune ou orang e sur gélose d'où son nom de staphylocoque doré (Asperger et Zangerl, 2011).



Figure 02: Aspect morphologique de *S. aureus* observée au microscope électronique (Leyral et Vierling, 2007).

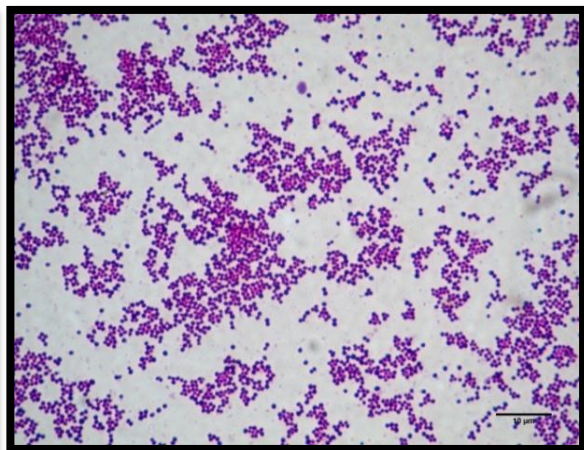


Figure 03: Micrographie optique de *S. aureus* suite à une coloration de Gram (Anonyme, 2013).

II. 3.2. Caractères cultureux

Les staphylocoques sont aérobie facultatifs (quelques souches exigent le CO₂ pour croître). Il est peu exigeant sur le plan nutritif, ils croissent bien sur les milieux usuels simples, de même que sur la plupart des milieux qui favorisent la croissance des bactéries à Gram positif (Couture, 1990).

Certains facteurs de croissance sont indispensables à savoir Vitamine B1, acide nicotinique, mais ils n'exigent pas de biotine ni de tryptophane (Fasquelle, et *al.*, 1974). Ils poussent en milieu synthétique contenant des sels, du glucose et de quatorze acides aminés dont la cystéine, la thiamine et l'acide nicotinique (Le Minor et Veron 1990).

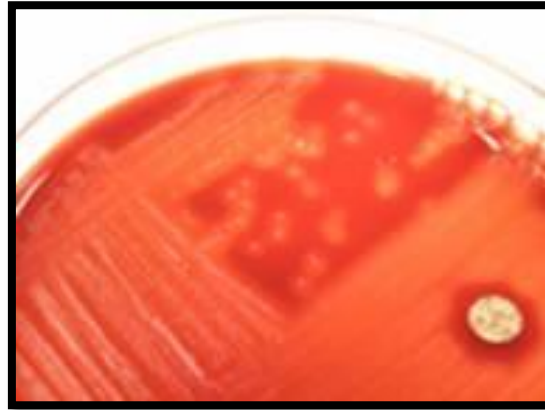


Figure 04 : Aspect des colonies de *S. aureus* sur milieu gélosé au sang 18 h à 37°C (Hart et Shears, 1997).

Ils donnent différents aspects en fonction de milieu de culture utilisé :

- Sur gélose au sang, les colonies qu'ils produisent sont de plus grand diamètre que celles produites sur gélose nutritif (Couture, 1990). Ainsi, une pigmentation peut être observée où la couleur varie selon l'espèce, le caractère pigmentaire n'est donc pas propre à l'espèce (Couture, 1990). En bouillon, la culture est rapide, en quelques heures un trouble homogène puis un dépôt sont observés, il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide (Kloos and Shleifer, 1975).
- Sur milieu de Chapman (milieu sélectif): il ne laisse croître que les Staphylocoques, germes halophiles qui tolèrent des concentrations élevées de Na Cl jusqu'à 7,5% (qui inhibe pour cette raison, la plupart des autres germes), ce milieu sélectif rendu différentiel par l'addition de Mannitol à 1% et d'un indicateur d'acidité, le rouge de phénol, permet à la fois d'isoler le Staphylocoque à partir d'un prélèvement contenant un mélange de germes et nous oriente vers un *S. aureus* ou un *S. epidermidis* (Fasquelle, 1974 ; Couture 1990 ; Le Minor et Veron 1990).

Par ailleurs, en bactériologie alimentaire pour isoler et caractériser le Staphylocoque, le milieu de Baird Parker est utilisé. Il est à base de téllurite comme agent sélecteur, enrichi en glycine, en pyruvate et en jaune d'œuf. Il faut noter que les milieux sélectifs ne conviennent pas pour isoler les Staphylocoques de l'air (Le Minor et Veron 1990).

II. 3.3. Caractères physiologiques et biochimiques

D'après Sutra *et al.* (1998), *S. aureus* est un germe mésophile, comme il peut se développer en conditions d'anaérobiose, dont la température optimale de croissance est comprise entre 30°C et 37°C, capable de se multiplier à des valeurs de pH comprises entre 4,2 et 9,3 avec un pH optimal de croissance de 7,0 à 7,5 (Fasquelle, 1974 ; Couture 1990 ; Le Minor et Veron 1990). Il tolère des concentrations de 5 à 10% de Na Cl (De Buyser, 1996 ; Guiraud et Rosec, 2004).

S. aureus est immobile, non sporulé, oxydase négative et catalase positive (Fasquelle, 1974 ; Couture 1990 ; Le Minor et Veron 1990). Ils sont: indole -, acétone +, uréase +, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (Fasquelle, 1974 ; Le Minor et Veron 1990).

Couture (1990), évoque que, la plupart des souches de *S. aureus* contrairement aux autres espèces produisent de l'hémolyse bêta, caractéristique utile lorsqu'on cherche à identifier un staphylocoque.

S. aureus possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques (Ferron, 1984). Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés; (glucose, saccharose, lévulose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol. L'utilisation du mannitol est une indication importante parce que ce polyalcool est fermenté par *S. aureus* et *S. epidermidis* (Fasquelle, 1974 ; Couture 1990).

Cependant, la production de pigments (caractères culturels), d'hémolyse et la dégradation du mannitol n'ont pas toujours lieu; ce sont des indices auxquels on ne peut se fier pour identifier le germe de façon certaine. Il faut donc procéder à son identification par l'étude de différentes propriétés biologiques et biochimiques (Couture, 1990).

Ce qui caractérise principalement l'espèce *S. aureus*, c'est la production d'une Staphylo-coagulase (cf. Tableau 10) (Fauchere et Avril, 2002). Cependant, certaines souches

de *S. aureus* peuvent ne pas produire de coagulase libre en raison d'une mutation. Ainsi, une DNase thermostable permet de déterminer si le germe isolé est un *S. aureus* (Couture, 1990).

Tableau 10 : Caractères distinctifs de *Staphylococcus aureus* (Fauchere et Avril, 2002).

	<i>S. aureus</i>	Autres espèces de staphylocoques
Aspects des colonies	Pigment doré	Blanches
Milieu de Chapman	Acidification du mannitol (jaune)	Pas d'acidification du mannitol (rouge) sauf <i>S. epidermidis</i>
Staphylo-coagulase	Positive	Négative

II. 4. Réservoirs naturels et transmission de *Staphylococcus aureus*

Selon Qual (2009), les réservoirs de *S. aureus* sont l'homme et les animaux à sang chaud. Chez l'homme on retrouve couramment *S. aureus* au niveau de la peau et de ces annexes glandulaires, de la gorge et du tube digestif, des fosses nasales, de la région périnéale et des aisselles. Ils sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'Homme et de l'animal (Breche et al., 1988). L'habitat préférentiel de *S. aureus* chez l'Homme est la muqueuse nasale avec 10 à 40% d'individus porteurs de façon permanente (et environ 60% qui hébergent *S. aureus* de façon intermittente) à une densité de 10^3 à 10^4 UFC/cm² (Heczko et al., 1981).

Ils sont largement disséminés dans l'environnement, retrouvés dans le sol, les poussières (l'air), l'eau et dans certains produits alimentaires (laitages, conserves salées) (Breche et al., 1988).

II. 5. Substances élaborées par *S. aureus*

Toutes les souches de *S. aureus* produisent des protéines excrétées dans le milieu extracellulaire et sont douées soit d'une activité enzymatique, soit d'une activité toxique; mais la distinction entre ces deux formes d'activité biologique est souvent difficile (Möllby, 1983 ;Wadström, 1983). De même, le caractère extracellulaire de ces substances n'est pas toujours respecté, certaines d'entre elles restent fixées à la membrane cytoplasmique (Le Minor et Veron, 1990).

II. 5.1. Enzymes produites par *Staphylococcus aureus*

II. 5.1.1. Coagulase libre

La sécrétion de cette enzyme est le caractère taxonomique essentiel de l'espèce (Ferron, 1984). C'est une enzyme extracellulaire thermorésistante. Elle est capable de coaguler le plasma humain (ou de lapin) en quelques heures, prélevé sur héparine, Oxalate ou EDTA (Jarraud et *al.*, 2002). Elle est produite pendant la phase exponentielle de croissance du germe.

Son poids moléculaire varie selon les souches de 31 à 58 kDa et son pHi (point Isoélectrique) est de 5,5, sa formation ne nécessite pas la présence de calcium (Jeljasze et *al.*, 1983). Sa synthèse nécessite la présence de l'acide glutamique, d'histidine, et de lysine.

Sa présence liée à la capacité de *Staphylococcus* à provoquer l'infection ; elle recouvre les corps bactériens d'une coque de fibrine qui inhibe leur phagocytose et favorise leur dissémination (Le Minor et Veron, 1990).

II. 5.1.2. Coagulase liée

C'est une substance insoluble fixé au corps bactériens appelé (clumping factor), elle se trouve chez les staphylocoques coagulase négative, elle assure la même fonction que la coagulase libre (Avril et *al.*, 2003).

Cette protéine, très riche en lysine (poids moléculaire de 21 kDa, pHi de 10,3), est présente chez presque toutes les souches d'origine humaine mais elle est moins fréquente chez les souches d'origine animale (Le Minor et Veron, 1990).

II. 5.1.3. Fibrinolysine ou Staphylokinase

C'est une enzyme qui active le plasminogène en plasma, c'est une substance thermolabile et antigénique caractérisé les souches pathogènes humaines (Ferron, 1984, Avril et *al.*, 2003).

II. 5.1.4. Autres enzymes

Catalase

Elle inhibe la bactéricidie intraleucocytaire en empêchant la formation, par les globules blancs, de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie (EL Kouri et *al.*, 1998).

Protéases

Elles hydrolysent certaines protéines, telle que la staphylokinase, et contribuent à la destruction du caillot et à la formation de microembolies bactériens, responsables de métastases septiques (EL Kouri et *al.*, 1998). On distingue au moins trois types connus: sérine-protéase, métalloprotéase et thiolprotéase (Le Minor et Verron, 1990).

Hyaluronidase

C'est une enzyme thermolabile (80 kDa), agissant à pH acide, qui hydrolyse l'acide hyaluronique présent dans la matrice acellulaire du tissu conjonctif dont elle diminue la viscosité; ce qui a pour effet, de permettre la diffusion des staphylocoques dans les tissus (Avril et *al.*, 2003; EL Kouri et *al.*, 1998; Fasquelle, 1974 ; Le Minor et Verron, 1990).

Nucléases

Ce sont des enzymes capables d'hydrolyser le DNA et le RNA; leur action s'exerce à pH alcalin en présence de calcium.

La désoxyribonucléase thermostable (thermonucléase) est produite par toutes les souches de *S. aureus*, ainsi que par environ 5% de souches de staphylocoques à coagulase négative, appartenant aux espèces *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis* et *S. schleiferi*, alors que celle des autres espèces bactériennes est thermolabile (Avril et *al.*, 2003) . Ces nucléases interviennent dans la formation des lésions tissulaires (Avril et *al.*, 2003; EL Kouri et *al.*, 1998 ; Ferron, 1984; Le Minor et Verron, 1990).

Phosphatases

Les phosphatases alcaline et acide (pH optimaux 10.8 et 5.2) sont localisées sur la membrane cytoplasmique ou l'acide teichoïque (Avril et *al.*, 2003). Leur rôle physiologique n'est pas connu. Seule la phosphatase acide est partiellement libérée dans le milieu (Avril et *al.*, 2003; Le Minor et Verron, 1990).

Lysosyme

S. aureus produit un lysosyme capable de lyser la paroi de cellules bactériennes, il s'agit en fait d'une endo- β -N-acétylglucosaminidase (Le Minor et Verron, 1990).

Lipases et estérases

Elles sont capables de métaboliser les graisses cutanées et jouent un rôle dans la dissémination de l'infection (EL Kouri et *al.*, 1998 ; Le Minor et Verron, 1990 et Ferron, 1984).

β -lactamases

Elles inactivent les β -lactamines et jouent un rôle important dans la résistance des souches de Staphylocoques à ces antibiotiques (EL Kouri et *al.*, 1998 ; Ferron , 1984).

II. 5.2. Toxines produites par *Staphylococcus aureus*

Plusieurs toxines sont retrouvées chez les souches de *S. aureus* responsables d'infections humaines et dont les facteurs de virulence ne sont pas toujours connus (Eveillard, 2007).

II. 5.2.1. Staphylolysines ou hémolysines

L'Alpha-hémolysine ou alphatoxine Staphylococcique

C'est une exotoxine protéique de poids moléculaire de 33 kDa et de pHi de 8.55, thermostable, antigénique, induisant la formation d'anticorps neutralisants (Avril et *al.*, 2003).

Elle est synthétisée par 80 à 90% des souches pathogènes, elle est cytotoxique et cytolytique pour une grande variété de types cellulaires, elle agit sur de nombreuses membranes cellulaires (érythrocytes, leucocytes, plaquettes, fibroblastes), et entraînerait la formation de canaux intra membranaires créant des troubles osmotiques et une lyse et permettant le passage de molécules de petite taille (Avril et *al.*, 2003 ; EL Kouri et *al.*, 1998 ; Ferron , 1984 ; Le Minor et Verron, 1990).

La bêta-hémolysine

Elle est thermolabile de poids moléculaire de 26 à 38 kDa et de pHi 9.4, synthétisée par 94% de souches animales et par 54% de souches humaines (Avril et *al.*, 2003 ;Le Minor et Verron, 1990).

Elle agit sur un grand nombre de cellules incluant les globules rouges, les globules blancs et les fibroblastes (EL Kouri et *al.*, 1998). Son activité hémolytique est remarquable par les conditions d'apparition, car elle est de type "chaud-froid": les érythrocytes soumis à son action à 37°C ne sont pas lysés sauf si on les refroidit à 4°C (EL Kouri et *al.*, 1998; Le Minor et Verron, 1990).

✚ La gamma-hémolysine

Elle est antigénique chez l'homme, et est formée de deux constituants I (poids moléculaire de 29 kDa, pHi: 9,8) et II (poids moléculaire : 26 kDa, pHi: 9,9) agissant en synergie et dont le cholestérol inhibe l'action. La toxine et les leucocidines sont des toxines synergohyménotropes hydrosolubles, 98% des isolats cliniques de *S. aureus* produisent deux toxines synergohyménotropes ayant une activité biologique différente (Pasteur, 1877).

✚ La delta-hémolysine

Protéine de poids moléculaire de 103 kDa, composée de sous unités (poids moléculaire : 5 kDa, pHi: 9,5), elle est thermostable et hydrophobe, faiblement antigénique (Avril et *al.*, 2003). Son activité biologique n'est pas enzymatique, elle agit comme un détergeant sur les membranes biologiques, sans spécificité mais avec une certaine rapidité, et inhibe l'absorption de l'eau et la production d'acide adénosine mono phosphorique cyclique (AMPc), semblant ainsi jouer un rôle dans les diarrhées aiguës des infections à *S. aureus* (Avril et *al.*, 2003; EL Kouri et *al.*, 1998 ;Le Minor et Verron, 1990).

✚ La leucocidine de Panton Valentine

Elle est formée de deux constituants protéiques F (poids moléculaire de 32 kDa et pI de 9,0) et S (poids moléculaire de 38 kDa) agissant en synergie : Le composant F se combinerait avec la chaîne d'acide gras des phospholipides, le composant S s'adsorberait sur le complexe et se combinerait avec les inositoltriphosphates; or ces substances ne sont présentes que dans les granulocytes de l'homme et du lapin (Avril et *al.*, 2003 ;Le Minor et Verron, 1990).

L'activité biologique de cette toxine est très particulière et s'exerce spécifiquement sur les granulocytes, les macrophages et les basophiles de l'homme et du lapin (Grojec and Jeljazewicz, 1985).

✚ Exfoliatine ou épidermolysine

Certaines souches de *S. aureus* (environ 5%) secrètent une toxine à tropisme cutané: la toxine épidermolytique ou exfoliatine. Bien que sa découverte soit récente, cette toxine est avec l'entérotoxine, l'une des plus intéressantes par la spécificité de son action sur la peau et son rôle pathogène indiscutable (Piemont et *al.*, 1988). C'est une exotoxine protéique d'un poids moléculaire de 27 kDa (Le Minor et Verron, 1990).

II. 5.2.2. Les entérotoxines

Ce sont des exotoxines protéiques relativement thermostables et résistantes aux enzymes digestives, agissant sur les récepteurs neurovégétatifs mésentériques. Elles sont caractérisées par leur poids moléculaire compris entre 27,8 et 34,1 kDa, leurs points isoélectriques et leur sérotypie. Sur le plan antigénique, huit entérotoxines sont identifiées: A, B, C1, C2, C3, D, E et H. Leur production est assez répandue chez *S. aureus*, elles ne sont élaborées que par certaines souches appelées staphylocoques entérotoxigènes (Avril et al., 2003).

Les maladies provoquées par ces souches se présentent sous deux formes particulières :

- les intoxications alimentaires sont généralement observées sous forme d'épidémie localisée aux personnes ayant consommé le même repas : cantines, restaurants, où l'infection Staphylococcique est l'une des plus fréquentes des toxi-infections alimentaires après les salmonelloses (Ferron, 1984; Le Minor et Verron, 1990).
- les entérocolites aiguës pseudo-membraneuses : la possession d'un gène d'entérotoxine n'est pas exceptionnelle, on retrouve une ou plusieurs de ces toxines chez environ la moitié des souches hospitalières, ce qui rend délicat le rattachement d'un syndrome clinique à l'isolement d'une souche entérotoxigène (Avril et al., 2003).

II. 5.2.3. Toxine du Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique (SCTS)

Selon Avril et al. (2003), la TSST-1 (Toxic Shock Syndrome Toxin -1) est une exotoxine produite par 95% des souches de *S. aureus* isolées du vagin. Elle est d'origine chromosomique (Avril et al., 2003). Cette toxine (PM de 2 kDa, pI de 7.2) est produite par des souches du groupe phagique I (lysotype 29), fortement protéolytique mais peu ou pas hémolytique, au cadmium et à l'arsinate. La TSST-1 est un mitogène non spécifique des lymphocytes T humains et animaux, elle induit la production d'interleukine 1, elle est pyrogène et létale, sa toxicité est fortement augmentée si l'injection intraveineuse est suivie de celle de lipopolysaccharide (Le Minor et Verron, 1990).

II. 5.2.4. Toxines pyrogènes

Il existe deux toxines pyrogènes, mitogènes, aspécifiques et antigéniques d'un PM de 12 kDa réparties en deux sérotypes A et B. L'effet pyrogène est observé sur le lapin. Ces toxines sont impliquées dans les fièvres scarlatinoformes Staphylococciques (Avril et al., 2003).

II. 5.2.5. Succinic oxidase factor

Il inhibe l'oxydation du succinate par les mitochondries isolées du foie de souris (Avril et *al.*, 2003).

II. 6. Les manifestations digestives

❖ Toxi-infections alimentaires

Les intoxications alimentaires à *S. aureus* ne sont pas des infections vraies avec multiplication bactérienne *in situ*, mais sont dues aux entérotoxines préalablement développées dans l'aliment, résistantes aux sucs digestifs et pour certaines à la chaleur (Le Minor et Verron, 1990).

Le tableau clinique est impressionnant et surviennent deux à six heures après l'ingestion d'un aliment (Archer et Bosilevae, 2001). La symptomatologie débute brutalement dans un contexte non fébrile en associant des vomissements incoercibles, une diarrhée aqueuse abondante, des douleurs abdominales et des céphalées (Nauciel, 2005). Ces signes apparemment graves sont en fait d'évolution rapide généralement bénigne, sauf chez les individus «fragiles» (Archer et Bosilevae, 2001 ;Nauciel, 2005 ;Bootsma et *al.*,2006).

II. 7. Support génétique de la virulence

Il existe un très grand nombre de gènes liés à la virulence : au moins 40 gènes codant pour des toxines, 20 codant pour des facteurs d'adhésion et 44 régulant la transcription de produits associés à la virulence. Les gènes codant pour les toxines sont regroupés dans des îlots de pathogénicité qui sont des éléments génétiques mobiles (Kuroda et *al.*, 2001).

D'après Becker et *al.* (2003), près de 75% des souches cliniques de *S. aureus* ont des gènes codant pour des toxines. La synthèse des facteurs de virulence est biphasique. A la phase initiale de la croissance bactérienne, ce sont surtout les gènes codant pour des adhésines qui sont activés. Secondairement, les gènes des toxines prennent le relais. Cette activation séquentielle est sous la dépendance du système de régulation de la virulence appelé agr (accessory gene regulator) (Bronner et *al.*, 2004 ; Dufour et *al.*, 2002).

Le système agr met en jeu un mécanisme de déclenchement par seuil (« quorum sensing ») : il code pour un peptide (peptide auto-inducteur) qui est sécrété dans l'espace extracellulaire et son accumulation agit comme un signal sur la densité cellulaire conduisant à l'activation du système agr (Yarwood, et Schlievert, 2003).

CHAPITRE III
EVALUATION DU RISQUE
MICROBIOLOGIQUE

III. 1. Dangers alimentaires

Un danger d'origine alimentaire est, selon la définition du Codex alimentarius, « un agent biologique, chimique ou physique présent dans un aliment, ou état de cet aliment pouvant avoir un effet adverse pour la santé ». Les dangers d'origine alimentaire sont reconnus depuis longtemps et sont classés en dangers biologiques (Bactéries et/ou leurs toxines, Moisissures, Parasites et Virus), dangers chimiques (Additifs alimentaires, Résidus de pesticides, Résidus de médicaments vétérinaires, Contaminants de l'environnement et Contaminants chimiques provenant des emballages) et dangers physiques (Morceaux de métal, menus débris provenant des machines, Morceaux de verre, Pierres et éclats d'os).

III. 2. Définition de l'évaluation du risque

D'après Oscar 2004, L'évaluation du risque est une approche holistique. Elle représente, en particulier, un outil très important pour l'assurance sécurité.

INRS (1998), a défini l'évaluation du risque comme étant une méthode de la quantification, incluant l'incertitude afférente, de la survenue d'un danger et de ses effets néfastes dans une population donnée.

N.A.S. (2001), a considéré l'évaluation des risques comme un processus par lequel l'information sur des risques est identifiée, organisée, et analysée d'une manière systématique afin d'obtenir un espace clair pour la présentation conformée de données disponibles pour la prise de décision pratique.

L'évaluation du risque comprend quatre étapes, l'identification du danger, la caractérisation du danger, l'évaluation de l'exposition et la caractérisation du risque.

Le résultat du processus d'évaluation du risque doit fournir idéalement une représentation claire et équilibrée d'information concernant une situation spécifique, décrite en termes de probabilités et l'impact d'un événement défavorable (Lammerding, 1997).

Le résultat obtenu à l'issue d'appréciation de risque va être comparé avec un niveau du risque jugé « acceptable » (INRS, 1998).

La crédibilité de l'évaluation du risque est basée sur sa capacité de tenir compte de la variabilité et l'incertitude de chaque paramètre appliqué dans l'estimation finale du risque (Lammerding, 1997).

III. 3. Historique d'évaluation du risque microbiologique

Selon Lammerding 1997, Le processus formel pour estimer le risque a été introduit par l'Agence Fédérale Américaine à la fin des années 70, comme un moyen pour standardiser les bases pour la normalisation de la prise de décision, spécialement dans les secteurs concernant l'exposition potentielle des êtres humains à des substances chimiques, dont les effets défavorables sont connus à des doses très élevées, et inconnus à des doses très fines.

En 1995, une consultation commune entre l'organisation mondiale de la santé (WHO) et l'organisation de l'alimentation et de l'agriculture (FAO) des Nations Unies sur l'application d'un modèle « standard », ont déclaré que « les modèles techniques de l'évaluation du risque pour la sécurité microbienne de l'aliment ne peuvent être susceptibles d'être disponibles à court terme » (WHO, 1995), mais le développement et l'intégration des modèles mathématiques à l'estimation du risque aident beaucoup à quantifier le risque au moment de la consommation.

C'est seulement en 1996, qu'a été apparue la première publication sur l'estimation du risque, effectué par Todd, elle concernait l'estimation quantitative de la probabilité d'une maladie (Reij et Van Schothorst, 2000).

Un an plus tard (1997), Van der logt, Hathaway et Vose, utilisent la simulation de Monte Carlo pour estimer la probabilité d'infection par le ténia (*Taenia saginata*) due à la consommation de la viande de bœuf (Reij et Van Schothorst, 2000).

Dans la même année, Whiting et Buchanan ont développé un modèle de simulation de Monte Carlo pour calculer la probabilité de contamination par *Salmonella enteritidis* présente dans l'œuf (Reij et Van Schothorst, 2000).

Parmi, plusieurs articles qui ont été publiés, nous citons à titre d'exemple, les travaux de Backer et al, 1998 ; de Cassin et al, 1998 ; de Bemrah et al, 1998 ; de McElroy et al, 1999; de Notermans et al, 2000 ; d'Oscar, 2004 ; et ceux de Zoltan et al, 2004 ...etc.

III. 4. Objectif de l'évaluation du risque

L'approche de l'évaluation du risque microbiologique diffère des autres stratégies de protection environnementale (McKone, 1996). Son objectif principal n'est pas d'éliminer tous les risques mais de les quantifier et d'équilibrer le niveau du risque avec son coût de réduction

et les risques de concurrence, et /ou le risque qu'est généralement considéré comme acceptable (McKone, 1996).

Ainsi, l'objectif de l'évaluation du risque peut varier selon l'acteur concerné :

- Pour l'industrie alimentaire : l'objectif est d'évaluer la sûreté des produits et le niveau de sécurité microbiologique au moment de la consommation,
- Quant aux autorités de la santé publique : leur objectif est de quantifier le risque attribué à la consommation de certains produits alimentaires.

III. 5. Principes d'évaluation du risque

Selon Buchanan (2004) l'évaluation du risque est basée sur :

1. L'évaluation des risques microbiologiques devrait être fondée sur des éléments scientifiques.
2. Il devrait exister une séparation fonctionnelle entre l'évaluation des risques et la gestion des risques.
3. L'évaluation des risques microbiologiques devrait être menée conformément à une approche structurée comprenant l'identification des dangers, la caractérisation des dangers, l'évaluation de l'exposition et la caractérisation des risques.
4. L'évaluation des risques microbiologiques devrait clairement stipuler l'objectif de l'examen, y compris la forme donnée aux résultats de l'estimation des risques.
5. La conduite d'une évaluation des risques microbiologiques devrait être transparente.
6. Toute contrainte ayant un impact sur l'évaluation des risques, telle que le coût, les ressources ou la durée, devrait être identifiée et ses conséquences possibles décrites.
7. L'estimation des risques devrait comprendre une description des incertitudes et les situer au cours du processus d'évaluation des risques.
8. Les données devraient permettre de déterminer les incertitudes inhérentes à l'évaluation des risques; les données et les systèmes de collecte devraient être, autant que possible, d'une qualité et d'une précision suffisante pour réduire les éléments d'incertitude de l'évaluation des risques.
9. Une évaluation des risques microbiologiques devrait aborder de manière explicite la dynamique de la croissance, de la survie et de la mort des éléments microbiologiques dans les aliments, la complexité de l'interaction (y compris les séquelles) entre

l'homme et l'agent, lorsqu'elle est postérieure à la consommation, ainsi que l'éventualité d'une propagation.

10. Chaque fois que possible, les estimations des risques devraient être réévaluées à l'aide de comparaisons avec des données indépendantes sur les maladies affectant la santé humaine.
11. L'évaluation des risques microbiologiques pourra nécessiter une réévaluation à la lumière de nouvelles informations pertinentes.

III. 6. Types d'évaluation des risques microbiologiques

D'après Sumner et *al.* 2004, il existe plusieurs types d'évaluation du risque qui sont répartis en trois grandes catégories :

1. Qualitative
2. Semi quantitative
3. Quantitative

III. 6. 1. Évaluation du risque de type qualitative

L'évaluation qualitative des risques microbiens est utilisée quand l'évaluation dispose d'un ensemble de données constituant une base inadéquate pour des estimations numériques du risque, mais qui permettent toutefois lors qu'elles sont déterminées par une expertise antérieure, l'identification des incertitudes concomitantes et le classement des risques ou leur répartition en diverses catégories descriptives de ces risques (CAC, 1999).

L'évaluation qualitative peut être entreprise comme une première évaluation d'un problème alimentaire pour déterminer, si le risque est assez significatif pour justifier une analyse plus détaillée (Lammerding, 2000).

Pour chaque danger, une estimation du risque est mise par insertion haute, moyenne ou basse pour répondre à la question de la sévérité du danger et la probabilité de son occurrence (Sumner et *al.*, 2004).

Pour l'évaluation qualitative, des modèles simples qui décrivent des voies d'exposition, doivent être développés, bien que des représentations plus complexes puissent être incorporées pour certains paramètres (Lammerding, 2000).

Les évaluations qualitatives sont utiles quand beaucoup de lacunes dans les données disponibles limitent la précision nécessaire pour une évaluation des risques quantitatifs (IFT, 2000).

En fait, que l'évaluation qualitative est la plus simple. Elle demande moins de données et de ressources que les autres types, par contre, elle est moins utile pour la prise de la décision.

III. 6. 2. Évaluation semi-quantitative du risque

Dans l'évaluation semi-quantitative des risques microbiens, nous obtenons une évaluation numérique des risques, basés sur un mélange de données qualitatives et quantitatives (Sumner et *al.*, 2004).

III. 6. 3. Évaluation quantitative du risque

Évaluation quantitative du risque microbiologique est une évaluation des risques qui fournit des expressions numériques et des indications des incertitudes propres.

Selon Lammerding 2000, il existe deux approches d'évaluation quantitative du risque : l'approche déterministe et approche stochastique.

III. 6. 3. 1. Approche déterministe

Connue aussi sous le nom de point d'estimation, l'approche déterministe de simple (moyenne, ou si choisi, des pires de cas, etc.) valeur pour l'estimation du risque (Lammerding, 2000).

Dans le modèle du risque déterministe, tout le paramètre est représenté par un simple point d'estimation et le risque estimé par une série de calculateur (Havelaar et *al.*, 2004).

III. 6. 3. 2. Approche stochastique

L'approche stochastique est aussi appelée l'approche probabilistique. Elle prend en considération toutes les données et utilisé les distributions de probabilité pour décrire les paramètres qui contribuent au risque (Lammerding, 2000).

Dans cette dernière approche, Plusieurs modèles d'évaluation quantitative du risque « de la fourche à la fourchette » ont été proposés (Cassin et *al.*, 1998; Marks et *al.*, 1998 ; McNab, 1998; Nauta, 2002). Parmi ceux-ci, nous exposons ci- dessous, les « Modèles de

Processus Modulaire du Risque » (MPRMs) (Modular Process Risk Models) proposé par Nauta, (2001). Ce modèle inclue tous les facteurs de risques qui menacent la sécurité de l'aliment tout au long de la chaîne de production.

Dans le MPRMs, la transmission du danger est modulée par fractionnement de la chaîne alimentaire en petites étapes (modules) (Nauta et *al.*, 2002). Chaque module est assignée en tant qu'un, des six processus de base: croissance, inactivation, mélange, division, déplacement ou re-contamination (Nauta et *al.*, 2002). Tout ceci peut donner lieu à des changements dans la prévalence (P), la taille (U) et ou le nombre de bactéries par unité (Nauta et *al.*, 2002).

III. 7. Les étapes de l'évaluation du risque

III. 7. 1. Formulation de l'objectif de l'évaluation des risques

Notermans et Hoostra (2000) évoquent, que pour chaque activité de l'estimation du risque, le but doit être clairement indiqué.

D'après, CAC (1997) ; Notermans et *al.*, 1997 , les résultats et les solutions de rechange possible devraient être définis . Ainsi, la cause du problème, les buts, l'ampleur et le foyer de l'évaluation du risque doivent être définis.

III. 7. 2. Identification du danger

Dans le cas d'un danger microbiologique, le but de l'identification du danger est d'identifier les micro-organismes ou les toxines microbiennes d'un problème et de déterminer si les micro-organismes ou les toxines microbiennes constituent un danger potentiel dans l'aliment (Notermans et *al.*, 1998) (cf. Figure 05).

Deux outils principaux peuvent être utilisés dans cette étape : l'étude épidémiologique et le rapport d'analyse de la structure d'activité (Jaykus, 1996).

Selon Jaykus (1996), l'étude épidémiologique comporte deux étapes qui sont particulièrement utiles pour l'identification du danger (1) la recherche de manifestation et (2) l'étude de surveillance. L'objectif de la recherche épidémiologique consiste à déterminer l'étiologie et les circonstances associées à la manifestation (Jaykus, 1996).

Le programme des surveillances épidémiologique est établi systématiquement et surveille continuellement la prévalence/ incidence de la maladie dans la population humaines (Jaykus, 1996).

Les informations sur le danger peuvent être obtenues à partir de la littérature scientifique, des bases de données concernânt ce danger les industries alimentaires, des agences gouvernementales, et des organisations internationales appropriées et par la sollicitation des avis des experts (CAC, 1999). Ainsi qu'au cours du projet (Carlin et al., 2000).

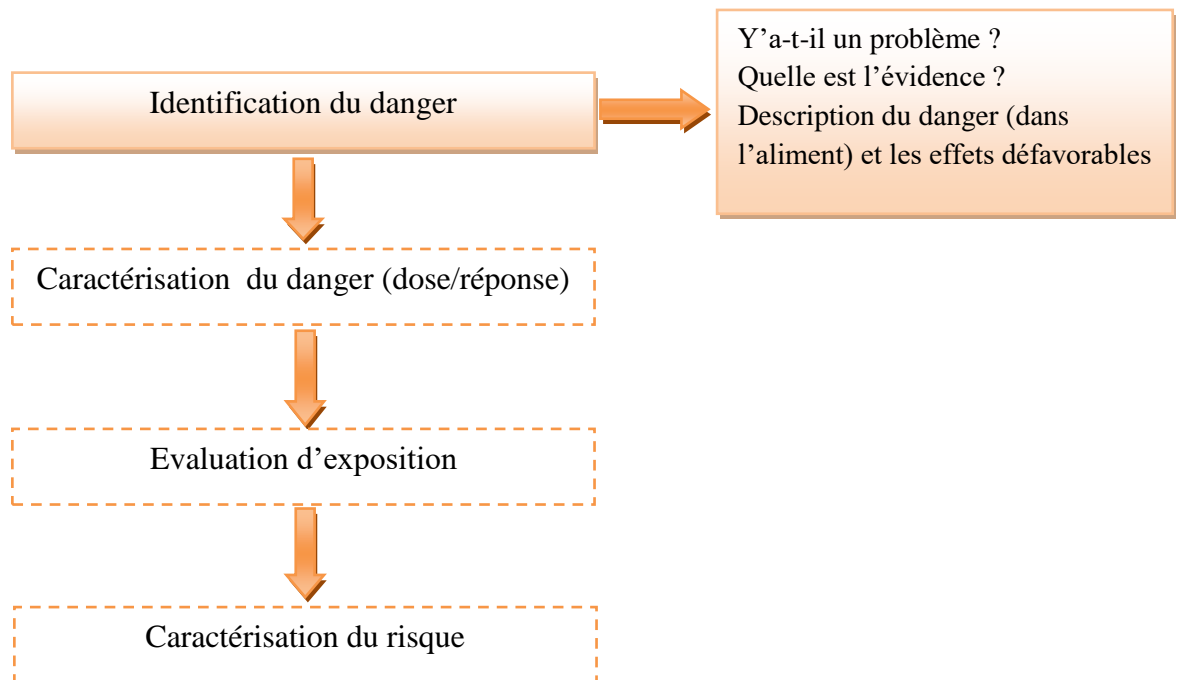


Figure 05 : Questions à répondre lors d'identification du risque (Lammerding, 2004).

III. 7. 3. Caractérisation du danger

D'après Notermans et *al.* (1998), l'objectif de la caractérisation du danger est de fournir des estimations de la nature, de la sévérité et des effets défavorables associées à un agent nocif dans l'aliment (cf. Figure 06).

L'évaluation de la dose/réponse doit être exécutée si les données sont disponibles (CAC, 1999). Elle renvoie spécifiquement à la détermination de la relation entre le nombre des micro-organismes ingérés (ou la concentration des toxines microbiennes), et la fréquence et la sévérité du danger pour définir ses effets défavorables sur la santé (Lammerding, 1997).

Pour l'agent biologique, la dose/réponse dépend (1) du nombre des unités contaminées ingérées (dose) dans l'aliment, (2) de l'infection et de la pathogénicité de l'agent infectieux (3) et de la vulnérabilité de l'hôte (Jaykus, 1996). Dans le cas l'absence de la relation dose/réponse, l'acteur doit prendre en compte l'avis des experts et respecter les règlements existants et les bonnes pratiques de fabrication (Notermans et *al.*, 1998).

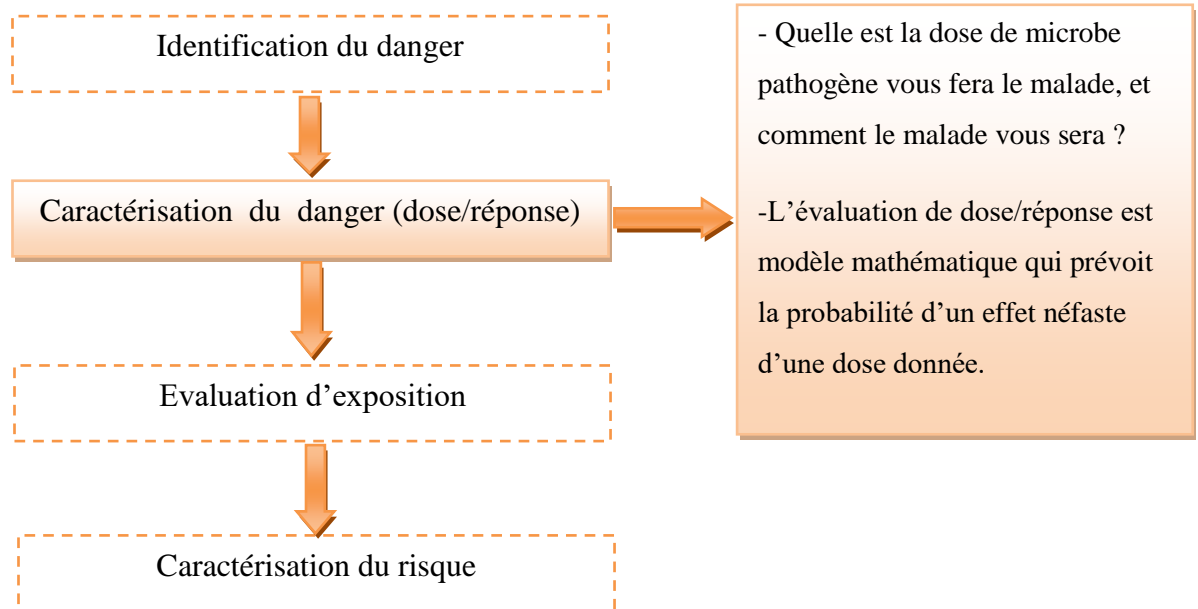


Figure 06 : Principaux composants de caractérisation du danger (Lammerding, 2004).

III. 7. 4. Évaluation d'exposition

L'évaluation d'exposition a pour but de répondre aux questions suivantes : quelle est la probabilité de consommer un aliment contaminé ? Et quel est le nombre probable qu'un microbe pathogène soit présent dans un aliment au moment de la consommation ? En d'autres termes, cette étape permet d'estimer, d'une part, la probabilité qu'un individu ou qu'une population soit exposé au danger microbien ; et d'une autre part, le nombre de micro-organisme susceptible d'être ingéré (Lammerding, 2000).

L'évaluation d'exposition nécessite une grande sélection d'émetteurs d'information et technique qui permettent de récolter des données et des informations de plusieurs directions (Westrell, 2004). Des enquêtes de consommateur doivent être fournies afin de déterminer les informations sur des modèles de consommation de produit, les conditions de stockage domestique et les indications de groupe de consommation de l'aliment d'intérêt (Notermans et *al.*, 1998).

En plus de la littérature scientifique et les enquêtes de consommateur, cite plusieurs sources d'information (Lammerding, 2000). Ainsi, pour compléter son information, l'évaluateur peut récolter plus de données au près : des microbiologistes, des nutritionnistes, des autorités de la santé publique, des vétérinaires, des services de contrôle alimentaire, des associations de consommateur, des associations de commerce alimentaire...etc.

L'évaluation d'exposition devrait être rendue aussi simple que possible sans négliger les sources importantes du risque (Lindqvista, et *al.*, 2002).

Pour l'estimation d'exposition humaine à un agent pathogène, plusieurs techniques sont disponibles. Elles incluent (1) les tests de surveillance, (2) les tests de stockage (3) et les modèles prédictives (Notermans et Batt, 1998) (cf. Figure 07).

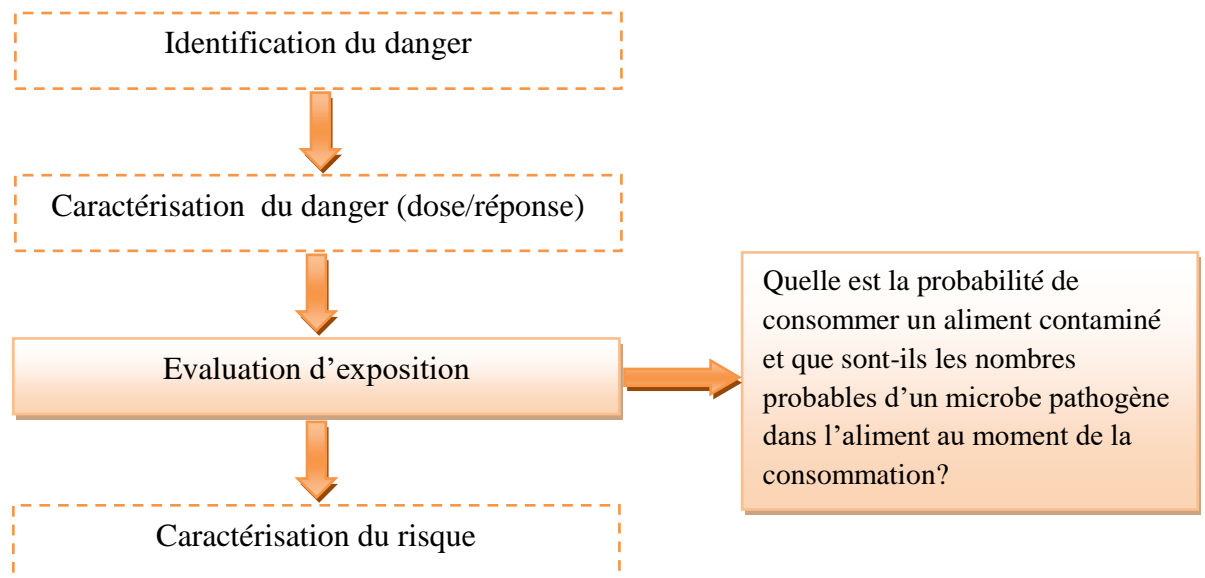


Figure 07 : Principaux Questions d'évaluateur du risque lors d'évaluation d'exposition (Lammerding, 2004).

III. 7. 5. La caractérisation du risque

La caractérisation du risque représente l'intégration de l'indentification du danger, de la caractérisation du danger, et de l'évaluation d'exposition pour obtenir l'estimation qualitative ou quantitative du risque (CAC, 1997) (cf. Figure 08).

La qualité de caractérisation du risque dépend de la qualité des donnés et la validité des formes fonctionnelles utilisées comme entrées pour les modèles de l'évaluation d'exposition et la dose/réponse (Marks et *al.*, 1998).

Le degré de confiance à l'estimation finale du risque, dépend de la variabilité, de l'incertitude et des prétentions identifiées à toutes les étapes précédentes (CAC, 1999).

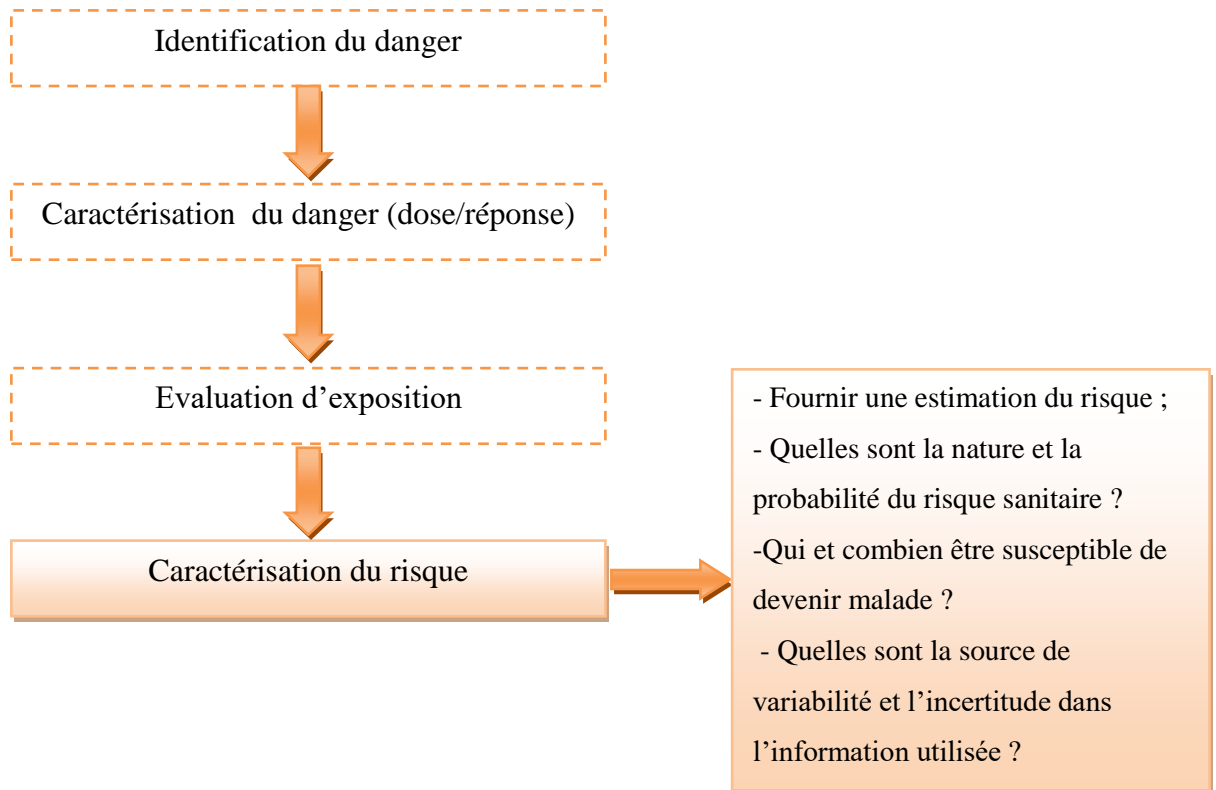


Figure 08 : Problématique à résoudre lors d'évaluation du risque (Lammerding, 2004).

III. 7. 6. Rapport formel

Selon Notermans et Hoornstra, 2000, l'évaluation des risques devrait être entièrement et systématiquement documentée.

Pour assurer une évaluation des risques transparentes, un rapport formel, doit être préparé et rendu disponible aux parties indépendantes intéressées, à fin de permettre à d'autres évaluateurs de critiquer le travail (CAC, 1997).

Selon le public concerné, les rapports élaborés peuvent être largement différents. En effet, les rapports pour la communauté scientifique seront très détaillés, tandis que les rapports dirigés vers les acteurs non scientifiques seront descriptifs, moins détaillés (WHO, 2000).

III. 8. Réévaluation du risque

Les programmes de surveillance peuvent fournir une occasion continue de réévaluer les risques de santé publique liés aux microbes pathogènes dans l'aliment pendant que les nouvelles informations et données appropriées deviennent disponibles (CAC 1999).

Quand de nouvelles données deviennent disponibles, l'évaluation du risque microbiologique doit être révisé (CAC, 1997).

III. 9. Interaction durant le processus d'évaluation du risque

Afin de fournir des évaluations plus précises, les industries, les agences gouvernementales et les instituts scientifiques doivent travailler ensemble pour permettre le progrès requis de l'évaluation des risques (Tompkin, 2001 In Syposs, 2004).

Certaines découvertes scientifiques peuvent entraîner une révision et parfois une clarification des questions soulevées dans le cadre de la gestion du risque, voire modifier la portée, l'axe directeur ou les résultats escomptés de l'ERM (FAO/WHO, 2002).

De plus, il n'est pas toujours possible, avant de lancer l'ERM, de prévoir tous les aspects nécessitant des décisions qui relèvent du cadre directeur de l'ERM, ni tous les besoins en données (FAO/WHO, 2002).

III. 10. Les difficultés d'évaluation du risque dans les pays en développement

Dans les pays en voie de développement, il existe des barrières non négligeables à une bonne compréhension et à une utilisation efficace de l'ERM en matière de la gestion du risque d'origine alimentaire (FAO/OMS, 2002).

Ces obstacles ont des effets directs et indirects sur l'évaluation du risque.

- Bien souvent, les pays en développement ne disposent pas d'infrastructures techniques et des ressources scientifiques et financières nécessaires à l'application directe de l'ERM à leur situation nationale (FAO, 2002) ;
- Aussi, la coopération avec les différents organismes compétents est insuffisante ou même inexistante. Cela provoque de graves lacunes en matière de données qui influencent sur la fiabilité des estimations du risque. Ce problème se pose également, dans les pays développés (FAO, 2002) ;

- Insuffisance de production nationale et l'augmentation de l'importation des produits dont les conditions, méthodes de fabrication, de stockage, transports sont inconnus ;
- Les laboratoires de contrôle alimentaire sont souvent mal équipés et manquent d'un personnel convenablement formé. De ce fait, ils se trouvent souvent incapables de détecter certains microorganismes présents dans l'aliment (surtout pour les produits d'importation) ;
- Dans certains pays, les lacunes législatives laissent passer plusieurs agents (potentiellement pathogène ou non) qui interfèrent le risque à estimer ;
- L'insuffisance des ressources financières et humaines consacrées à l'estimation du risque ;
- L'absence de culture de consommation (faim, revenu quotidien, absence de programme organisé de consommation de certains produits) ;
- L'absence de statistiques claires et précises concernant les habitudes des consommateurs et les intoxications alimentaires, etc. ;
- Le marché parallèle qui fournit des quantités très importantes d'aliments au consommateur local. Des aliments qui ne peuvent pas être soumis, malheureusement, à l'estimation du risque. Et certaines catégories de la population sont entièrement tributaires des aliments vendus sur la voie publique ;
- Les fraudes d'emballage et d'étiquetage, et le manque de qualifications et de conscience professionnelle ;
- La détérioration des infrastructures et du matériel de production qui influence d'une manière directe ou indirecte sur la qualité des produits ;
- Les mauvaises conditions d'approvisionnement des matières premières et des produits finis (l'interruption non déclaré de la chaîne de froid) ;
- Les différences de condition climatique entre certains pays exportateurs et importateurs, Canada et Algérie ;
- Des éleveurs mal formés, faiblement soutenus et non contrôlés ;
- Un autre problème est que les facteurs qui déterminent le risque ne sont pas identifiés ou tout au moins pas présentés dans le détail ;
- Enfin, un dernier problème est celui de la variabilité et de l'incertitude des données utilisées (Schlundt, 2002).

IV. Matériel et Méthodes

IV.1. Caractéristiques de la région de l'étude

Cette étude a été réalisée pour la population de la ville de Laghouat 520.188 d'habitants (Andi, 2013). Elle est située au centre de l'Algérie (hauts plateaux) à 400Km d'Alger vers le Sud (cf. figure 09). Elle est limitée par les wilayas suivantes : au Nord : Tiaret, au Sud : Ghardaïa, à l'Est : Djelfa et à l'Ouest : El-Bayadh (Andi, 2013). Cette dernière se caractérise par un climat saharien et aride dont la température moyenne saisonnière est entre 7,45°C et 27°C (<http://www.meteo.dz/index.php>).

Dans cette région, l'élevage bovin est peu pratiqué par rapport à celui des petits ruminants (ovins et caprins). La wilaya dispose d'un effectif bovin total estimé à 20 180 têtes dont 14 220 sont des vaches laitières (soit 46,24%) dont la production laitière est de 61 165 000 (Litres) par an (Andi, 2013).

IV.2. Méthodologie de l'évaluation d'exposition

Le modèle de l'évaluation de l'exposition est limité à la consommation du lait cru de vache. Il est basé sur Modular Risk Process Model (MRPM) présenté par Nauta (2001). Il consiste à diviser la phase de la consommation en trois modules selon leur effet sur le comportement de *Staphylococcus* à coagulase positive (cf. Tableau 11).

Tableau 11 : Différents modules de la consommation du lait cru de vache à partir du point de vente. (=) Pas de variation ;(+) augmentation ;(-) diminution.

Module	Étape	Process /critère	Temps	Effet sur	
				Prévalence	Nf
Module H0	Vendeur	Température de stockage	t=0	=	=
Module G	Vendeur	Température de stockage	t≠0	+	+
	Consommateur			+	+
Module R	Consommateur	Chauffage	t≠0	-	-

Chaque modèle d'évaluation du risque est basé sur des données de consommation lié au produit et le pathogène étudié.

IV.2. 1. Caractéristique du scénario de consommation du lait cru de vache

Un modèle d'évaluation quantitative d'exposition à un pathogène nécessite l'ensemble des données sur la consommation de denrée alimentaire et sur le pathogène incriminé. Les données de la modalité de la consommation du lait cru de vache dans la ville de Laghouat ont été récoltées par distribution des questionnaires auprès des vendeurs du lait et de consommateurs (les familles).

- **Au niveau du vendeur**

On utilise l'échantillonnage aréolaire qui est utilisé lorsqu'il n'existe pas de bases de données. Le point de départ est une carte géographique (cf. figure 09) ou des photos aériennes, sur lesquelles on délimite des aires qui constitueront autant d'unités (Grawitz, 2001).

Au total 20 vendeurs ont été repérés puis interrogés qui constituent la majorité de points de ventes recensés dans la ville de Laghouat. Ensuite, des questionnaires ont été distribués qui regroupe un ensemble de questions qui tentent d'explorer et de mieux comprendre comment agissent les vendeurs du lait de vache dans la ville de Laghouat vis-à-vis la quantité du lait vendue, la température de stockage du lait, quantité du lait restante et les contrôles de qualité effectués (cf. annexe II).

- **Au niveau du consommateur**

De la même façon décrite précédemment, les consommateurs du lait de vache ont été interrogés. Au total 120 questionnaires (cf. annexe I) ont été distribués sur les familles de la ville de Laghouat dans les zones repérées par la méthode aréolaire.

Les questions construites sont détaillées dans la partie résultats. Elles portent sur le comportement et les facteurs influençant le comportement de *Staphylococcus* à coagulase positive (croissance et/ou la survie).

IV.2. 2. Modélisation de la concentration de *Staphylococcus* à coagulase positive

IV.2. 2. 1. Module 1 : Contamination initiale du lait par *S. aureus*

Staphylococcus aureus a été recherché et dénombré dans le lait cru de vache consommé dans la ville de Laghouat suivant la procédure décrite par la réglementation Algérienne (Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2004).

IV.2. 2. 1. 1. Echantillonnage et prélèvement du lait

Les prélèvements du lait ont été effectués aux différents points de vente (cf. Figure 09) de la ville de Laghouat repérés suivant la méthode aréolaire (Grawitz, 2001). Cette étude a été menée durant le mois de février 2017. Les échantillons sont transportés au laboratoire à 4°C.

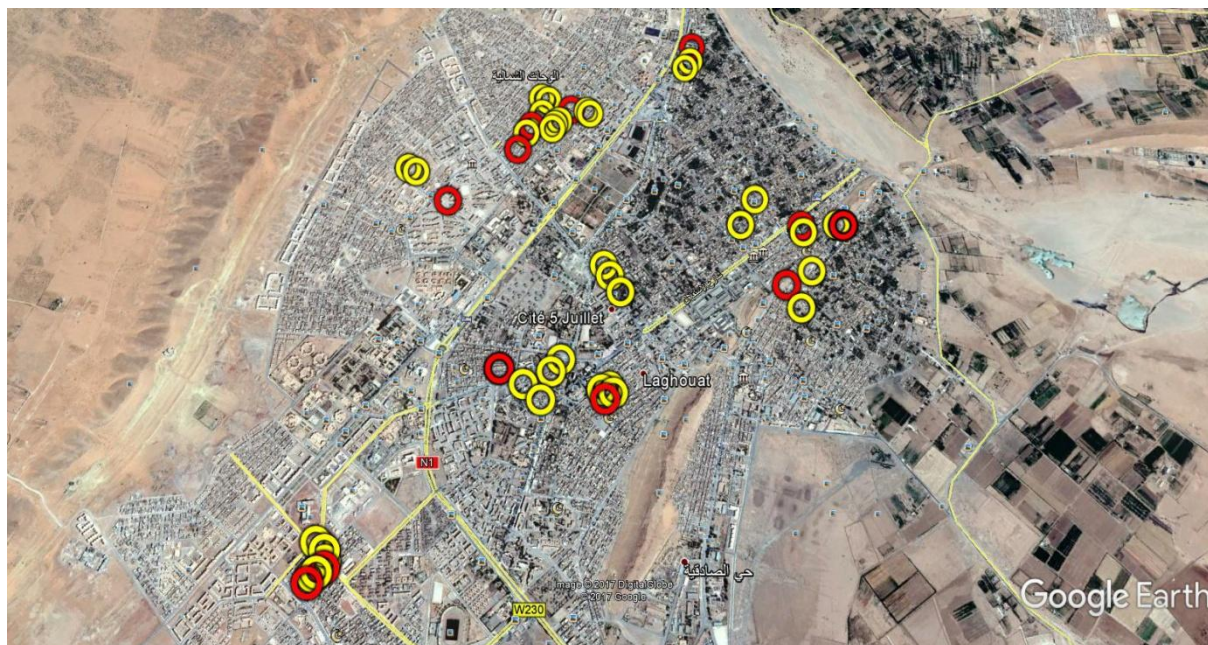


Figure 09: Image satellitaire établie par Google Earth montrant la situation géographique de différents points de prélèvements des échantillons du lait cru de vache vendu dans la ville de Laghouat y compris les points de vente interrogés (cercle en rouge), zone de distribution des questionnaires au niveau des consommateurs (cercle en jaune) (Photo prise le 13 Mars 2017).

IV.2. 2. 1. 2. Préparation des échantillons

La préparation des échantillons du lait cru de vache a été réalisée suivant la procédure inspirée de la méthode NF V08-010 (1996) /ISO 6887.

Elle consiste à diluer 1 ml de l'échantillon du lait dans 9 ml de Tryptone Sel Eau (TSE). Ensuite, des dilutions décimales ont été réalisées.

IV.2. 2. 1. 3. Recherche de *Staphylococcus* à coagulase positive

La recherche de *Staphylococcus* à coagulase positive a été effectuée sur milieu Baird Parker au jaune d'œuf et au tellurite de potassium à 1%. Ensuite, 250 µL de chaque dilution était ensemencé sur des boîtes de Pétri de 90 mm contenant le milieu d'isolement.

Les cultures sont ensuite incubées couvercle en haut à 37°C pendant 24 ± 2h. Après 24h d'incubation, les colonies présumées de *Staphylococcus* à coagulase positive ont été repérées.

Les colonies caractéristiques sont noires, brillantes et convexes (1 à 1.5 mm de diamètre après 24h d'incubation et 1.5 à 2.5mm de diamètre après 48 h d'incubation) et entourées d'une auréole d'éclaircissement.

IV.2. 2. 1. 4. Dénombrement de *Staphylococcus* à coagulase positive

Les colonies comptées sont les colonies présumées de *Staphylococcus* à coagulase positive. Le nombre de *Staphylocoques* caractéristique est compté pour chaque boîte de Pétri selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{V (n_1 + 0.1n_2) d}$$

Où :

$\sum C$: est le nombre des colonies comptées sur une boîte retenue des dilutions effectuées;

V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres;

n_1 : est le nombre des boîtes retenues à la première dilution;

n_2 : est le nombre des boîtes retenues à la seconde dilution;

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

IV.2. 2. 1. 5. Confirmation de l'authenticité

La confirmation de l'authenticité de *Staphylococcus* à coagulase positive était basée sur la coloration de Gram (cf. annexe IV), la recherche de la catalase (cf. annexe IV) et la production de coagulase.

IV.2. 2. 1. 6. Recherche de la coagulase

La recherche de coagulase consiste à préparer une pré-culture d'une nuit à partir d'un bouillon BHI (bouillon cœur-cerveille) puis incubée à 30°C. Ensuite, quelques gouttes de la culture ont été mélangées avec quelques gouttes de plasma du lapin (contenu dans un tube stérile à hémolyse avec anticoagulant EDTA, citraté ou hépariné). La coagulation est examinée durant 4 à 6 heures à 37°C.

Tableau 12: Recueil des différentes techniques microbiologiques utilisées.

Technique	Normes de référence
Préparation des échantillons pour essai	NF V08-010 (1996) /ISO 6887 Arrêté du 11 Septembre 2004 (JORADP n° 70)
Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	NF V08-014 (1984) /ISO 6888 Arrêté du 11 Septembre 2004 (JORADP n° 70)
Préparation d'émulsion de jaune d'œuf	AFNOR, ISO7932 :1993

IV.2. 2. 1. 7. Conservation des souches

Les souches sont conservées dans des tubes de gélose nutritive inclinés à une température de 4°C.

IV. 2. 2. 2. Module 2 : Destruction de *Staphylococcus* à coagulase positive dans le lait

Certains consommateurs chauffent le lait à une température estimée de 95°C (selon l'enquête effectuée) avant sa consommation. De ce fait, la survie de cette bactérie est dépendante de sa thermo-inactivation et la durée d'exposition à la température de 95°C ;

Pour cela, la survie de cette bactérie à cette température de 95°C était déterminée. Elle consiste à répartir 10 ml du lait inoculé par 5 ml d'une culture d'une nuit à 37°C dans des tubes à essai. L'ensemble des tubes ont été apportés au bain marie à 95°C pendant des temps

de chauffage chez les consommateurs. À chaque intervalle de temps (utilisé par le consommateur) un tube a été retiré et utilisé pour le dénombrement.

Ensuite, le taux de destruction de *Staphylococcus* à coagulase positive est estimé pour chaque temps. Le nombre de survivant est estimé à l'aide de l'équation de Mafart et al. (2002) (équation 1) :

$$\log N_{(95^{\circ}\text{C})} = \log N_0 \times (t - D_{95^{\circ}\text{C}}) \quad (1)$$

$N_{(95^{\circ}\text{C})}$: Nombre de survivants à 95°C, température de chauffage chez les consommateurs ;

N_0 : nombre de *Staphylococcus* à coagulase positive à $t=0$;

t : temps de chauffage chez le consommateur ;

$D_{95^{\circ}\text{C}}$: temps de réduction décimale à 95°C estimé par le model de weibull

$$\log N = \log N_0 - (t D_{95^{\circ}\text{C}})^p$$

p : la forme de la courbe

IV.2. 2. 3. Module 3 : Croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive dans le lait

Afin de déterminer les paramètres de croissance pour la souche étudiée, l'étude de la croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive choisie au hasard a été réalisée dans le lait stérilisé.

IV.2. 2. 3. 1. Étude de la croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive

Un volume de 200 mL de lait stérilisé a étéensemencé par 1% d'une pré-culture d'une nuit de la souche de *Staphylococcus* à coagulase positive sélectionnée au hasard puis 10 mL du lait inoculé précédemment ont été réparti dans des flacons de prélèvement stériles puis incubé à 37°C. À chaque intervalle du temps un flacon de 10 ml a été prélevé pour le dénombrement. Le dénombrement a été réalisé sur le même milieu d'isolement.

IV.2. 2. 3. 2. Détermination de paramètre de croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive

Les paramètres de croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive ont été estimés après l'ajustement du modèle de Rosso (1995) (cf. équation 2).

$$f(t, \Theta_1) = \begin{cases} \ln x_0 & , t \leq lag \\ \ln x_{\max} - \ln \left(1 + \left(\frac{x_{\max}}{x_0} - 1 \right) \cdot \exp(-\mu_{\max} \cdot (t - lag)) \right) & , t > lag \end{cases} \quad (2)$$

x_{\max} : concentration maximale de *Staphylococcus* à coagulase positive (UFC/ml) ;

x_0 : concentration initiale de *Staphylococcus* à coagulase positive (UFC/ml) ;

μ_{\max} : taux de croissance (h⁻¹) à la température T ;

t : temps d'incubation (heures) ;

lag : temps de latence (h).

Les paramètres de croissance sont influencés par la température de stockage du lait chez le vendeur et le consommateur. Le stockage peut être au frigo ou bien à la température ambiante. De ce fait, les paramètres de croissance ont été estimés dans ces conditions de température à l'aide de l'équation de Rosso (1995) (cf. équation 3, 4, 5).

$$\gamma(T) = \frac{(T - T_{\min})^2 (T - T_{\max})}{(T_{opt} - T_{\min}) [(T_{opt} - T_{\min})(T - T_{opt}) - (T_{opt} - T_{\max})(T_{opt} + T_{\min} - 2T)]} \quad (3)$$

T_{\min} : température cardinale minimale de croissance (6°C) ;

T_{\max} : température cardinale maximale de croissance (48°C) ;

T_{opt} : température optimale de croissance (35°C) ;

T : température étudiée.

Les températures cardinales de croissance sont extraites de documents de l'Anses (2011).

$$\mu_{\max} \text{ at } T^{\circ}\text{C} = \gamma_{T^{\circ}\text{C}} \cdot \mu_{opt} \quad (4)$$

$$\lambda_{T_G^{\circ}\text{C}} = \mu_{\max(37^{\circ}\text{C})} \times \left(\lambda_{(37^{\circ}\text{C})} / \mu_{T_G^{\circ}\text{C}} \right) \quad (5)$$

En fin, pour chaque condition de stockage temps/température la concentration de *Staphylococcus* à coagulase positive a été estimée à l'aide de l'équation (6).

$$N_{\text{finale}} = N_{\text{Cfinal survival}} \times (\mu \times (t_G - lag_G)) \quad (6)$$

IV. 3. Simulation de Monte Carlo

Le modèle d'évaluation d'exposition a été établi avec le logiciel @risk (v 6.3.1, Palisade Corporation, NY, USA) version d'essai. La simulation de Monte Carlo a été effectuée sur 10^6 itérations basée sur Latin Hyper cube sampling. Le tableau 13 résume l'ensemble de variables, distribution de probabilité et le modèle utilisé pour l'évaluation de l'exposition.

La sensibilité d'analyse inclut l'incertitude et la variabilité est exécutée pour identifier l'impact des facteurs sur les résultats obtenues (Membré *et al.*, 2007).

Tableau 13 : Variables, distributions et modèles utilisés au MRPM du lait cru de vache.

Variable	Description	Unité	Valeur/distribution/ model	Référence
Module 1: Concentration initiale de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive				
P_{Staph}	Prévalence	%	RiskUniform (0 ; 0.12)	Dans cette étude
N_{0Staph}	Concentration initiale	UFC /ml	RiskPert (Nmin,N,Nmax)	
Module 2 : Croissance durant la conservation				
T_G	température de stockage	°C	Ambiante Réfrigérateur RiskPert(5,7,12)	Expertise
t_G	temps de stockage	Heure	figure 11	résultats de cette étude
Lag_G	Temps de latence	Heure	Equation 5	Estimée
μ_G	taux de croissance	h^{-1}	Equation 4	Estimée
$N_{f\ staph}$	Concentration de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive au moment de la consommation	UFC/ml	Equation 6	Estimée
Module 3: Destruction de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive durant le chauffage				
T_c	Température de chauffage	°C	95°C	Enquête
t_c	temps de chauffage	Minutes	RiskPert (2;5;7)	Enquête
$D_{99^\circ C}$	Thermo-résistance à la température de chauffage	Minutes	figure 18	résultats de cette étude

Températures ambiantes extraites de ce site www.meteo.dz/index.php

V. Résultats et Discussions

V. 1. Analyse des données de l'enquête descriptive

Les enquêtes ont été effectuées auprès l'ensemble de point de vente (20 vendeurs) repérés à la ville de Laghouat ainsi que 120 familles (consommateurs) de la même zone d'étude.

Les données de deux enquêtes réalisées sont exposées comme suite :

V. 1. 1. Chez les points de vente du lait

D'après les résultats de l'enquête effectuée, 77% de vendeurs ont répondu sur les questionnaires. Cependant, 22% ont été réservé de répondre qui est probablement lié à leur doute qu'il s'agit d'une étude scientifique. Par ailleurs, l'ensemble de vendeur accueille le lait la matinée et dans les tanks à lait en inox inoxydable avec un système de réfrigération à 4°C.

30 % du lait récolté est issu de lait mixte c'est à dire de plusieurs fermes, cependant, 70% d'une seule ferme.

La quantité du lait (L) achetée par les vendeurs par jour est comprise entre 20 et 150 L avec une moyenne de 77 L et une médiane de 50L (cf. Figure 10 -a).

Par ailleurs, la quantité vendue comprise entre 20 et 120L, avec une moyenne de 61,20L et une médiane de 50L (cf. Figure 10 -b), dont 60% de vendeurs vendent toute la quantité du lait achetée (cf. Figure 10-c). Cependant, 40% de vendeurs, gardent le lait non vendu à 4°C jusqu'au la vente le lendemain. La vente de totalité du lait consiste 2h à 48h (cf. Figure 11).

Par conséquent, cette température (4°C) inférieure à la température cardinale minimale de croissance 6°C. De cet effet, pas de croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive chez les vendeurs. Alors, ce scénario est éliminé de cette étude car n'a pas un effet sur la concentration de *Staphylococcus* à coagulase positive.

La quantité du lait non vendue peut être destinée à la transformation en Lben ou bien utilisée pour la fabrication du fromage. Le risque lié à la consommation de ces dérivées issues du lait de vache contaminé par *Staphylococcus* à coagulase positive n'est pas entrepris dans cette étude.

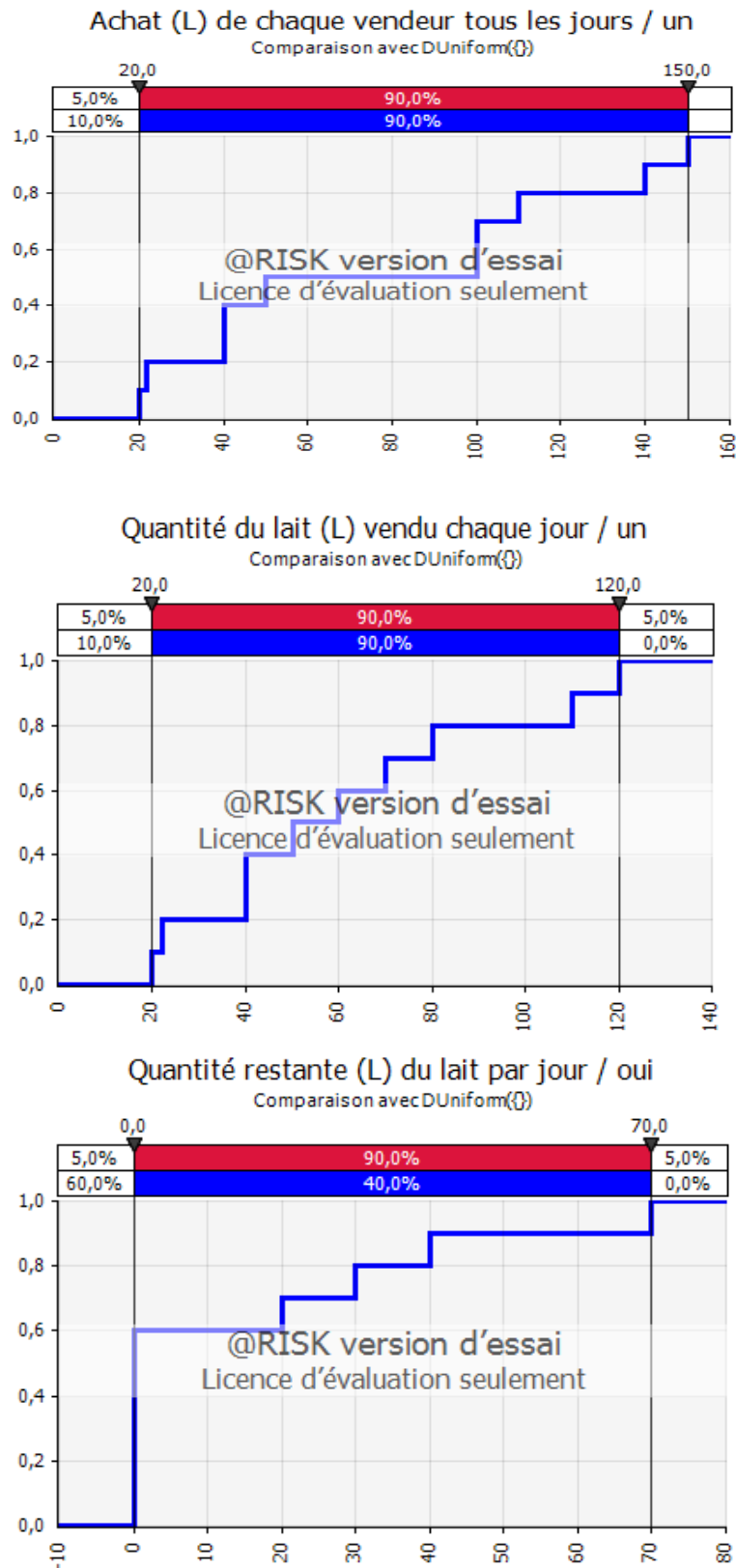


Figure 10 : Distribution cumulée de marché du lait cru de vache dans la ville de Laghouat.

- a) : Quantité du lait (l) achetée par les vendeurs par jour ;
- b) : Quantité vendue ;
- c) : Quantité du lait restante.

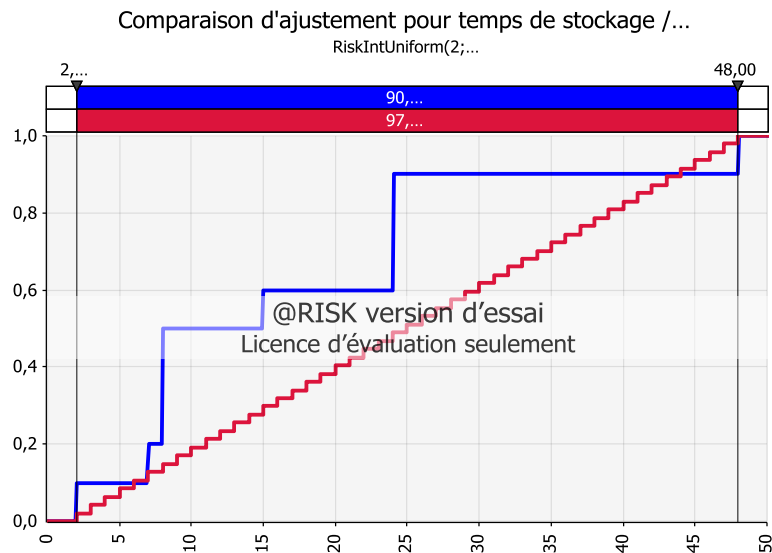


Figure 11: Distribution cumulée de temps de stockage du lait vendu.

V. 1. 2. Chez le consommateur

Les résultats ont montré que 75% de la population consomment le lait cru de vache , cependant, les non consommateurs n'ont pas mentionné les raisons mais probablement il est lié au prix qui n'est pas à la portée des familles à faible revenu, des personnes allergènes ...etc. ou bien d'autre préfèrent le lait en poudre ou traité thermiquement (pasteurisé, stérilisé) qu'ils sont plus sûre de point de vu microbiologique.

À Laghouat, les acheteurs transportent le lait de point de vente au ménage à température ambiante dans leur conditionnement fournis par le vendeur (sachets, ou bouteilles d'eau minérale vides).

À la ville de Laghouat, la quantité achetée est variable d'un ménage à un autre qui comprise entre 1 et 5L avec une moyenne de 2,08L et une médiane de 2L par achat (cf. Figure 12-a).

Le nombre d'achat par ménage à la ville de Laghouat est de 1 à 4 fois par semaine avec une moyenne de 2,96 et une médiane de 3 (cf. Figure 12-b). Par ailleurs, la quantité achetée peut être consommée en une fois à 4 fois par achat (moyenne est de 2,32 et médiane de 2) (cf. Figure 12-c).

Entre autre, le lait est gardé au frigo par la majorité de consommateurs, contre 7,5% gardent le lait à la température ambiante avant la première prise.

Le temps d'attente à la première prise est variable dont 4% consomme directement le lait après son achat. Cependant, 47%, 32% et 17% garde respectivement le lait pendant 1h, 2h et 3h avant la première prise.

Pour la deuxième et la troisième prise, le temps est variable entre 1h à 10h d'attente au frigo.

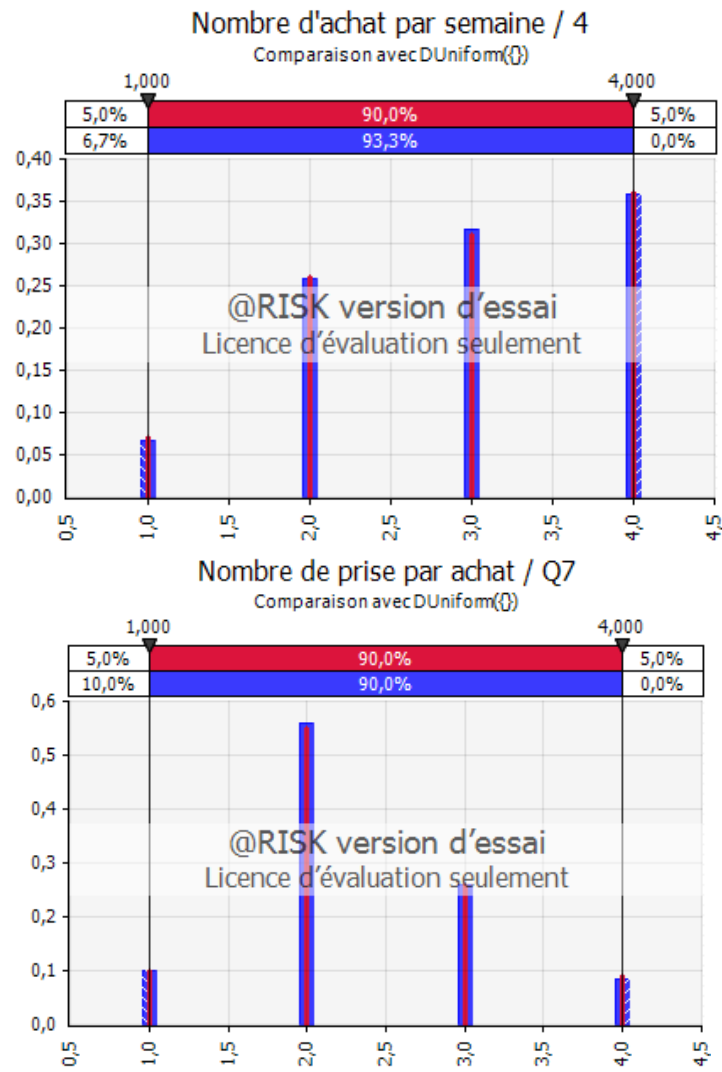


Figure 12 : Distribution a) : Quantité du lait (l) achetée par ménage ; b) : Quantité du lait consommée par achat.

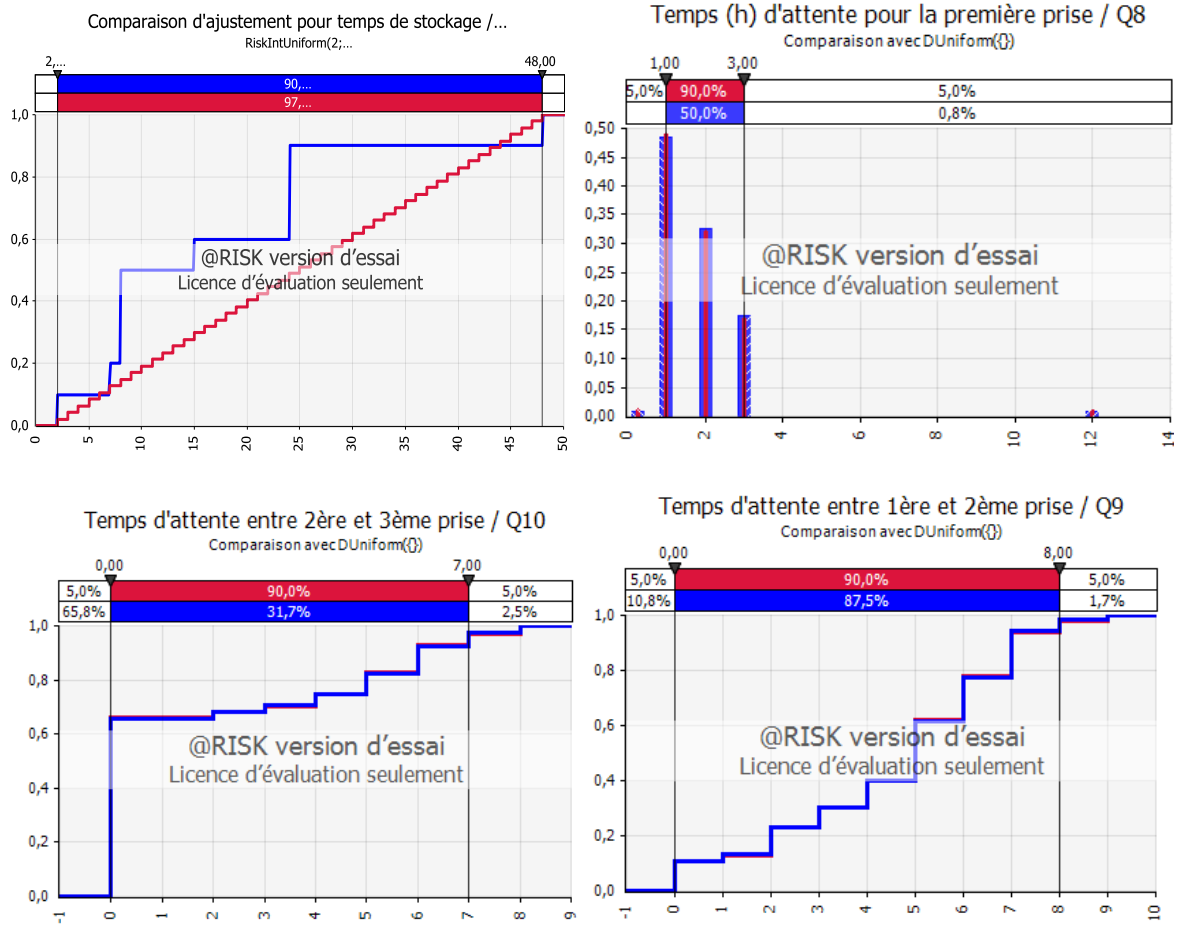


Figure13 : Distrubution cumulée de temps de stockage durant la consommation.

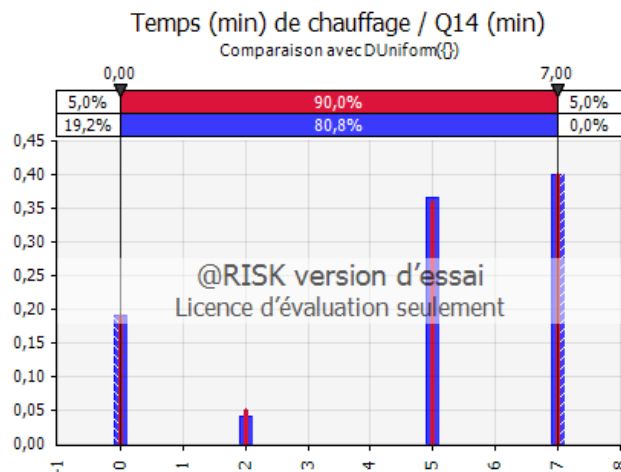


Figure 14: Distribution cumulée de temps de chauffage du lait avant la consommation.

V. 2. Modélisation des modules d'évaluation de l'exposition

V. 2. 1. Module 1 : Contamination initiale en *Staphylococcus* à coagulase positive

V. 2. 1. 1. Obtention des isolats de *Staphylococcus* à coagulase positive

Le dénombrement était réalisé sur le milieu Baird Parker, un milieu sélectif pour la recherche et le dénombrement des *S. aureus*.

Les colonies présumées de *S. aureus* sur milieu Baird Parker sont toutes, de couleur noir, brillantes, entourées d'un halo clair (cf. Figure 15). Les colonies noires ne possédant pas les halos représentent probablement *Proteus* (Joffin et Joffin, 2010).

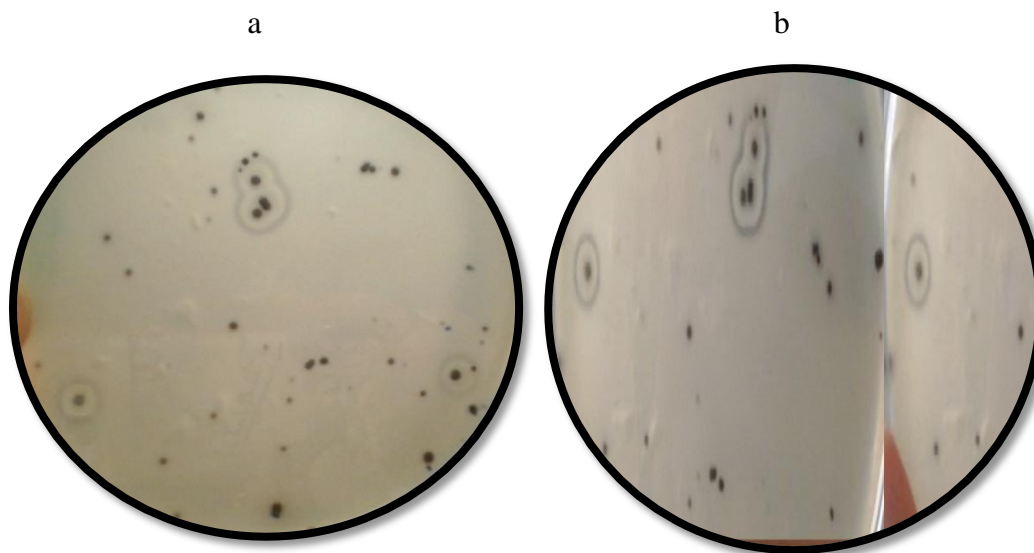


Figure15 : Aspects des colonies de *Staphylococcus* à coagulase positive sur Baird Parker.

a) : isolat 27 et b) : isolat 23.

Les colonies repérées comme *Staphylococcus aureus* possédant catalase positive sont examinées par observation après coloration de Gram. L'ensemble des isolats sont des cocci à Gram positif (cf. Figure 16). L'ensemble des isolats a montré une réaction de coagulase positive (cf. Figure 17).

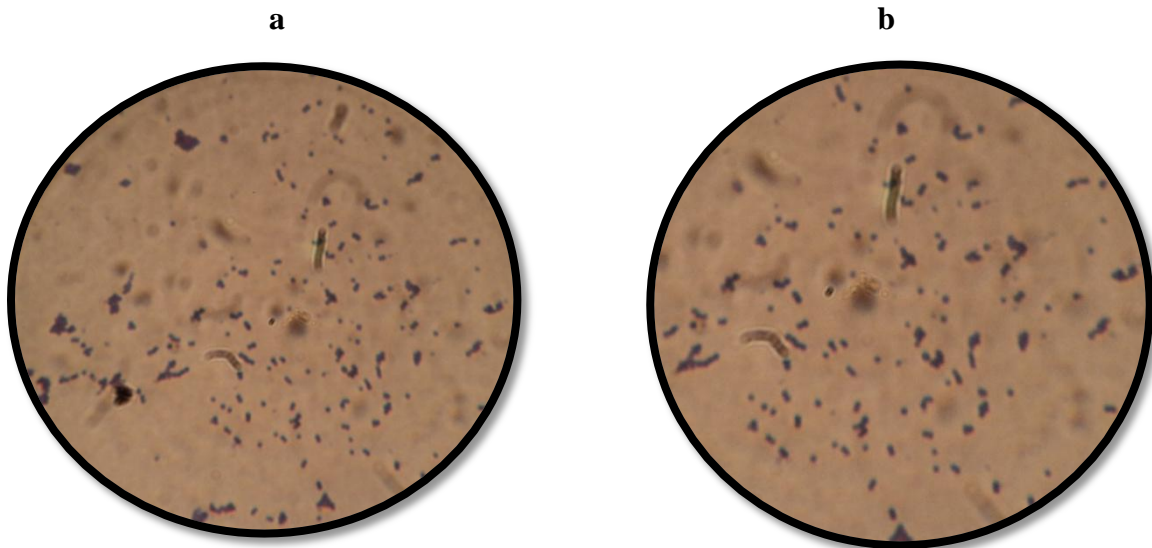


Figure 16 : Observation microscopique des *Staphylocoques* après coloration de Gram.

a) : isolat 27 Gram + et b) : isolat 23 Gram+.

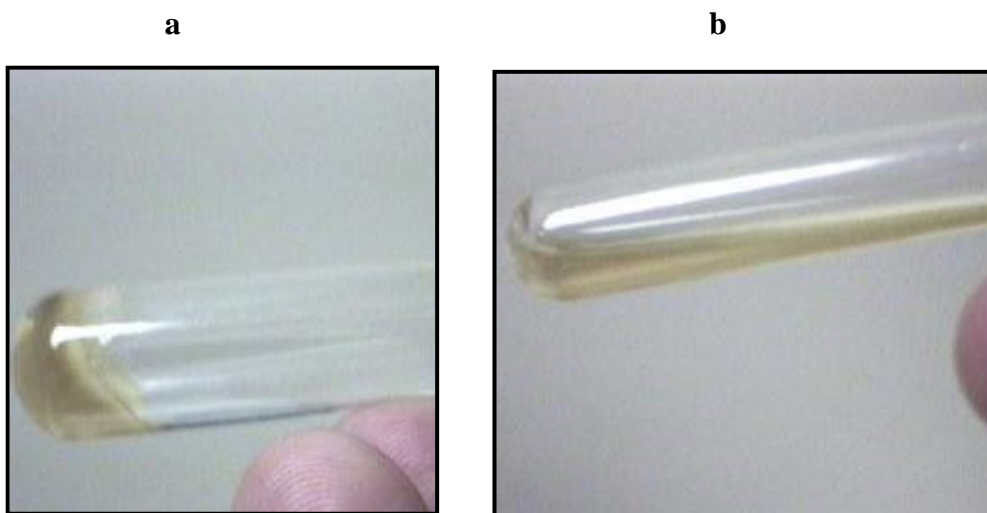


Figure17 : Résultats du test de coagulase positive (coagulase libre).

a) : test de coagulase positive ; b) : test de coagulase négative.

Les souches de *Staphylococcus* à *coagulase positives* provoquant la coagulation du plasma du lapin le plus souvent les trois premières heures, Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum occupe plus des trois quarts du volume initialement occupé par le liquide.

Staphylococcus aureus est l'agent principal causant les mammites bovines décrites par (Hunter 1984). Elle constitue la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections

latentes et les mammites subcliniques. Les mammites étant difficiles à éradiquer, elles représentent la principale source de contamination des laits crus par *S. aureus*.

V. 2. 1. 2. Prévalence et dénombrement de *Staphylococcus* à coagulase positive

Les résultats de la recherche de *Staphylococcus aureus* à partir de cinquante échantillons du lait cru de vache, montre que 12% des échantillons étaient contaminés par *Staphylococcus* à coagulase positive. À cet effet, 12% des échantillons étaient jugés à qualité non satisfaisante selon la réglementation algérienne (JORADN°35, 1998), qui préconise l'absence de germes dans le lait cru. Cette prévalence est dans l'ordre de valeurs reportées 15,38% et 17% par Hakem et al. (2012) et Normanno (2007) respectivement. Par ailleurs, Boufaïda et al.(2012); Chaalal (2013); Titouche (2012); Andre et al. (2008); Jorgensen et al. (2005); Chang et al. (2010);Ombui (1992) ont reportées des prévalences de 30%, 70%; 86%, 66,7% (Brésil), 75% (Norvège), 41% (Chine) 61% (Kenya) respectivement.

Réellement, le consommateur est peut être exposé à intervalle de prévalence de 0 à 12%. À cet effet, une fonction Uniform (0 ;0,12) a été introduit dans le modèle de l'évaluation de l'exposition.

La contamination du lait peut aussi survenir par l'intermédiaire de porteurs sains ou infectés, ou même par l'environnement (Brisabois, 1997).

Par ailleurs, les échantillons contaminés contiennent des concentrations en *Staphylococcus* à coagulase positive entre 3 et 15 UFC/ml avec une moyenne de 6,33 UFC/ml. L'intégration de cette contamination était distribuée par la distribution de Duniform (donne la même chance d'occurrence pour chaque concentration).

Dans cette étude, le niveau de contamination est inférieur à celles reportées (10^2 à 10^3) par Asperger (1994) ; Heuchel (2003). Cependant, ont reporté une contamination supérieure à celle montrée dans cette étude.

À ce niveau de contamination le consommateur n'est pas exposé à une concentration toxique jugé à 5logUFC/ml par Heidinger et al.(2009). Cependant, dans les conditions de stockage surtout à la température ambiante, cette bactérie peut se développer et atteindre la concentration toxique.

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

La qualité hygiénique du lait cru à la vente peut être également améliorée par l'instauration d'une politique de traçabilité et de bonnes pratiques. La prévention des toxi-infections d'origine alimentaire à Staphylocoques passe par la mise en place d'un programme d'action contre les mammites bovines, le maintien du lait à température de réfrigération et le strict respect des règles d'hygiène lors des manipulations à la ferme et aux points de vente, afin de limiter le nombre de *S. aureus* présents dans le lait.

V. 2. 2. Module 2 : Destruction de *Staphylococcus aureus* durant le chauffage

V. 2. 2. 1. Thermo-résistance de *Staphylococcus* à coagulase positive

La cinétique de la thermo-résistance est non linéaire. La valeur du temps de la réduction décimale est estimée à l'aide de modèle de Mafart et *al.* (2002). La valeur de D est estimée à 1,20 min. Par ailleurs, aucune bactérie n'a survie après un traitement de 7 min et 10 min.

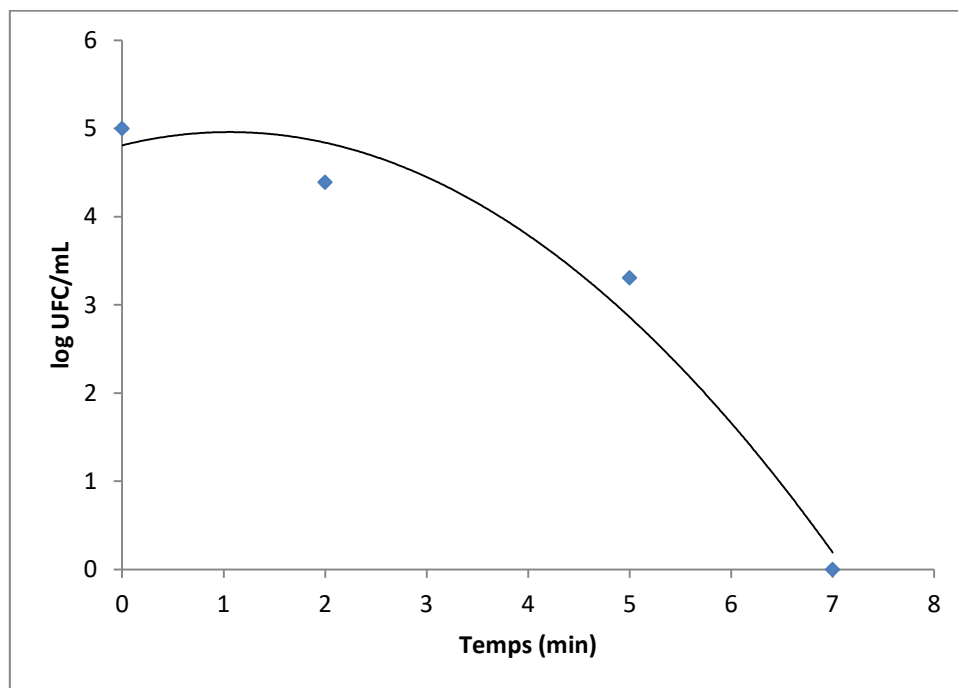


Figure 18: Représentation graphique de la cinétique de thermo-résistance de la souche E23.

$p > 1$ forme de la courbe de la cinétique concave.

V. 2. 2. 2. Prévalence de *Staphylococcus* à coagulase positive après le chauffage

Les concentrations de *Staphylococcus* à coagulase positive étaient estimées à différents temps de traitement thermique chez les consommateurs en utilisant l'équation 1. D'abord, les consommateurs qui chauffent le lait à 95°C pendant 7 et 10 minutes, ne sont pas exposés à *Staphylococcus* à coagulase positive car aucune bactérie ne survit après ce temps de traitement. Cependant, les autres consommateurs qui chauffent le lait pendant 2 et 5 minutes et ceux qui ne le chauffent pas, sont exposés à différentes concentrations de *Staphylococcus* à coagulase positive. A cet effet, la distribution de Poisson a été utilisée pour évaluer la probabilité de survenue de cette bactérie dans les différentes portions du lait.

La distribution de Poisson est compilée avec celle de Bernoulli (probabilité d'occurrence d'un temps de traitement 2 et/ou 5 minutes).

La distribution et la probabilité de *Staphylococcus* à coagulase positive dans le lait après chauffage est de 6% avec une concentration moyenne de 2 UFC/ml (cf. Figure 19).

Ces concentrations sont susceptibles d'être augmentées tenant compte des conditions de stockage (temps/températures de stockage et d'attente) du lait chez les consommateurs.

V. 2. 3. Module de croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive durant la conservation

V. 2. 3. 1. Détermination de paramètres de croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive

La cinétique de croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive E23 est illustrée sur la figure 19. Elle est sigmoïde composée de 4 phases : phase de latence, phase exponentielle, phase stationnaire et phase de déclin. Dans cette étude, la phase de latence et la phase exponentielle présentent un intérêt dans la prédiction de croissance dans n'importe quelle condition de stockage du lait chez le consommateur. L'ajustement du modèle de croissance de Rosso (1995) a permis d'estimer les paramètres (temps de latence : lag phase et taux de croissance : μ) de croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive E23.

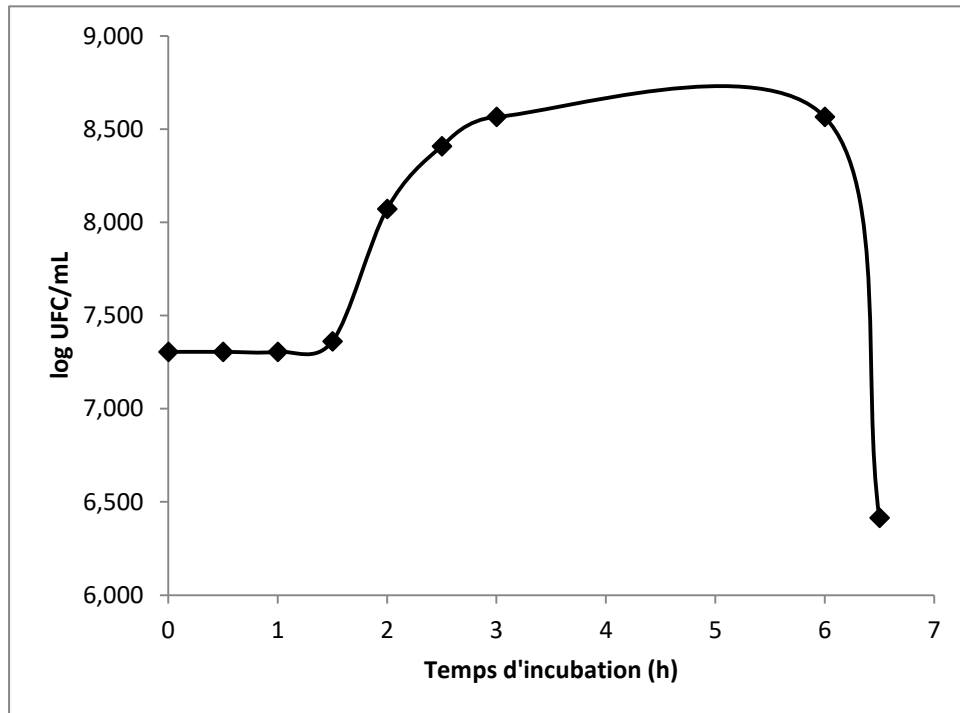


Figure19 : Représentation graphique de la cinétique de croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive E23.

Les paramètres de croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive E23 sont illustrés dans le tableau 14. Par ailleurs, les paramètres de croissance à différentes températures de conservation du lait chez les consommateurs ont été estimés et reportés dans le tableau 14.

En effet, les paramètres de croissance ont été estimés à la température de réfrigérateur attribué par la distribution Pert (5;7;12). Le temps de latence est trop élevé (plus de 10h) pour avoir une croissance avant la consommation du lait. Il est également noté que le taux de croissance est relativement faible ($0h^{-1}$).

Cependant, les paramètres de croissance à la température ambiante sont estimés aux températures saisonnières (cf. Tableau 14), de cet effet, la croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive peut être lieu et même peut atteindre la concentration toxique.

V. 2. 3. 2. Concentration de *Staphylococcus* à coagulase positive à différentes conditions de stockage

Le tableau 14, illustre les concentrations de *Staphylococcus* à coagulase positive y compris ses paramètres de croissance, à différentes conditions de stockage (Température et temps). Les concentrations de *Staphylococcus* à coagulase positive plus élevées sont estimées à l'été (10^7 bactéries par ml), cependant le plus faible à l'hiver (10^2 bactéries par ml).

Tableau14: Les paramètres de croissance et les concentrations de *Staphylococcus* à coagulase positive à différents scénarios.

	Température (°C)		Lag (h)	μ (h-1)	Log N (/mL)
Challenge test	37		1,535	0,455	8,5*
Frigo	Pert(5;7;12)		∞	0	0
Ambiante	Minimale	12,4	5,43	0,098	2
	Maximale	33,8	2,20	0,321	7
	Médiane	25,9	3,51	0,159	4

* N maximale estimée par le modèle de croissance.

Les concentrations de *Staphylococcus* à coagulase positive sont comprises entre 10^2 et 10^7 bactéries par ml. Une forte concentration est observée à l'été.

V. 3. Estimation de nombre de personnes exposées à *Staphylococcus* à coagulase positive

Le nombre de personnes exposées à des concentrations toxiques de *Staphylococcus* à coagulase positive de 5 log UFC/ml est estimé par compilation des distributions (Si alors...) et la simulation de Monte Carlo sur Excel. La feuille de calcul liée l'ensemble des variables avec leur distribution. Le calcul 99th percentiles montre que 3% de potion du lait contient des concentrations de 5 log UFC/ml ou plus. De ce fait, le nombre de personnes qui consomment ces concentrations risquées est de 300 habitants par an. Ces résultats n'ont aucune relation avec l'état sanitaire de personnes ingérant ces concentrations de 5 log UFC/ml.

CONCLUSION

Staphylococcus à coagulase positive est une bactérie fréquemment rencontrée dans le lait cru. La contamination du lait devient un problème majeur de la santé publique surtout avec la présence de *Staphylococcus aureus* qui est responsable des intoxications alimentaires.

En effet, elle est issue de l'animal atteint de mammites comme elle peut être également apportée par les équipements par manque d'hygiène. Le lait cru de vache est vendu tout de suite ou après quelques heures de traite qui risquera de faire passer ce pathogène n'est pas détecté au temps. Dans le contexte d'estimer le nombre de personnes qui peuvent être exposé à ce pathogène, s'inscrit ce travail, qui vise à rechercher, dénombrer les *Staphylococcus* à coagulase positive dans le lait, ainsi que déterminer le nombre de personnes exposées à une concentration toxique (5 log ufc/ml) dans la ville de Laghouat.

Les résultats ont montré une faible prévalence de *Staphylococcus* à coagulase positive (12%) avec des concentrations faibles de 3 à 15 UFC/ml. Un isolat sélectionné au hasard a montré une capacité de croissance dans le lait ($\text{lag} = 1,535\text{h}$ et $\mu = 0,455\text{h}^{-1}$) et une thermo-résistance de 1,19 minutes à 95°C. Après simulation de Monte Carlo tenant compte de comportement de consommateurs de la ville de Laghouat, les résultats ont montré que *Staphylococcus* à coagulase peut se développer et atteindre 5 log UFC/ml. En effet, au total 3% de consommateurs peuvent consommer une concentration égale ou supérieur à 5 log UFC/ml.

La prévention contre les toxi-infections alimentaires à *Staphylocoques aureus* aura lieu par la mise en place d'un programme d'action contre les mammites bovines, le maintien (la conservation) du lait à température de réfrigération, ainsi que le strict respect des règles d'hygiène lors des manipulations à la ferme et à la laiterie par l'éducation des personnels en matière d'hygiène, le respect des procédures de lavage des mains, afin de limiter le nombre de *S. aureus* présentes dans le lait.

A la fin de ce travail, nous traçons comme perspective l'application de l'évaluation du risque de la part des acteurs concernés (organismes gouvernementaux, entreprises, universités, etc.) en utilisant le modèle de risque de processus modulaire et d'étudier une population plus importante, pendant une période plus longue;

Il est intéressant aussi d'estimer le risque de ces bactéries dans les régions rurales où les conditions de vie et l'hygiène de vie est très difficile.

Enfin, des améliorations sont nécessaires au niveau de la déclaration et de l'investigation des toxi-infections alimentaires. En effet, beaucoup de foyers ne sont pas signalés. De plus, la plupart des toxi-infections alimentaires rapportées sont très peu documentées. Faute d'informations épidémiologiques précises, le risque dû à la présence des staphylocoques dans les produits laitiers restera difficile à évaluer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Afnor, 1993.** Contrôle de la qualité des produits alimentaires : lait et produits laitiers : analyses physicochimiques. Paris La Défense : AFNOR, 1993, 4e éd., 581 p.
- **Alves L. 2003.** Le lait et ses dérivés, présentation et définition. Ecole vétérinaire.
- **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H., 2002** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In VIGNOLA C.L, Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).
- **Amiot J., Vignola C.L., Hoden C. 2002.** Sciences et Technologies du lait. Edition Polytechnique. Paris.P 134.
- **Ananou, et al., 2005. In Boudjani, W. 2009.** Action de la flore lactique sur les bactéries de contamination. Mémoire d'ingénieur, institut de biologie, université de Tlemcen. 73pages.
- **ANDI. 2013. Wilaya de Laghouat Invest in Algeria. Agence National de développement de l'investissement. <http://www.andi.dz/index.php/fr/monographie-des-wilayas?id=127>**
- **Andre M. C. D. P. B. ; Campos M. R. H. , Borges L. J. ; Kipnis A. ; Pimenta F. C. ; Serafinin A. B. 2008.** Comparaison of *S. aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed field gel electrophoresis following small digestion . Food Control, 19, 200-207.
- **Anonyme.2013.**<http://www.visualphotos.com>. Consulté le: 23.11.2013.
- **Anses. 2011.** Staphylococcus aureus et entérotoxines staphylococciques. Agence nationale de sécurité sanitaire, alimentation, environnement, travail. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments Septembre 2011.
- **Aouati, H. 2009.** isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistances à la méthicillines: etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Département De Biochimie et De Microbiologie, algérie: thèse N° : 006 / SN / 2009.
- **Archer G.L. and Bosilevae J.M. 2001.** Signaling antibiotic resistance in staphylococci. Science. 291: 1915-1916.
- **Asperger H. 1994.** *Staphylococcus aureus*.In The significance of pathogenic micro-organisme in raw milk (G. Hahn, édit.). Monographie, Document n° 9405, Fédération internationale de laiterie, Bruxelles, 24-42.
- **Avril J.L., Dabernat H., Denis F. et Monteil H. 2003.** Bactériologie clinique. 3^{ème} édition . ellipses, Paris. 8-28.

- **Azzouz M. (2006).** Diagnostic de la mammites sub-clinique chez le cheptel ovin et caprin dans la région de Djelfa. Mémoire de Magister en Agropastoralisme. Université de Djelfa.
- **Baba T., Takeuchi F. and Kuroda M. et al. 2002.** Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet*. 359: 1819-1827.
- **Bootsma M.C., Dieckmann O. and Bonten M.J. 2006.** Controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: quantifying the effects of interventions and rapid diagnostic testing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 103: 5620–5625.
- **Boufaïda Asnour Z. ; Butel M.J.; Ouzrout R. 2012.** Prévalence des principales bactéries responsables de mammites sub-cliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 65 (1-2) : 5-9.
- **Bourgeois et al (1996),** l'espèce *Staphylococcus aureus* appartient à la famille des *Micrococcaceae*. Baird Parker a divisé en 1974 le genre *Staphylococcus* en trois espèces : *S. aureus*, *S. épidermidis* et *S. saprophyticus*.
- **Bourgeois, C. M., Mesle, J.F. et Zuca, J. 1996.** Lait et les produits laitiers non fermentés, Microbiologie alimentaire. Tome 1, aspect micro biologique de la sécurité et de la qualité des aliments.
- **Breche P., Gaillard J. and Simonet M. 1988.** Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie " Bactéries des infections humaines" Flammarion Médecine Sciences, Paris. 267-277.
- **Brisabois A.; Lafarge V. ; Brouillaud A. ; De buyser M.L. ; Collette C. ; Garin-Bastuji B. ; Thorel M.F. 1997.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 16 (1), 452-471.
- **Brunner J., 1981.** Cow milk proteins: twenty five years of progress. *J dairy Sci*, 1981, 64 : 1038-1054. In POUGHEON S., Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 31(102 pages).
- **Buchanan, R.L., 2004.** Principles of risk analysis as applied to microbial food safety concerns. *Mitt. Lebensm. Hyg.* 95, 6 -12
- **Caby, R. Bismuth, P. Bossi (2010).** Infections à staphylocoques. . EMC (Elsevier Masson SAS,
- **CAC (Codex Alimentarius Commission), 1997.** Principles and guidelines for the conduct of a microbiological risk assessment. FAO, Rome. CAC/GI-21.

- **CAC (Codex Alimentarius Commission), 1999.** Principles and guidelines for the conduct of a microbiological risk assessment. FAO, Rome. CAC/GI-30.
- **Carlin, F., Girardin, H., Peck, M.W., Stringer, S.C., Barker, G.C., Martinez, A., Fernandez, A., Fernandez, P., Waites, W.M., Movahedi, S., Van Leusden, F., Nauta, M.J., Moezelaar, R., Del Torre, M., Litman, S., 2000.** Research on factors allowing a risk assessment of spore-forming pathogenic bacteria in cooked chilled foods containing vegetables: a FAIR collaborative project. *International Journal of Food Microbiology*. 60, 117–135.
- **Chaalal W. 2013.** Occurrence et profil d'antibiorésistance des *S. aureus* isolés de produits alimentaires. Mémoire de Magister en Microbiologie. Université d'Oran.
- **Champagne et al., 1992.** In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries de contamination. Memore d'ingeniorat, institut de biologie, université de Tlemcen. 73 pages.
- **Chang D.; Zhu S. Y. ; Yin Z. ; Ding W. ; Mu Z. ; Sun H. 2010.** « Prevalance of bacterial infection responsible of bovine mastis ». *African journal of Microbiology Reserch* Vol 4pp 1110-1116.
- **Cniel. 2006.** Produit laitier. Maison de lait.
- **Couture B. 1990.** Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 15-32.
- **De Buyser M.L. 1996.** « Les staphylocoques ». *Microbiologie alimentaire Tom 1, Tec& Doc, Lavoisier, Paris* 106- 119.
- **DEBRY G., 2001.** Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21 (566 pages).
- **Delarras, C. 2007.** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire.* Paris: Lavoisier.
- **DGROA/DQC/SDNPA/2014.** Rapport relatif aux intoxications alimentaires enregistrées durant l'année 2014. Février 2015.
- **Durand G., Monsan P. 1982.** Les enzymes « production et utilisation industrielles ». Edition Bordas. Pris. P173.
- **El Kouir, D. P. (2003).** Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. *EMC, maladies infectieuses*, [8-007-A-10].
- **EL Kouri D., Pottier M.A., Trewick D., Le Gallou F., Baron D., and Potel G. 1998.** Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. *Encycl Méd Chir*, (Elsevier, Paris), *Maladies Infectieuses*, 8-007-A-10,8p.

- **Eveillard. M 2007.** Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission, thèse de doctorat : 18, 30-32.
- **Eykin SJ. 1996.** Staphylococci. In: DJ Weatherall. JG Ledingham eds. Oxford text book of medicine. Oxford medical publications. 533-542.
- **Eyquem A., Alouf J. and Montagnier L. 1998.** Traité de Microbiologie clinique «Staphylocoques» Nevine EL SOLH. PICCIN NUOVA, Italie. 567-591.
- **FAO. 1998.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Alimentation et nutrition n°28. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- **FAO/OMS, 2002.** Risk assessment of microbiological hazards in foods. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. Genève, Switzerland. 15-19 march, 1999. World Health Organisation, Geneva, 24 pp.
- **FAO/WHO, 2002.** Principles and guidelines for incorporating microbiological risk assessment in the development of food safety standards, guidelines and related texts. Report of a joint FAO/WHO Consultation, Kiel, Germany, 18–22 March 2002.
- **Fasquelle R. 1974.** Eléments de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36.
- **Fauchere J.L. and Avril J.L. 2002.** Bactériologie générale et médicale. ellipses, Paris. 213-217
- **Ferron A. 1984.** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12eme edition. CROUAN et ROQUES, Paris. 87-94.
- **Figarella, J. L.2004.** *Microbiologie générale et appliquée*. Paris: DELAGRAVE.
- **Fredot E. 2006.** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 pages).
- **Garnier F, Denis F. (2007).** Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 .251, 254.
- **Garrity, G. M., Johnson, K. L., Bell, J., & Searles, D. (2002).** *Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, second ed.* New York: Springer-verlag.
- **GHAOUES S. 2011.** Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques du lait reconstitué partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien. Mémoire de magister-technologie alimentaire-, Université Mentouri Constantine.187p.

- **Gopal N., Hill C., Paul R., Ross P.R., Beresford T.P., Mark A., A., Fenelon M.A., and Cotter P.D. 2015.** The prevalence and control of Bacillus and Related spore-forming Bacteria in the Dairy Industry.
- **Gordon, L., Cloeckart, A., Doublet, B., Schwarz, S., Bouju-Albert, A., Ganiere, J. P., et al. 2008.** Complete sequence of the florocarring multiresistance plasmid pAB5S9 from fresh water *Aeromonas bestiarum*. *J. Antimicrob. Chemother* , 62: 65-71.
- **Grawitz M., 2001.** Méthodes des sciences sociales, 11eme édition Dalloz.
- **Grojec P.L. and Jeljazewicz J. 1985.** Staphylococcal Leukocidin. Panton Valentine type. *J. Toxicol.* 4: 133-189
- **Guiraud J.P., Rasec J.P. 1998.** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod. Paris. P 66-81.
- **Guiraud J.P., Rasec J.P. 2004 .**Pratiques des normes en microbiologie alimentaire . Tec et Doc AFNOR.
- **Guiraud J.P., Rasec J.P. 1998.** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod. Paris. P 66-81.
- **Hakem (enx. Akam) A. ; Yabrir B.; Khelef D.; Laoun A. ; Mouffok F.; EL - Gallas N.; Titouche Y.; Ben Aissa R. 2012.** Evaluation of Microbial quality of Raw Milk into two Dairies Mitidja's FARMS (Algeria). *Bulletin USAMV, Veterinary Medicine* 69 (1-2).
- **Hardy K.J., Hawkey P.M., Gao F. and Oppenheirn B.A. 2004.** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. *Br J Anesth.* 92: 121-130.
- **Hart T. et Shears P. 1997.** <Atlas de poche de microbiologie> Médecine sciences Flammarion 4, rue Casimir-Delavigne, 75006 Paris.
- **Havelaara, A.H., Nauta, M.J., Jansen, J.T., 2004.** Fine-tuning Food Safety Objectives and risk assessment. *International of Food Microbiology.* 93, 11-29.
- **Heczko p.B., Hoffler U, Kasprowicz A, Pulverer G. 1981.** Quantitative studies of the flora of the nasal vestibule in relation to nasal carriage of *S.aureus*. *J Med Microbiol* ; 14 (3) : 233-241.
- **Heidenger J.C., Winter C.K., Cullor J.S. 2009.** Quantitative microbial risk assessment for *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus enterotoxin A* in raw milk. *Food Prot;* 72 (8):1641-53.
- **Hennekinne JA., 2009.** Nouvelles approches pour la caractérisation des toxi-infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive. Thèse Doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. pp. 32-49.

- **Hermier J., Lenoir, J., Weber, F. 1997.** Rôle des bactéries lactiques dans la production des facteurs anti microbien, les groupes microbiens d'intérêt laitier. Edition Cepil. Paris. pp ; 9-60.
- **Heuchel V., Chatelin Y.M., Breau S., Sobolewski F., Blancard N., Baraton Y., Ayerbe A. 2003.** Lipolyse du lait de vache et qualité organoleptique des produits laitiers. Renc. Tech. Ruminant n°10.pp
- **Hoden P. et Coulon H., 1991.** Composition chimique du lait, [http:// www.2.vet.lyon.fr](http://www.2.vet.lyon.fr).
- **Hunter A. et Lawson A.W. (1984).** Continuous productions of Lactic acid from whey permeate by *Lactobacillus helveticus* in two chemostats in series. *Enzyme Microb. Technol.* 12:926.
- **IFT, 2000.** Emerging Microbiological Food Safety Issues: Implications for Control in the 21st Century. IFT Expert Report.
- **Inrs (1998).** De la fourche à la fourche XXVe symposium national de médecine agricole tours. 19 juin 1998 INRS documents pour le médecin du travail N° 75 3e trimestre 1998.
- **Jami M., Ghanbari M., Zunabovic M., Konrad J., Kneifel W. 2014.** *Listeria monocytogenes* in aquatic food products. *Comprehensive Reviews in food science and food safety* .VOL 13, p798-813.
- **Jarraud S., Mougél C. and Thioulouse J. et al. 2002.** Relation ships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect Immun.* 70: 631-641.
- **Jaykus, L., 1996.** The application of quantitative risk assessment to microbial food safety risks. *Critical Reviews in Microbiology.* 22, 279-293
- **Jean C., et DIJON C., 1993.** *Au fil du lait*, ISBN 2-86621-172-3
- **Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G., 2008.** *Les produits laitiers* ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: 1-3-13-14-17 (185 pages).
- **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G., 2007.** *Science des aliments-technologie des produits alimentaires* tec et doc, Lavoisier : 17 (456 pages).
- **Joffin J.,Joffin C.,2010 .** *Microbiologie alimentaire*.6eme Edition. CRDP D'Anquitaine.
- **Jorgensen J. H.; Mork T.; Caugant D. A.; Kearns A.; Rorvik L. M. 2005.** Genetic variation among *S. aureus* strains from Norwegian bulk milk. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 8352-8361.

- **Kirat S. 2007.** Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines : cas de la Wilaya de Jijel en Algérie. (Thèse pour l'obtention du titre de Master en Science). Institut agronomique méditerranéen : Montpellier, 139 p.
- **Kloos W.E. and Shleifer K.H. 1975.** «Simplified scheme for routine identification of human Staphylococcus spèceuse». Journal of clinical Microbiology. Vol.1: 82-88.
- **Lammerding A.M. 1997.** An Overview of Microbial Food Safety Risk Assessment. J. Food Prot. 60, 1420-1425. 54.
- **Lammerding A.M. 2004.** What is risk assesment?. International Conference Laval France.
- **Lammerding A.M. et Fazil A. 2000.** Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. Int. J. Food Microbiol. 58, 147-157. 56
- **Larpent J.P et Larpent M.G .1990.** Memento technique de microbiologie. 3^{eme} Ed. technique et documentation Lavoisier. Paris. 417pages.
- **Larpent J.P.(1997).** Memento technique de microbiologie. 3^{eme} Ed. technique et documentation Lavoisier. Paris. 910pages.
- **Le Minor L. and Veron M. 1990.** Bactériologie médicale « Staphylococcus et Micrococcus » J. Fleurette 2eme Edition. Flammarion Médecine-sciences, Paris. 773-794.
- **Leyral G et Vierling É. 2007.** Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires. Wolters Kluwer France. p. 287.
- **Leyral, G., Vierling, E. 2001.** Microbiologie et toxicologie des aliments. 3^{eme} Edition Doin. France. P. 87-114
- **Lindqvista, R., Sylvena, S., Vagsholm, I., 2002.** Quantitative microbial risk assessment exemplified by Staphylococcus aureus in unripened cheese made from raw milk. International Journal of Food Microbiology. 78, 155– 170.
- **Lowy FD. (2003).** Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus. J Clin Invest; 111:1265-1273.
- **Mafart, P., Couvert, O., Gaillards, S., and Leguerinel,I.,2002.** In calculating sterility in thermal preservation methods: application of Weirbull frequency distribution model.
- **Magnusson M.,Christiansson A.,Sevensson B. 2007.** Bcillus cereus spores during houssing of dairy cows: Factors Affecting contamination of raw milk. Journal of dairy science, volume90.

- **Mahaut M., Jeantet R., Brulé G., Schuck P. 2000.** les produits industriels laitiers. éditions tec& doc. p1-10.
- **Marchal, N., Bourdon, J.L. et Richard, CL. 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. 3^{ème} ED., Doin éditeurs, Paris.
- **Margo E., Topping C., Rosser T., Allison L., Courcier E., Evans J., McKendrick I., Pearce M., Handel I., Caprioli A., Karch H., Hanson M., Pollock K., Locking M., Woolhouse M., Matthews L., Low J.C., Gally D.L. 2012.** Pathogenic potential to Humans of Bovine Escherichia coli 026, Scotland. V18 (3):439-448. *Frontiers in Microbiology*.
- **Mathieu J., 1999** Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 3-190 220 pages.
- **Mckone, T.E., 1996.** Overview of the risk analysis approach and terminology: the merging of science, judgment and values. *Food Control*. 7, 69-76.
- **Membré, J.-M., J. Bassett, and Gorris L.G.M., 2007,** Applying the Food Safety Objective and related standards to thermal inactivation of Salmonella in poultry meat: *Journal of Food Protection*, v. 70, no. 9, p. 2036-2044
- **Möllby R. 1983.** Isolation and properties of membrane damaging toxins. In "Staphylococci and staphylococcal infections", CSF Easmon and C. Adlam (ed), Vol.2, Academic Press, London. 619-669.
- **Mouffok F. (2011). Situation en matière de TIA en Algérie de 2010 à 2011.** 2eme congrès Maghrébin sur les TIA, Tunis le 14-15 décembre, 2011.
- **National Academy of Sciences .2001.** Food Safety Policy, Science, and Risk Assessment: Strengthening the Connection: Workshop Proceedings Food Forum, Food and Nutrition board. ISBN: 0-309-56512-X.
- **Nauciel C. 2005.** ABREGES connaissances et pratique « Bactériologie médicale ». 2ème édition. MASSON, Paris. 83-85.
- **Nauta, M.J., 2001.** A modular process risk model structure for quantitative microbiological risk assessment and its application in an exposure assessment of *Bacillus cereus* in a REPFED. 149106 007: RIVM, Bilthoven.
- **Nauta, M.J., 2002.** Modelling bacterial growth in quantitative microbiological risk assessment: is it possible?. *International Journal of Food Microbiology*. 73, 297-304.

- **Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia N.C., Parisi A.; Greco G, Bellacicco A. L.; Virgilio S, Celano G.V.(2007).** <Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in food of animal origin product in Italy>. International Journal of Food Microbiology Volume 117. Issue 2, p 219-222.
- **Notermans, S., Dufrenne, J., Teunis, P., Beumer, R., Giffel, M.T., Weem, P.P., 1997.** A risk assessment study of bacillus cereus present in pasteurized milk. Food Microbiology. 14, 143-151.
- **Notermans, S., Hoornstra. E., 2000.** Risk Assessment of listeria monocytogenes in fish products: some general principles, mechanism of infection and the use of performance standards to control human exposure. International Journal of Microbiology. 62, 223229.
- **Notermans, S., Nauta, M.J., Jansen, J., Jouve J.L., Mead, G.C., 1998.** A risk assessment approach to evaluating food safety based on product surveillance. Food Control. 9, 217-223.
- **Ogston A. 1882.** Micrococcus poisoning. J Anat. 17: 24-58.
- **Ombui J.N. ; Arimi S. N. ; Kayihura M. 1992.** « Raw milk as source of enterotoxigenic S. aureus and enterotoxins in consumer milk ». East Afri Med J V69, 123-125.
- **Oscar, T.P., 2004.** A quantitative risk assessment model for salmonella and whole chickens. International Journal of Food Microbiology. 93, 231-247.
- **Ouadghiri M. 2009.** Biodiversité des bactéries lactiques dans le cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine marocaine. Thèse de Doctorat Université Mohammed V-Agdal Faculté des sciences Rabat.
- **Pasteur L. 1877.** A propos de deux maladies soignées à l'hôpital Saint-Louis pour, pustule maligne .
- **Piemont Y., Rifal S. and Monteil H. 1988.** Les exfoliatines de Staphylococcus aureus. Bull. Inst. Pasteur. 86: 263-296.
- **Pougheon S .et Goursaud J.,2001.** Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G., Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6 (566 p).
- **Qual M. (2009).** Staphylococcus aureus pouvoir pathogène, caractéristiques bactériologiques et résistance : 10-13.
- **Reij, M.W., Van Schothorst, M., 2000.** Critical notes on microbiological risk assessment of food. Brazilian Journal of Microbiology. 31, 01-08.
- **Richard.V.J., 1990.** Production de lait cru de bonne qualité bactériologique. MicrobHyg-alim 2 (1) : 30-33.

- **Rosso L., Lobry J.R., Bajard S., Flandrois J.P. 1995.** Convenient model to describe the combined effects of temperature and pH on microbial growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 610-616.
- **Saidi R.;Khelef D.;Kaidi R. 2010.** Evaluation d'un test de dépistage précoce des mammites subcliniques des vaches. *Revus d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 63(3-4) :57-61.
- **Schlundt, J., 2002.** L'évaluation du risque comme outil de gestion de risque : Le cas des contaminants microbiens. E. Hanak, E. Boutrif, P. Fabre, M. Pineiro, (éditeurs scientifiques), 2002. *Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO, 11-13 décembre 2000, Montpellier, France, CIRAD-FAO Cédérom du CIRAD, Montpellier, France.*
- **Spicer W.J. 2003.** *Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie* Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28-29. 134
- **Sumner, J., Ross, T., Ababouch, L., 2004.** Application of risk assessment in the fish industry. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. ISBN 925-104951-3.
- **Sutra L., Federighi M., Jouve J.L. 1998.** *Manuel de bactériologie alimentaire.* Edition polytechnica. p62.
- **Sutra L., Federighi M., Jouve J.L. 1998.** *Manuel de bactériologie alimentaire.* Edition polytechnica. p62.
- **Syposs, Z., Reichart, O., Meszaros, L., 2004.** Microbiological risk assessment in the beverage industry. *Food control.* xxx, xxx-xxx
- **Thapon J.L., 2005.** *Science et technologie du lait*, Agrocampus-Rennes, France: 14(77 pages).
- **Titouche Y. 2012).** *Hygiène de la traite et contamination microbienne du lait cru au niveau des fermes laitières de la région de Freha (W.Tizi-Ouzou).* Mémoire de Magister en biologie. Université de Djelfa.
- **Tourette I., 2002.** *Etude de l'influence des pratiques de traite et d'élevage sur la qualité sanitaire du lait de chamelle en République Islamique de Mauritanie.* Thèse vétérinaire. N°2000tou3. Toulouse (France). 63p.
- **Vignola C.L., 2002.** *Science et technologie du lait –Transformation du lait*, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).
- **Vimahieu. 2005.** *Composition du lait.* Edition Université libre de Bruxelles.

- **Wadström T. 1983.** Biological effects of cell demmaging toxins. In “staphylococci and staphylococcal in infections” CSF Easmon and C. Adlam (ed), Vol.2, Academic Press, London. 671-704.
- **Westrell, T., 2004.** Microbial risk assessment and its implications for risk management in urban water systems. Edition 1:1. ISBN 91-85295-98-1. Printed by UniTryck, Linköping.
- **WHO, 1995.** Application of risk analysis to food standards issues: Report of the joint FAO/WHO Expert Consultation, WHO/FNU/FOS/95.3.
- **WHO, 2000.** The Interaction between Assessors and Managers of Microbiological Hazards in Food. Report of a WHO Expert Consultation in collaboration with The Institute for Hygiene and Food Safety of the Federal Dairy Research Center the Food and Agriculture Organization of the United Nations and Kiel, Germany 21-23 March 2000.
- **Yabrir B. 2014.** « Etude de la qualité du lait de brebis collecté dans la région de Djelfa : effet des facteurs de production sur ses caractéristiques évolutions au cours de l’entreposage réfrigéré, aptitudes technologique ». Thèse de Doctorat. Université Djelfa. 198 pages.
- **Yabrir B.; Hakem A.; Mostefaoui A.; Laoun A.; Titouche Y.; Labriad M.; Magtouf L.; Mati A .2010.** Qualité microbiologique du lait cru ovin collecte dans la steppe centrale de l’Algérie. Afrique SCIENCE 09 (2)86-92.
- <http://www.meteo.dz/index.php>

ANNEXE

Annexe I :**Questionnaire relatif au consommateur du lait cru de vache.**

1. Vous êtes combien dans la famille ?
2. Quel est le nombre de personnes consommant le lait dans la famille ?
3. L'âge de personnes consommant le lait cru de vache?
Adulte Enfant
4. Quel est la quantité achetée en litre ?
5. Combien de fois achetez-vous le lait par semaine ?

1 fois 2 fois 3 fois Plus
6. Comment transporter le lait acheté ?
Sachet Bouteille Récipient en acier Autres
7. Quel est le nombre de prise par jour ?
1 fois 2 fois 3 fois Plus
8. Quel est le temps d'attente pour la première prise ?

1h 2h 3h Plus
9. Quel est le temps d'attente entre la première et la deuxième prise ?

1h 2h 3h Plus

10. Quel est le temps d'attente entre la deuxième et la troisième prise ?

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
1h	2h	3h	Plus

11. Quel est le lieu de stockage entre l'achat et la première prise ?

<input type="text"/>	<input type="text"/>
Frigo	Cuisine

12. Est-ce que vous chauffez le lait avant sa consommation ?

<input type="text"/>	<input type="text"/>
Oui	Non

13. Si oui, quelle est la température de chauffage ?

<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ébullition	Autres

14. Quel est le temps de chauffage ?

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2 min	5 min	7 min	Plus

15. Est-ce que vous préparez d'autres dérivés du lait à la maison ?

<input type="text"/>	<input type="text"/>
Oui	Non

- Si oui lesquels ?

<input type="text"/>	<input type="text"/>
Fromage	Iben

16. Avez-vous déjà des cas d'intoxications suite à la consommation du lait de vache cru ?

<input type="text"/>	<input type="text"/>
Oui	Non

Annexe II :**Questionnaire relatif au vendeur du lait cru de vache dans la ville de Laghouat**

1. Quel est la quantité achetée par jour ?
2. La quantité vendue par jour ?
3. Le temps d'arrivée du lait au point de vente ?
Matinée Soir
4. Lieu de stockage ?
Bidons en plastique Récipient en acier Autres
5. Le temps nécessaire pour vendre la quantité achetée ?
6. S'il reste une quantité du lait est ce que vous la revendez le lendemain ?

Oui Non
7. Est-ce que la quantité restante est destinée aux autres préparations ?

Lben djben Autres
8. Est-ce que vous faites le control de qualité de routine ?
Oui Non
9. Est-ce que le lait vendu est collecté d'un seul éleveur ?
Un plus

Annexe III : Composition des principaux milieux de culture utilisés.

T.S.E (liquide de dilution) conda pronadisa	
Caséine peptone	1g
Na Cl.....	8,5
Eau	1000 ml
pH : 7	
Milieu Baird Parker : (conda pronadisa)	
Peptone.....	10.0g
Extrait de viande de bœuf.....	4.0g
Extrait de levure.....	2,0 g
Pyruvate de sodium.....	10g
Chlorure de lithium.....	5.0g
Glycolle.....	12g
Agar.....	14g
Eau distillée	1000 ml
Bouillon cœur-cerveille (BHIB)	
Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g
Chlorure de sodium.....	2.0g
Phosphatase di sodique.....	5g
pH= 7.4	
Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min	
Bouillon nutritif	
Tryptone	10,0 g
Extrait de viande.....	5,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.	

Réactifs de la coloration de Gram	
Violet de gentiane	
Phénol.....	2.0 g
Violet de gentiane.....	1.0 g
Éthanol à 90°	10 ml
Eau distillée.....	100 ml
Lugol	
Iodure de potassium.....	2.0 g
Iode métalloïde.....	1.0 g
Eau distillée	300 ml
Fuschine de ziehl	
Fuchine basique.....	1.0g
Phénol.....	5.0 g
Éthanol à 90°	10 ml
Eau distillée	100 ml

Annexe III : Critères microbiologiques relatifs au lait cru et aux produits laitiers

8 JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35		Aouel Safar 1419 27 mai 1998	
ANNEXE I CRITERES MICROBIOLOGIQUES RELATIFS A CERTAINES DENREES ALIMENTAIRES TABLEAU I CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS			
PRODUITS	n	c	m
1. Lait cru :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	10 ⁵
— coliformes fécaux	1	—	10 ³
— streptocoques fécaux	1	—	abs/0,1ml
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	1	—	50
— antibiotiques	1	—	absence
2. Lait pasteurisé conditionné :			
— germes aérobies à 30° C	1	—	3.10 ⁴
— coliformes :			
* sortie usine	1	—	1
* à la vente	1	—	10
— coliformes fécaux			
* sortie usine	1	—	absence
* à la vente	1	—	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	1	—	1
— phosphatase	1	—	négatif
3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	< 10/0,1 ml
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	négatif
— test chaleur	5	0	négatif
4. Lait concentré non sucré :			
— test de stabilité	5	0	négatif
— test alcool	5	0	negatif
— test chaleur	5	0	négatif
5. Lait concentré sucré :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	10 ⁴
— coliformes	5	0	absence
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	0	absence
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
6. Lait déshydraté conditionné (1) :			
— germes aérobies à 30° C	5	2	5.10 ⁴
— coliformes	5	2	5
— <i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	absence
— clostridium sulfito-réducteurs à 46° C	5	0	absence
— levures et moisissures	5	2	50
— <i>Salmonella</i>	5	0	absence
— antibiotiques	1	0	absence

Annexe IV :

a. Préparation d'émulsion de jaune d'œuf (AFNOR, ISO7932 :1993)

Utiliser des œufs frais de poule, à coquille intacte. Nettoyer les œufs avec une brosse, à l'aide d'un détergent liquide. Les rincer à l'eau courante, les plonger dans l'alcool à 95% (v/v) pendant 30 s et les sécher. En opérant de façon aseptique, casser chaque œuf et séparer les jaunes des blancs par transferts répétés du jaune d'une coquille dans l'autre. Placer les jaunes dans une éprouvette stérile et ajouter quatre parties en volume d'eau stérile. Transférer de façon aseptique dans un flacon stérile et mélanger vigoureusement.

Porter le mélange au bain d'eau réglé à 45°C pendant 2h et entreposer entre 0°C et 5°C pendant 18 à 24h pour permettre au précipité de se former.

Recueillir aseptiquement l'émulsion surnageant. L'émulsion peut être conservée entre 0° C et 5°c au maximum pendant 72h.

b. Coloration de Gram

La coloration de Gram est une coloration classique en microbiologie, elle permet de distinguer deux (2) types de bactéries, les bactéries Gram négatives (G-) et les bactéries Gram positives (G+), celles-ci diffèrent de part la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, ou la présence d'une membrane externe (Larpent et Larpent, 1990).

Technique :

- La première étape de la coloration consiste à réaliser une suspension en eau physiologique à partir d'une culture jeune (sur un milieu solide) e prélever un aliquote de suspension à l'anse de platine (ou à la pipette stérile) puis on étale sur 1à 2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame ;
- La seconde étape nécessite le séchage et la fixation par la chaleur (pour tuer les bactéries, fixer leur structure cytoplasmique, et les faire adhérer à la lame) ;
- La troisième étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frotti fixé pendant une minute, après rinçage, on ajoute de Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes ;
- La quatrième étape, à savoir le bain d'alcool 90°, (ne traverser que la paroi de certaines bactéries « les Gram- » et décolorer leur cytoplasme). Puis on rince avec de l'eau distillée ;

- Enfin, quelques gouttes de fuschine de Ziehl sont versées sur la lame qu'on laisse agir une minute. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique.

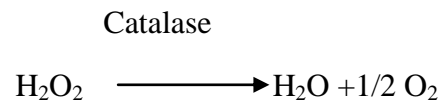
Lecture

Les Staphylocoques se présentent sous forme de cocci Gram+ groupées en grappes.

c. Recherche de la catalase

La catalase (Ferro porphyrine de poids moléculaire élevé) à la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène. C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne (Garnier et Denis, 2007).

La réaction positive se traduit par un dégagement immédiat de bulles d'oxygène, exprime la présence d'une catalase (Marchal et *al.*, 1991).



Technique

- On prend une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à 10 volumes ;
- Y déposer, à l'aide de l'anse de platine ou d'une pipette Pasteur boullée, une colonie isolée de la souche à tester, culture jeune de 24 h ;
- Observer l'apparition de bulles.

RESUME

Résumé :

Le lait est une denrée alimentaire à large consommation, et incriminé dans les toxi-infections alimentaires (20%). *Staphylococcus aureus* contamine souvent le lait issu d'une vache présentant la mammite, également c'est le deuxième agent causal des toxi-infections alimentaires en Algérie. De cet effet, ce travail vise, en premier temps, à rechercher cette bactérie et à évaluer sa prévalence, sa concentration ainsi que sa capacité de croissance et de thermo-résistance dans le lait cru de vache. En deuxième temps, ces données de contamination initiale de lait par ce pathogène ainsi que son comportement « croissance et thermo-résistance » sont compilées avec la consommation du lait cru de vache dans la ville de Laghouat pour évaluer le nombre de personnes exposées à des concentrations toxiques de *Staphylococcus* à coagulase positive (5 log UFC/mL). Les résultats ont montré une faible prévalence de *Staphylococcus* à coagulase positive (12%) avec des concentrations faibles de 3 à 15 UFC/ml. Un isolat sélectionné au hasard a montré une capacité de croissance dans le lait ($\text{lag} = 1,535\text{h}$ et $\mu=0,455\text{h}^{-1}$) et une thermo-résistance de 1,19 minutes à 95°C. Après simulation de Monte Carlo tenant compte le comportement de consommateurs de la ville de Laghouat, les résultats ont montré que *Staphylococcus* à coagulase positive peut se développer et atteindre 5 log UFC/mL au moment de la consommation. En effet, 300 habitants sont exposés à ces concentrations toxiques. Enfin, la prévention contre ce pathogène nécessite la mise en place d'un programme d'action contre les mammites bovines, le maintien du lait à température de réfrigération, ainsi que le strict respect des règles d'hygiène lors des manipulations à la ferme et à la laiterie afin de limiter le nombre de *S. aureus* présentes dans le lait.

Mots-Clés : lait cru de vache, *Staphylococcus* à coagulase positive, évaluation du risque microbiologique, intoxication alimentaire, sécurité alimentaire.

ملخص.

الحليب هو سلعة واسعة الاستهلاك ويتسبب في التسمم الغذائي بما نسبته (20%). وكذلك المكورات العنقودية الذهبية في كثير من الأحيان تلوث الحليب الناتج من بقرة ملتهبة الضرع، كما هو العامل المسبب الثاني من الأمراض المنقولة بالأغذية في الجزائر. من هذا، فإن الهدف من العمل، أولاً، الحصول على هذه البكتيريا وتقييم مدى انتشارها ومستوى تلوثها لحليب البقر الخام، والقدرة على النمو والمقاومة الحرارية.

وثانياً، اعتماداً على بيانات التلوث الأولي لحليب البقر الخام و مدى استهلاكه في مدينة الأغواط، يتم تجميع هذه البيانات لتقييم عدد الأشخاص المعرضين لتركيزات سامة من المكورات العنقودية المخثرة إيجابياً (5 log UFC/mL). أظهرت النتائج انخفاض معدل انتشار المكورات المخثرة إيجابياً (12%) مع تركيزات منخفضة من 3-15 UFC/mL. وأظهرت عزلة تم اختيارها عشوائياً القدرة على النمو في الحليب ($\text{lag} = 1,535\text{h}$ $\mu=0,455\text{h}^{-1}$)، والمقاومة الحرارية من 1.19 دقيقة في 95 درجة مئوية. أخيراً الوقاية ضد الأمراض المنقولة بالأغذية المكورات العنقودية سيعقد قبل تنفيذ برنامج عمل ضد التهاب الضرع في الأبقار، والحفاظ على درجة حرارة الحليب التبريد، فضلاً عن الامتنال الصارم لقواعد النظافة من أجل الحد من عدد *S. aureus* الذهبية في الحليب.

الكلمات المفتاحية : حليب البقر الخام، المكورات العنقودية المخثرة إيجابي، وتقييم المخاطر الميكروبيولوجية، والتسمم الغذائي، والأمن الغذائي.

Abstract

Milk is a widely consumed food that incriminated in food poisoning (food-borne illness) (20%). *Staphylococcus aureus* often contaminates milk from a cow with mastitis, and is also the second causal agent of food-borne illness in Algeria. The aim of this work is to research this bacterium, and to evaluate its prevalence, its concentration and its capacity for growth and heat resistance in raw cow's milk. Secondly, these data of initial contamination of milk by this pathogen as well as its «growth and heat resistance» behavior are compiled with the consumption of raw cow's milk in Laghouat to evaluate the number of people exposed to toxic concentrations of coagulase-positive *Staphylococcus*. The results showed a low prevalence of coagulase-positive *Staphylococcus* (12%) with low concentrations of 3 to 15 CFU / ml. A randomly selected isolate showed a growth capacity in milk ($\text{lag} = 1.535\text{h}$ and $\mu = 0.455\text{h}^{-1}$) and a heat resistance of 1.19 minutes at 95 ° C. After simulation of Monte Carlo taking into account the behavior of consumers of the city of Laghouat, the results showed that positive coagulase *Staphylococcus* can develop and reach 5 logUFC / mL at the time of consumption of raw cow's milk. Indeed, 300 inhabitants are exposed to these toxic concentrations. Lastly, prevention of staphylococcal poisoning (food borne illnesses)will take place through the setting up of a program of action against bovine mastitis, keeping milk at refrigeration temperature and strict observance of hygiene rules when On-farm and dairy handling to limit the number of *Staphylococcus aureus* in milk.

Keywords: raw cow's milk, positive coagulase *Staphylococcus*, microbiological risk assessment, food poisoning, food safety.