
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Institut des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie

Option : Microbiologie appliquée

Présenté par :

Melle BELAHCENE Imane & Mlle BENFREHA Rahma

Evaluation quantitative de l'exposition au *Staphylococcus aureus* lié à la
consommation de lait de vache dans la ville d'Ain El Arbaa
- Ain Témouchent.-

Encadrant : Dr. Mohammed ZIANE

Maîtres de conférences "A" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu en 2018

Devant le jury composé de :

Président : Pr BELLAHCENE M	Professeur	C.U.B.B.A.T.
Examineurs : Dr. BOUAMRA M	M.C.B	C.U.B.B.A.T.
Encadrant : Dr. M. ZIANE M	M.C.A	C.U.B.B.A.T.

Tableau des matières

Remerciements	i
Dédicaces	ii
Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste d'abréviations	III
Introduction	1
<u>Partie I</u>	
Synthèse bibliographique	
I. 1. Généralité sur le lait	3
I. 1. 2. Composition du lait	3
I. 1. 2. 1. Eau	4
I. 1. 2. 2. Glucides	4
I. 1. 2. 3. lipides	4
I. 1. 2. 4. Protéines	5
I. 1. 2. 5. Minéraux	6
I. 1. 2. 6. Enzymes	7
I. 1. 2. 7. Vitamines	7
I. 1. 3. Microbiologie de lait cru	7
I. 1. 4. 1. Flore indigène ou originelle	8
I. 1. 4. 2. Flore de contamination	8
I. 2. Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i>	9
I. 2. 1. Historique de <i>Staphylococcus aureus</i>	9
I. 2. 2. Classification et taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i>	10
I. 2. 3. Habitat de <i>Staphylococcus aureus</i>	12
I. 2. 4. Description générale du <i>Staphylococcus aureus</i>	12
I. 2. 4.1. Caractères morphologiques	12
I. 2. 4. 2. Caractères cultureux	13
I. 2. 4. 3. Caractères biochimiques	14
I. 2. 5. Pouvoir pathogène de <i>Staphylococcus aureus</i>	15
I. 2. 6. Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	15

I. 2. 7. Manifestations digestives : Toxi-infections alimentaires	16
I. 2. 8. Gestion des toxi-infections alimentaires	16
<u>Partie II</u>	
Matériel et méthodes	
II. 1. Présentation de la région d'étude	18
II. 2. Choix des scénarios et la récolte de données de consommation du lait	19
II. 3. Caractéristique du scénario de consommation du lait	19
II. 4. Méthodologies de l'évaluation de l'exposition	20
II. 4. 1. Module H ₀ : Contamination initiale H ₀	21
II. 4. 1. 1. Récolte de données de contamination par SCP	21
II. 4. 1. 1. 1. Prélèvement des échantillons du lait	21
II. 4. 1. 1. 2. Préparation des échantillons et les dilutions	21
II. 4. 1. 1. 3. Recherche de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	22
II. 4. 1. 1. 4. Dénombrement des <i>Staphylococcus</i> coagulase positive	22
II. 4. 1. 1. 5. Purification sur la gélose nutritive	22
II. 4. 1. 1. 6. Vérification de la pureté et de l'authenticité	23
II. 4. 1. 1. 7. Conservation des isolats	24
II. 4. 1. 2. Distribution de concentration dans le lait consommé dans la ville d'Ain El Arbaa	24
II. 4. 2. Module G : Croissance de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive dans le lait	24
II. 4. 2. 1. Estimation de paramètres de croissance de <i>S. aureus</i>	24
II.4.2.2. Estimation de paramètre de croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> à différentes températures de stockage	25
II.4.2.3. Estimation de concentration de <i>S. aureus</i> à différentes conditions de stockage	26
II. 4. 3. Module 3 : Destruction de <i>Staphylococcus aureus</i>	27
II.4.3.1. Estimation de paramètre de nombre de réduction décimale de <i>S. aureus</i> durant les traitements thermiques	27
II. 4. 3. 2. Estimation de concentrations de <i>S. aureus</i> après le traitement thermique	27
II. 4. 4. Estimation de concentrations de <i>Staphylococcus aureus</i> à chaque prise	27
II. 4. 5. Estimation de nombre de personnes ingérant une [<i>S. aureus</i>]	28

<u>Partie III</u>	
Résultats et Discussions	
III. 1. Résultats de la recherche de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive	29
II. 2. Prévalence et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	31
III. 3. Prévalence et concentration de <i>S. aureus</i> dans le lait consommé à la ville d'Ain Arbaa	32
III. 4. Concentration de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le lait au moment de la consommation	33
III. 4. 1. Estimation de croissance durant le module G	33
III. 4. 1. 1. Estimation de paramètres de croissance de <i>S. aureus</i>	33
III. 4. 1. 1. Concentration de <i>S. aureus</i> après le transport de la ferme au ménage	35
III. 4. 2. Estimation de concentration de <i>S. aureus</i> durant la première prise	36
III. 4. 2. 1. Concentration de <i>S. aureus</i> après le traitement thermique	36
III. 4. 2. 1. 1. Estimation de paramètres de thermorésistance	36
III. 4. 2. 1. 2. Concentration de <i>S. aureus</i> en ufc/mL	38
III. 4. 2. 2. Concentration de <i>S. aureus</i> durant le stockage avant première prise	39
III. 4. 3. Estimation de personnes exposées à des personnes exposées $\geq 5 \log$	40
Conclusion	42
Références bibliographiques	44
Annexes	

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

*En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur Dr : **ZIANE Mohammed**, Maître de conférences classe A, au centre universitaire d'Ain Témouchent, pour l'orientation, la confiance, la patience, et ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail. Qui a constitué un apport considérable sans lui ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.*

*Nos vifs remerciements vont également au Pr. **BELAHCENE Miloud**, Professeur des universités et Dr **BOUAMRA Mohammed**, Maître de conférences classe B, au centre universitaire de Ain Témouchent pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.*

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à nos parents et nos frères et sœurs, pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Nos remerciements s'étendent également à tous les professeurs qui nous ont enseigné durant les années des études et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

*Nous souhaitant adresser également nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide (Monsieur **BOUAMRA Mohammed**, Madame **BENFREHA khira**, Madame **Nafisa**)*

Nous adressons aussi nos plus sincères remerciements à nos familles et nos amis, qui nous ont toujours encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

Nous remercions aussi à nos collègues de promo Master 2 microbiologie appliquée.

On n'oublie pas l'ensemble des techniciens du laboratoire de faculté Science de la Nature et de la Vie de centre universitaire d'Ain t'émouchent.

Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Mlle Benfreha & Mlle Belahcene

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à la mémoire de ma grande mère qui aurait été fière de ma réussite.

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes frères HAKIM, GHALEM et MOUHAMED et ma sœur CHOÛRA Qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

*A toute ma famille, (surtout à mon oncles **Mohammed** et sa femme **férouse**, Mes tantes, cousins et cousines) pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,*

Sans oublier surtout mon encadreur.

A mon binôme IMANE et toute la famille BELLAHCENE.

Un merci particulier à mes amis SABRINE, SOUMIA, IKRAMÉ et BOUCHRA qui sont toujours là dans le meilleur et le pire.

A tous mes collègues de la promotion master 2 microbiologie appliquée (2017/2018).

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

Je vous dis merci.

Rahma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A Mes très chers, respectueux et magnifiques parents

Aucune dédicace n'exprime mon respect, ma profonde gratitude et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être, merci mes parents. Je vous aime.

*A mon chère frère : **Mohamed Amine***

*A mes chères sœurs : **Chaima ; Mariem***

A toute ma famille, et mes amis, chacun par son nom

*A mon encadreur **Dr. Ziane** qui mérite tous mon respect et tribut.*

A mon binôme Rahma et toute la famille Benfreha.

Et tous mes enseignant, je leurs exprime ma profonde gratitude.

A mes collègues de la promotion Master 2 microbiologies Appliquer 2018

On tient à remercier tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je vous dis merci. !!

Imane

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre	4
Tableau 02	Composition en lipides des laits de différentes espèces animales	5
Tableau 03	Constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/L).	6
Tableau 04	Flore originelle du lait cru	8
Tableau 05	Microorganismes contaminants du lait de vache et leurs origines	9
Tableau 06	Classification hiérarchique du Phylum XIII (Firmicutes) basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN/ARN 16S	11
Tableau 07	Caractères distinctifs de <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Tableau 08	Toxines impliquées dans la virulence de <i>S. aureus</i>	15
Tableau 09	Températures moyennes mensuelle de la ville de Ain El Abraa durant Janvier 2018 au mois de Décembre 2018.	19
Tableau 10	Description des principales étapes de la mise en consommation de la mayonnaise (préparation, stockage et consommation) et les effets de condition de la consommation sur le niveau de contamination en SCP.	21
Tableau 11	Variables, distributions et modèles utilisés au Module H ₀ .	24
Tableau 12	Équation utilisé pour estimer les paramètres de croissance de <i>S. aureus</i> à différentes températures de stockage.	26
Tableau 13	Méthodologie de l'estimation des concentrations au long de la consommation de lait.	28
Tableau 14	Paramètres de croissance à différentes températures de stockage (ambiante et réfrigération), résultats d'une simulation.	34
Tableau 15	Concentrations de <i>S. aureus</i> à différents temps de transport par mois de Janvier 2018	35
Tableau 16	Estimation de nombre de réduction décimale à différentes températures de chauffage du lait.	37
Tableau 17	Estimation de concentrations de [<i>S. aureus</i>] à différents temps de stockage	39
Tableau 18	Résultat global de l'estimation de nombre de personnes ingérant	40

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Représentation de la micelle de caséine avec sous-unités selon le modèle de Bylund (1995)	11
Figure 02	Aspect morphologique de cellules de <i>S. aureus</i> . a) observée au microscope électronique ; b) Micrographie optique de <i>S. aureus</i> suite à une coloration de Gram	13
Figure 03	Situation géographique d'Ain El Arbaa	18
Figure 04	Centrifugation de tube EDTA rempli de sang de lapin (le surnageant représente le plasma de lapin) (Réalisé dans cette étude).	23
Figure 05	Aspects des colonies de <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive sur Baird Parker. Boîte laquelle, l'isolat Lc1 était obtenu (Echantillons E1).	29
Figure 06	Images d'isolat Lc1 après la coloration de Gram sous microscope GX100.	30
Figure 07	Résultats du test de coagulase positive (coagulase libre). a): test de coagulase positive ; b) : Témoins milieu stérile + Plasma de lapin.	30
Figure 08	Aspect des colonies de l'isolat Lc1 sur milieu Chapman.	30
Figure 09	Distribution cumulée de dénombrement de SCP dans les échantillons du lait dans la ville d'Ain El arbaa, Ain Témouchent.	31
Figure 10	Distribution de probabilité de concentration de SCP dans les portions de Le lait consommé dans la ville d'Ain El Arbaa.	32
Figure 11	Cinétique de croissance de l'isolat Lc1 inoculé dans le lait stérilisé et incubé à 37°C.	34
Figure 12	Distribution cumulée de [<i>S. aureus</i>] ufc/L après stockage durant le mois de Janvier.	36
Figure 13	Distribution de probabilité des nombres de réduction décimale à différentes températures de traitement 50°C, 70°C et 100°C.	37
Figure 14	Distribution des temps de chauffage chez les consommateurs à différentes températures (50°C, 70°C et 100°C).	38
Figure 15	Distribution de concentration de <i>S. aureus</i> (ufc/mL) après les traitements thermiques	39

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
ISO	International organisation for standardisation
NA	Norme Algérienne
h	Heur
L	Litre
cm	Centimètre
TIA	Toxi-infections alimentaires
TSE	Tryptone sel Eau
UFC	Unité Formant Colonie
μ	Taux de croissance
ml	Millilitre
Max	Maximale
Min	Minimale
Kg	Kilo gramme
EQRM	Évaluation Quantitative du Risque Microbiologique
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
<i>S. aureus</i>	<i>staphylococcus aureus</i>
SCP	<i>Staphylococcus</i> coagulase positive
JORA	Journal Officiel République Algérienne
MG	Matière Grasse
MAT	Matières Azotées Totales
%	Pour cent
C°	Degré Celsius
BP	Baird-Parker
BN	Bouillon nutritive
GN	Gélose nutritive
BHI	BHI (bouillon cœur-cervelle)
PH	Potentiel d'hydrogène
Subsp	Sous-espèce

INTRODUCTION

Introduction

Le lait est une source importante de protéine animale grâce à sa valeur nutritive, à sa substitution aux viandes relativement chères (El Hassani, 2013). A cet effet, il constitue une place importante dans la consommation quotidienne qui fournit à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet (Larpent, 1997), du fait également de leur teneur élevée en calcium et de vitamines (Vignola, 2002).

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de trois milliards de litres par an (Kirat, 2007), et l'un des plus grands consommateurs de lait en Afrique avec une moyenne annuelle de 110 à 115 litre par habitant (Kabir, 2015) qui pousse l'état à encourager l'élevage bovin pour assurer l'autosuffisance en matière du lait.

A partir d'un animal sain et à la sortie du pis, le lait contient peu de microorganismes (moins de 10^3 germes /ml), lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions (Vignola, 2002). Cependant, à partir d'un animal atteint de mammite, le lait peut contenir plusieurs microorganismes peuvent être pathogène pour l'homme à savoir notamment *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). Par ailleurs, ces microorganismes peuvent être apportés également par les équipements de traite et/ou bien suite à non respect de bonne pratique de traite.

En Algérie, *Staphylococcus aureus* est considéré comme le deuxième agent de TIA 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 infecte la mamelle des vaches laitières en production (Asperger et Zangerl, 2011). Entre outre, le lait et les produits laitiers (20%) 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 surtout 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 (à cause par exemple automédication). À cet effet, probablement le nombre de cas des intoxications notamment à *Staphylococcus aureus* reste sous-estimé malgré les efforts faits par les autorités compétentes et l'interdiction de vente de lait cru dans la wilaya d'Ain Témouchent.

Dans ce contexte, nous tenterons de prédire le nombre de personnes ingérant des concentrations toxiques ($\geq 5 \log$) de *Staphylococcus* à coagulase positive dans la ville d'Ain El Arbaa. L'ensemble d'espèces de *Staphylococcus* à coagulase positive sont pathogènes (Hanselman et *al.*, 2009).

Pour atteindre notre objectif, nous avons partagé notre travail en trois parties, la première partie expose des généralités sur le lait et *S. aureus*, la Deuxième partie consiste à décrire la méthodologie suivie pour atteindre nos objectifs et la troisième partie illustre les résultats obtenus et leur discussion.

Partie I

Synthèse bibliographique

I. 1. Généralité sur le lait

Le lait est un liquide physiologique complexe sécrété dans les glandes mammaires des mammifères, le lait est un aliment complet destiné à fournir au nouveau-né les éléments énergétiques, structuraux, immunologiques, etc (Jeantet et *al.*, 2006). C'est un produit hautement nutritif pour l'alimentation humaine car il contient de nombreux éléments importants, notamment des protéines, des vitamines et des minéraux (Seme et *al.*, 2015).

Selon le congrès international de la répression et des fraudes (1909), « Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (Joffin, 2010).

Par ailleurs, selon la réglementation Algérienne (J.O.R.A., 1993), la dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été subit à un traitement thermique.

Le terme "Lait" sans désignation de l'origine animale, désigne le lait de vache.

I. 1. 2. Composition du lait

Le lait est un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée d'un pH (6,6 à 6,8) légèrement acide, proche de la neutralité (Bitman et *al.*, 1996).

La composition du lait est proche du plasma sanguin. Il comporte :

- De l'eau, très majoritaire.
- Des glucides, principalement représentés par le lactose.
- Des lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras.
- Des protéines : caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles.
- Des sels et minéraux à l'état ionique et moléculaires.

Des éléments à l'état de traces mais au rôle biologique important : enzymes, vitamines, oligoéléments ...etc. (Pougheon et Goursaud, 2001).

Comme montre le tableau 1, la composition chimique du lait varie sous l'effet des facteurs liés à l'animal (stade physiologique, race, niveau génétique...etc.). Elle est également dépend de l'état sanitaire, traite, saison, alimentation...etc. (Fernane, 2017).

Tableau 1 : Composition moyenne en % des laits de vache, femme, brebis et chèvre (Jensen, 1995)

Composants	Vache	Brebis	Chèvre	Femme
Protéines	3,4	2,9	5,5	1,0
Caséines	2,8	2,5	4,6	0,4
Lipides	3,7	4,5	7,4	3,8
Lactose	4,6	4,1	4,8	7,0
Minéraux	0,7	0,8	1,0	0,2

I. 1. 2. 1. Eau

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. Elle est dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (Mathieu, 1998). Son caractère dipolaire, 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 de sérum (Amiot et *al.*, 2002).

I. 1. 2. 2. Glucides

D'après Mathieu (1999), le lait contient des glucides essentiellement représentés par un disaccharide : lactose (galactose et glucose), son constituant le plus abondant après l'eau. Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin (Hoden et Coulon, 1991). Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache (Hoden et Coulon, 1991).

I. 1. 2. 3. Lipides

La matière grasse du lait se composent principalement de triglycérides, phospholipides et une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de β -carotène (FILQ, 2002) (Tableau 2).

Tableau 2: Composition en lipides des laits de différentes espèces animales (Chilliard, 1987).

Composition (%)	Vache	Chèvre	Humain
Triglycérides	98	95	97
Glycérides partielles	0.5	3	1
Cholestérol	0.3	0.4	0.6
Phospholipides	0.9	1	1.1
Acides gras libres	0.4	0.6	0.5

I. 1. 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 (Lankveld, 1995).

Les caséines représentent la fraction protéique la plus abondante (80%) dans le lait, sont des protéines susceptibles de coaguler en milieu acide ou sous l'action de la présure. La caséine se présente sous forme de molécules agrégées liées à du phosphate de calcium, les micelles (Figure1) (Fernane, 2017).

Par ailleurs, les autres protéines du lait représentent 20% des protéines totales (Jeantet et *al.*, 2007). Elles sont surtout la lactalbumine et la lactoglobuline protéines solubles de haute valeur nutritive (Fernane, 2017).

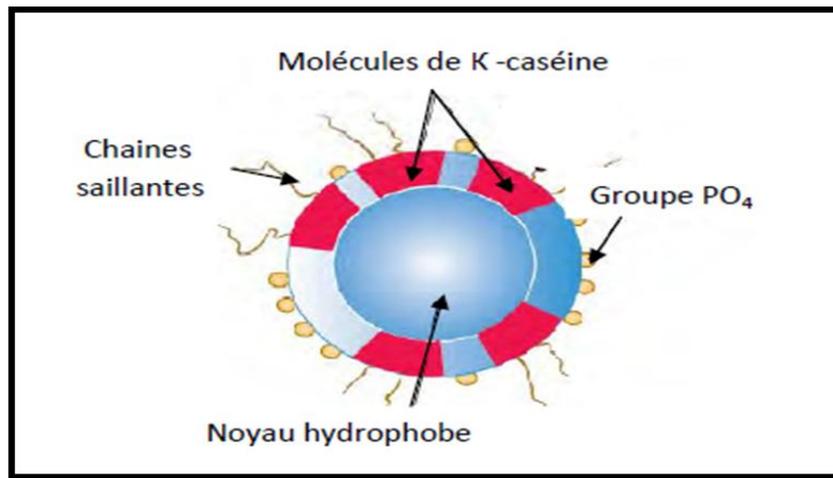


Figure 1 : Représentation de la micelle de caséine avec sous-unités selon le modèle de Bylund (1995).

I. 1. 2. 5. Minéraux

Les minéraux (ou matières salines) sont présents dans le lait à une concentration de 7g/litre environ (Tableau 3) avec une forte quantité de calcium, de phosphore, de potassium et de chlore. Ils sont retrouvés soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Par ailleurs, certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Cependant, les autres (calcium, phosphore, magnésium et soufre) existent dans les deux fractions (Leymarios, 2010).

Tableau 3 : Constituants majeurs des matières salines du lait de vache (g/L) (FAO, 1998).

Minéraux : totaux (g/L)	7
Calcium (g)	1,25
Phosphore (g)	1,00
Magnésium (g)	0,12
Sodium (g)	0,50
Potassium (g)	1,25
Chlore (g)	1,00
Autres (soufre, citrate...)	1,8

I. 1. 2. 6. Enzymes

Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques (Pougeon, 2001).

Elles sont présentes dans les différentes fractions du lait (micelles de caséines, membrane des globules de matière grasse, leucocytes, plasma, sérum...). Les différentes classes enzymatiques rencontrées sont des hydrolases (Amylases, lipases, estérases, protéinases, phosphatases), des inhibiteurs de protéinases, des enzymes d'oxydo-réduction (aldéhyde deshydrogénase, lactoperoxydase et catalase) (Lafitedupont, 2011).

I. 1. 2. 7. 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.

Deux grandes catégories des vitamines sont rencontrées dans le lait :

- les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait ;
- les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (Debry, 2001).

I. 1. 3. Microbiologie de lait cru

Le lait est à la fois un aliment traditionnel et une boisson d'un grand intérêt nutritionnel, car il représente un aliment de base presque complet (Ghazi et Niar, 2011). Sa composition, ses propriétés physico-chimiques font un milieu favorable au développement d'une multitude de bactéries de contamination ; capables d'utiliser ses protéines, lipides, glucides et vitamines pour leur croissance (Fernane, 2017). Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées «Lacténines» mais leur action est de très courte durée (1 heure environ) (Guiraud, 1998).

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (Agabriel et *al.*, 1995), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (Robinson, 2002).

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contaminante. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (Vignola, 2002).

I. 1. 4. 1. Flore indigène ou originelle

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Le lait contient peu de Microorganismes, lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes /ml) (Vignola, 2002). Les genres dominants sont essentiellement des mésophiles notamment de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles (Larpen, 1997).

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (Guiraud, 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (Varnam et Sutherland, 2001). Le tableau n°4 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau 4 : Flore originelle du lait cru (Vignola, 2002).

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

I. 1. 4. 2. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminants le lait, de la ferme à la table. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002). Le tableau 5 illustre l'ensemble des microorganismes de contamination.

Tableau 5 : Microorganismes contaminants du lait de vache et leurs origines (Vignola, 2002).

Origines	Microorganismes
Canaux galactophores	Lactobacilles Streptocoques lactiques
Equipements	<i>Pseudomonas</i> <i>Flavobacterium</i> Entérobactéries <i>Microcoque</i> <i>Corynébactéries</i> <i>Bacillus</i> <i>Sterptococcus faecalis</i>
Origine fécale	<i>Clostridium</i> <i>Coliformes fécaux</i> <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i> <i>Campylobacter</i>
Animal malade	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Brucella</i> <i>Listeria</i>

En Algérie, *Staphylococcus aureus* est le micro-organisme à coagulase positive le plus commun incriminé dans l'empoisonnement alimentaire staphylococcique parce qu'il est considéré comme un contaminant principal du lait cru (Mansour et *al.*, 2017).

I. 2. Généralités sur *Staphylococcus aureus*

I. 2. 1. Historique de *Staphylococcus aureus*

Les premières descriptions des cellules de staphylocoques isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871 mais ce n'est que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom à la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine (Fasquelle, 1974 ; Spicer, 2003).

En 1882, 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*). (Eykin, 1996).

Enfin, en 1884, en Allemagne, Rodenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en cultivant les bactéries sur milieu solide. Il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies (Hennekinne, 2009).

I. 2. 2. Classification et taxonomie de *Staphylococcus aureus*

Initialement, les staphylocoques furent classés au sein du genre *Micrococcus*. Dans les années 1900, les premières classifications bactériennes officielles distinguèrent les genres *Staphylococcus* et *Micrococcus* tout en les regroupant au sein de la famille des *Micrococcaceae*. Plus récemment, les données de phylogénie moléculaire associées à des analyses chimiques de ces deux genres ont conduit à la création de la famille des *Staphylococcaceae* à laquelle appartient *S. aureus* (Accarias, 2014).

Selon la classification de Garrity et al. (2007) ; Le genre *Staphylococcus* appartient au phylum des *Firmicutes* 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 4ème famille des *Bacillales*, celle ci comprend un seul genre: *Staphylococcus* (GC% 30-39%) (Tableau 6).

Le genre *Staphylococcus* est proche des genres *Listeria* et *Bacillus* (Garrity et al. 2002).

Tableau 6 : Classification hiérarchique du Phylum XIII (Firmicutes) basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN/ARN 16S (Garrity et al. 2007).

<p>Phylum XIII: Firmicutes</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><ul style="list-style-type: none">✚ Ordre I : <i>Bacillales</i><ul style="list-style-type: none">• Famille I : <i>Bacillaceae</i><ul style="list-style-type: none">▪ Genre : <i>Bacillus</i>• Famille II : <i>Planococcaceae</i><ul style="list-style-type: none">▪ Genre : <i>Planococcus</i>• Famille III : <i>Listeriaceae</i><ul style="list-style-type: none">▪ Genre : <i>Listeria</i>• Famille IV : <i>Staphylococcaceae</i><ul style="list-style-type: none">▪ 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).

A ce jour, cinquante espèces et sous-espèces ont été identifiées au sein du genre *Staphylococcus*. Les espèces sont généralement classées en deux groupes sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre : les staphylocoques à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme les plus pathogènes et les staphylocoques à coagulase négative (SCN) (Hennekinne, 2009).

I. 2. 3. Habitat de *Staphylococcus aureus*

Il s'agit de germes ubiquitaires, les staphylocoques sont des bactéries commensales de la Peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (Nagase et *al.*, 2002; Quinn et *al.*, 2011).

Les souches de *S. Aureus* sont présentes également sur les membranes muqueuses du tractus respiratoire ainsi que le tractus urogénital et comme flore transitoire dans le tractus digestif (Quinn et *al.*, 2011).

Ils sont largement disséminés dans l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air), de l'environnement domestique de l'Homme (cuisine, réfrigérateur), de l'environnement hospitalier et des ateliers de préparation alimentaires et à partir de denrées alimentaires, la présence de ce germe dans l'environnement est vrai semblablement due à une contamination par l'Homme ou les animaux (Bergdoll, 1979).

I. 2. 4. Description générale du *Staphylococcus aureus*

S. aureus est le plus pathogène des staphylocoques et le plus fréquemment isolé lors de toxi-infections alimentaires. Il joue donc un rôle majeur en termes de sécurité des aliments (Dematos, 2013).

I. 2. 4.1. Caractères morphologiques

S. aureus est une coque à Gram positif, immobiles, non sporulés, d'environ 0,7 à 1,2 micromètre de diamètre qui se trouve seul, en paires ou en grappe dans divers milieux liquides et solides (Figure 2a). Cette bactérie aérobie ou anaérobie facultative a une température optimale de croissance de 37 °C lui conférant le caractère de mésophile (El hadad, 2014).

La plupart des souches de *S. aureus* élaborent un pigment qui donne une couleur jaune-orangé aux colonies, d'où le nom de Staphylocoque doré. Après coloration de Gram, les staphylocoques apparaissent sous forme de cocci à Gram positif en amas (Figure 2b) (Davido, 2010).

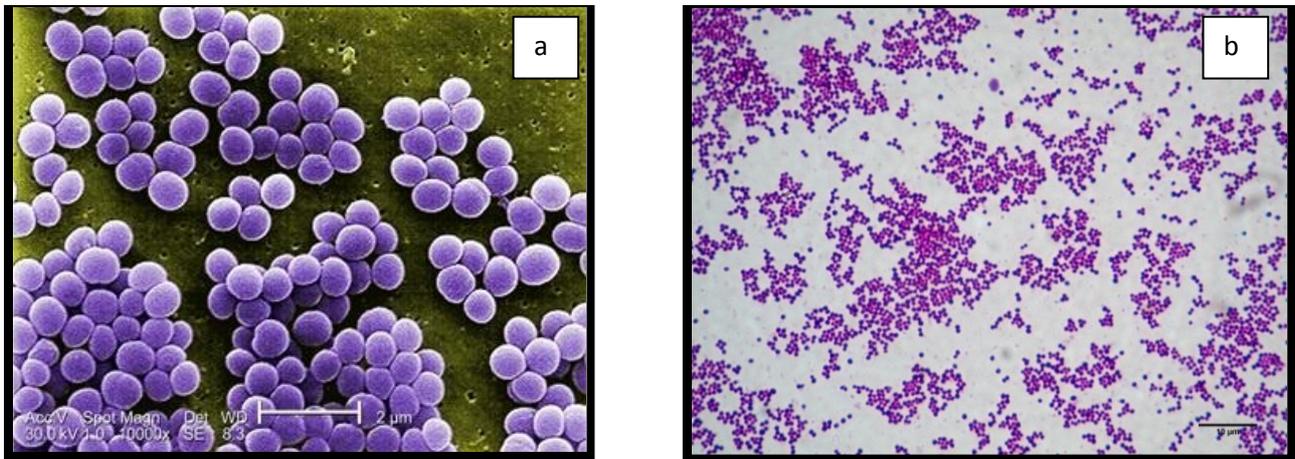


Figure 2: Aspect morphologique de cellules de *S. aureus*. a) observée au microscope électronique (Leyral et Vierling, 2007) ; b) Micrographie optique de *S. aureus* suite à une coloration de Gram (Anonyme, 2013).

I. 2. 4. 2. Caractères culturels

Les staphylocoques sont peu exigeants sur le plan nutritif, aéro- anaérobies facultatifs c'est-à dire qu'ils sont capables de se développer à la surface de la peau, en aérobiose et aussi dans les tissus mal oxygénés. 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).

La température et le pH optimale de croissance est de 37°C et 7.5 respectivement, mais de grandes variations sont tolérées respectivement de 10 à 45 °C et de 5,6 à 8,1 (Couture ,1990).

En général, ils exigent une source organique d'azote, fournie par 5 à 12 acides aminés, par ex. l'arginine, la valine et les vitamines B, y compris la thiamine et le nicotinamide (Kloos et Schleifer, 1986; Wilkinson, 1997). Staphylocoques sont tolérants aux fortes concentrations de sel (Wilkinson, 1997) et montrent une résistance à la chaleur (Kloos et Lambe ,1991).

En milieu liquide, la culture est rapide, en quelques heures qui donne un trouble homogène puis un dépôt est formé, il n'y a pas de production de pigment en milieu liquide (Ananthanarayan et Paniker, 2006).

Sur milieux solides, les colonies observées après 24 heures d'incubation sur gélose ordinaire sont larges (2-4 mm de diamètre) circulaires, légèrement bombées lisses, luisantes. Par ailleurs, la pigmentation des colonies peut varier du blanc au jaune ou jaune orangé (Flandrois, 1997 ; Ananthanarayan et Paniker, 2006 ; Denis et poly, 2007).

I. 2. 4. 3. Caractères biochimiques

La recherche des activités biochimiques des staphylocoques est précieuse :

- pour identifier le genre *Staphylococcus* ;
- pour distinguer un Staphylocoque pathogène d'un non pathogène ;
- pour préciser l'origine humaine ou animale d'un Staphylocoque.

Toutes les souches du genre *Staphylococcus* produisent une catalase, permettant ainsi de les distinguer des souches du genre *Streptococcus* qui n'en produisent pas (Le Minor et Veron, 1990).

S. aureus possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques (Ferron, 1984).

Les *S. aureus* sont: indole -, acétone +, uréase +, VP +, MR +, 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 Verron, 1990, Freney *et al* ,1999).

La plupart des souches sont lipolytiques produisant une zone opaque lorsqu'elles sont cultivées dans des milieux contenant le jaune d'œuf (Ananthanarayan et Paniker, 2006).

Globalement, l'espèce *S. aureus* peut être différenciée des autres staphylocoques par la présence simultanée d'une coagulase libre et d'une DNase thermostable (Tableau 7) (Couture, 1990 ; Fauchere et Avril, 2002).

Tableau 7: 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

I. 2. 5. Pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus*

On peut classer les infections à staphylocoques dorés en deux groupes :

- les infections suppuratives qui dépendent de la prolifération du germe, le staphylocoque est présent dans le site infectieux et le patient guérit de l'infection après élimination de la bactérie ;
- les infections dites toxiques où une toxine sécrétée par le staphylocoque est responsable des symptômes (Corne, 2004).

I. 2. 6. Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*

Pratiquement toutes les souches de *Staphylococcus aureus* expriment de nombreux facteurs de virulence potentiels qui contribuent à la pathogénicité du germe (facteurs d'adhésion, toxines, enzymes) et exerce son pouvoir pathogène par la libération d'une ou de plusieurs toxines, parmi les toxines, les enterotoxines libérées par la bactérie sont responsables de toxi-infection alimentaires (Tableau 8) (Coudrec, 2015).

Tableau 8: Toxines impliquées dans la virulence de *S. aureus* (Vincenot et al., 2008).

famille	Principales toxines	Mécanismes d'action ou syndromes toxiques spécifiques
Toxines superantigéniques	Toxine du choc toxique staphylococcique Entérotoxines A à E, G, I à U	Choc toxique staphylococcique par activation du système immunitaire et libération de cytokines de l'inflammation Réaction auto-immune (maladie de Kawasaki, dermatite atopique, psoriasis, arthrites rhumatismales) Intoxication alimentaires
Toxines formant des pores	Toxines à hélice alpha Alpha-hémolysine Gamma-hémolysine Leucocidine de panton-Valentine	Destruction des cellules de défense de l'hôte par formation de pores au niveau des membranes cellulaires
Toxines à activité protéolytique	Exfoliatines	Syndrome d'exfoliation généralisé(ou syndrome staphylococcique de la peau ébouillantée) Impétigo bulleux staphylococcique

I. 2. 7. 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 secrétées dans l'aliment, résistantes aux sucs digestifs et pour certaines à la chaleur (Angandza, 2012).

Les toxi-infections alimentaires à staphylocoques sont caractérisées par des vomissements violents et répétitifs survenant 30 minutes à 8 heures après l'ingestion. La maladie est de courte durée mais très éprouvante et spectaculaire. Elle est bénigne chez l'adulte en bonne santé mais peut être plus grave chez le jeune enfant et les personnes âgées (Brisabois, 2016).

I. 2. 8. Gestion des toxi-infections alimentaires

La nouvelle approche de gestion de risque de toxi-infections alimentaires est basée sur l'analyse du risque microbiologique dans les aliments dont l'étape clé est l'évaluation de l'exposition.

L'évaluation du risque est une technique qui est utilisée pour estimer la probabilité d'occurrence d'un danger et la sévérité de l'effet adverse. L'ensemble est fondé sur une base de données scientifique collectée à tous les niveaux du processus de la production à la consommation du produit. A partir d'une modélisation mathématique, elle définit le (s) paramètre (s) et le (s) niveau (x) d'interventions que l'on pourra moduler pour minimiser ou éliminer un microorganisme.

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).

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).

Selon Lammerding (1997). 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. L'approche quantitative permet de traduire des données et des informations quantitatives et de les incorporer

dans un système d'équations mathématiques, constituant un modèle, qui mettent en relation les éléments contribuant au risque. Dans le cadre d'une appréciation du risque, qui requiert de la transparence, l'approche quantitative est adéquate puisqu'une justification scientifique et objective des résultats peut être fournie.

Partie II

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

Ce travail est réalisé au sein du laboratoire de microbiologie de centre universitaire d'Ain Témouchent-Belhadj Bouchaib, durant la période allant du mois de février au mois du mars 2018.

II. 1. Présentation de la région d'étude

Ain El Arbaa est une commune de la wilaya d'Ain Témouchent et se trouve à 30,3 km à d'Ain Témouchent via route N108 (Figure 3).

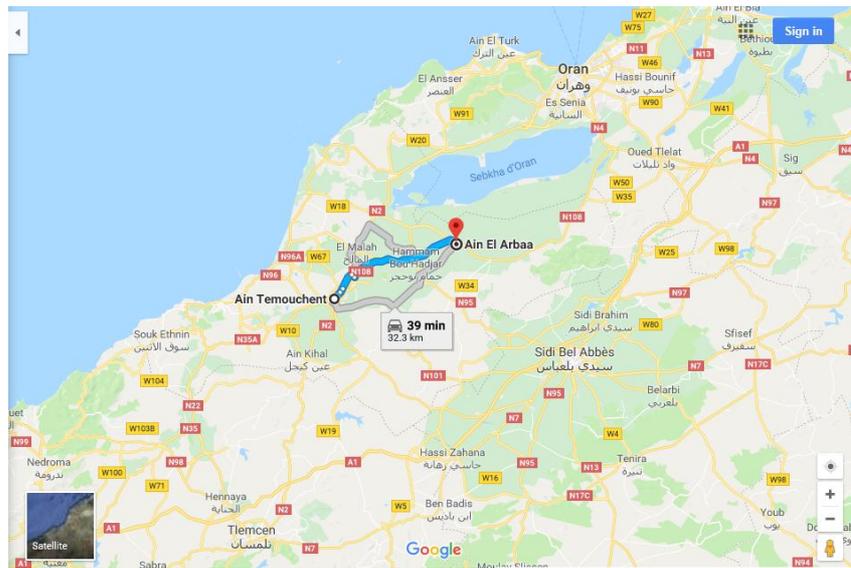


Figure 3 : Situation géographique d'Ain El Aarbaa (Google maps le 29/05/2018).

Elle compte 20000 habitants sur une superficie de 71.61 km² (Source APC de Ain El arbaa). Cette dernière se caractérise par un climat semi-aride sec et froid. Les températures moyennes mensuelles sont illustrées sur le tableau 9. Les températures est un facteur important dans la modélisation de concentration de SCP durant cette étude.

Tableau 9 : Températures moyennes mensuelle de la ville d’Ain El Abraa durant Janvier 2018 au mois de Décembre 2018.

	Température maximale (°C)	Température minimale (°C)	Température moyenne (°C)
Janvier	15.5	7.1	11.3
Février	16.3	7.2	11.7
Mars	17.6	9.2	13.4
Avril	19.7	10.6	15.1
Mai	22.1	13.9	18
Juin	25.7	17.1	21.4
Juillet	29.3	20.1	24.7
Aout	30.2	21	25.6
Septembre	27.3	18.3	22.8
Octobre	23.6	14.9	19.2
Novembre	19.2	11	15.1
Décembre	17.5	7.2	12.3

Source : <https://fr.climate-data.org/location/3250/>

II. 2. Choix des scenarios et la récolte de données de consommation du lait

Au niveau de ménage, le lait de vache cru est une denrée à usage multiple. Il est consommé cru, traité thermiquement ou bien utilisé comme matière première de la fabrication de plusieurs denrées comme le fromage, lait fermenté “Lben”...etc.

Cette étude était réalisée uniquement sur le lait consommé cru ou chauffé avant sa consommation.

Compte tenu les manque de données de consommation du lait au niveau des ménagers et les difficultés lié avec, nous avons limité la zone géographique d’étude “ Ain El Abraa ”. Le choix était basé seulement sur l’accessibilité aux données nécessaires.

II. 3. Caractéristique du scénario de consommation du lait

Un modèle d’évaluation quantitative de l’exposition à un pathogène nécessite l’ensemble des données sur la consommation de la denrée alimentaire étudiée et le pathogène incriminé. A cet effet, les données de la modalité de la consommation du lait dans la ville

d'Ain El Arbaa ont été récoltées suite à la distribution des questionnaires (Annexe 1) auprès des consommateurs (les familles) de cette ville. La distribution des questionnaires a été effectuée suivant la méthode de « la boule de neige ».

Les questionnaires renseignent surtout sur l'ensemble des conditions environnementales influant la croissance et/ou la survie de *Staphylococcus* à coagulase positive, d'un côté. D'autre côté, ils renseignent également sur les facteurs interférant le nombre de personnes exposées (Fréquence de consommation, quantité consommée, fréquence d'occurrence de chaque température de stockage ainsi que la fréquence de temps de stockage ...etc.).

Les données récoltées est utilisées comme des entrées (input) au modèle de l'évaluation de l'exposition pour *Staphylococcus* à coagulase positive lié à la consommation du lait. A cet effet, dans ce travail, les données étaient traitées, dans la partie résultats et discussion comme outils et pas comme résultats.

II. 4. Méthodologies de l'évaluation de l'exposition

Comme tous les modèles de l'évaluation quantitative de l'exposition aux dangers microbiologiques, le modèle construit pour SCP lié à la consommation du lait était basé aussi sur le concept « Modular Risk Process Model » (MRPM) présenté par Nauta (2001). Il consiste à diviser la phase de la mise en consommation en trois modules selon leur effet sur la dose (concentration de bactéries) : (Module 1 : H_0), la croissance (Module 2 : G) qui rassemble la phase de transport et de stockage et l'inactivation (Module 3 : I) de SCP (Tableau 10).

Tableau 10 : Description des principales étapes de la mise en consommation de lait cru (traite, stockage et consommation) et les effets de condition de la consommation sur le niveau de contamination en SCP.

Module	Étape	Process /critère	Temps (h)	Effet sur	
				Prévalence	[SCP ufc/mL]
Module H ₀	Ferme	Au moment de traite	t=0	=	=
Module G	Transport de la ferme au ménage	Température de transport	t≠0	+	+
				+	+
	Consommateur	Température de stockage	t≠0	+	+
Module R	Consommateur	Chauffage	t≠0	-	-

= pas d'effet sur la concentration ; + : augmentation ; - diminution.

II. 4. 1. Module H₀ : Contamination initiale H₀

Cette étape consiste à déterminer la prévalence et la concentration initiale de *Staphylococcus* à coagulase positive dans le lait de vache cru puis dans l'ensemble du lait consommé dans la ville d'Ain El arbaa.

II. 4. 1. 1. Récolte de données de contamination par SCP

II. 4. 1. 1. 1. Prélèvement des échantillons du lait

Un total de vingt échantillons de lait cru a été prélevé à partir de quelques fermes d'Ain El Arbaa, wilaya d'Ain Témouchent. La méthode d'échantillonnage suivie est celle « de boule de neige ».

Un volume de 100 mL de chaque échantillon de lait était prélevé (Juste après la traite) puis déposé dans des boîtes à urine stériles. Ensuite, les échantillons ont été transportés au laboratoire à 4°C. Pour les échantillons prélevés le soir, ils étaient gardés à 4°C puis transportés le lendemain au laboratoire dans les mêmes conditions.

II. 4. 1. 1. 2. Préparation des échantillons et les dilutions

La préparation des échantillons et les dilutions ont été réalisées selon le protocole décrit par l'Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014. Elle consiste à diluer 1

mL du lait de chaque échantillon dans 9 ml de Tryptone Sel Eau (TSE). Ensuite, les dilutions décimales étaient réalisées jusqu'au 10^{-2} .

II. 4. 1. 1. 3. Recherche de *Staphylococcus* à coagulase positive

La recherche de SCP était effectuée selon la norme l'Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014. Elle repose sur l'isolement de SCP sur milieu de culture « Baird Parker » additionnée d'émulsion de jaune d'œuf (Pour la préparation voir l'annexe 2) et tellurite de Potassium (5 mL). Un volume de 0.2 mL de chaque dilution préparée précédemment, était ensemencé en surface de milieu Baird Parker complet. Après séchage de l'inoculum, les boîtes étaient incubées à 37°C pendant 24h à 48h.

Les colonies caractéristiques sont noires (réduction de tellurite de Potassium), brillante et convexes dont le diamètre est de 1.5 mm après 24 heures, d'incubation et de 1.5 à 2.5 mm après 48 heures d'incubation, et entourées d'une zone claire qui peut être partiellement opaque avec un précipité.

II. 4. 1. 1. 4. Dénombrement des *Staphylococcus* coagulase positive

Il consiste à dénombrer les colonies présumées de SCP selon les normes (NA1198 :1995 ; ISO 6888) par la formules suivant :

$$N = \frac{\sum C}{V (n1 + 0.1n2) d}$$

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;

n1 : est le nombre des boîtes retenues à la première dilution;

n2 : est le nombre des boîtes retenues à la seconde dilution;

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

II. 4. 1. 1. 5. Purification sur la gélose nutritive

Il consiste à purifier les colonies présumées de SCP qui se manifeste dans le milieu BP et à l'ensemencer par épuisement sur le milieu gélose nutritive inclinée. Puis incubé à 37°C pendant 24h.

II. 4. 1. 1. 6. Vérification de la pureté et de l'authenticité

La pureté des isolats était basée sur l'observation microscopique après coloration de Gram. Les cellules de *Staphylococcus* sont tous de forme cocci et Gram positif.

Par ailleurs, l'appartenance des isolats au group SCP est basée sur la recherche de catalase, de coagulase puis ensemencement sur milieu Chapman pour confirmer l'espèce *Staphylococcus aureus* (Ce test n'est suffisant pour confirmer les *S. aureus* mais la totalité des SCP qui fermentent le mannitol sur Chapman est probablement *S.aureus*).

Teste de coagulase

Il consiste à réaliser une pré-culture par le repiquage d'une colonie suspecte dans un tube de 9 ml de BHI (Infusion Cœur cerveau) puis incubée à 37°C pendant 24 heures ; Ensuite, quelques gouttes de la culture étaient additionnées au plasma de lapin dans un tube à hémolyse. Le plasma de lapin était récupéré après centrifugation de sang de lapin contenant dans un tube à EDTA (Ethylène Diamine Tétra Acétique). (Figure 4).

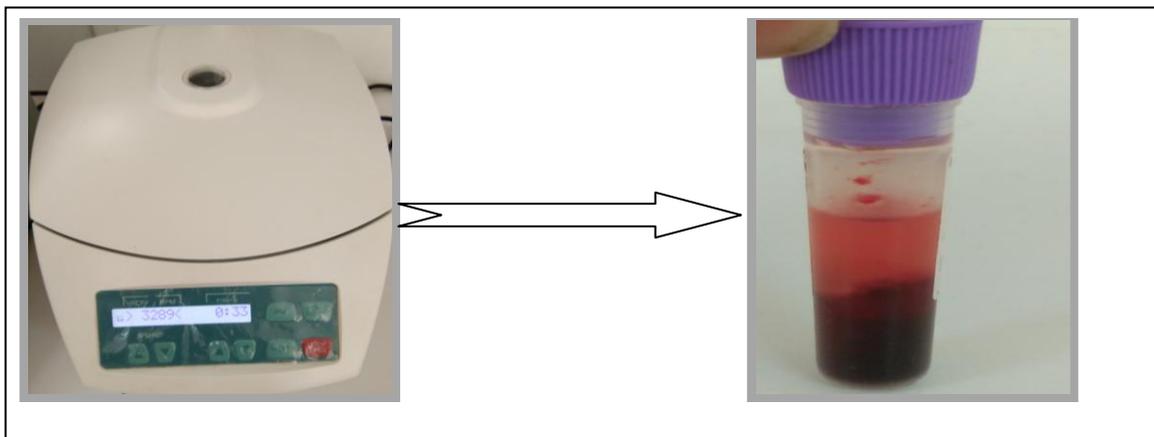


Figure 4 : Centrifugation de tube EDTA rempli de sang de lapin (le surnageant représente le plasma de lapin) (Réalisé dans cette étude).

Ensemencement sur milieu Chapman

Le milieu Chapman est milieu sélectif grâce à sa forte concentration en chlorures de sodium (7,5%). Il sélectionne les microorganismes halophiles parmi lesquels figurent les staphylocoques entourés d'un halo jaune qui est dû à l'utilisation du mannitol avec acidification du milieu et virage de l'indicateur « le rouge de phénol » du rouge au jaune.

Une öse de SCP était ensemencée par épuisement sur gélose Chapman puis incubée à 37 °C pendant 24 h.

Les colonies de *S. aureus* sont des colonies jaunes.

II. 4. 1. 1. 7. Conservation des isolats

La Conservation des isolats est effectuée dans des tubes de gélose nutritive inclinés. Les souches sont ensemencées sur la pente des tubes par des stries et incubées à 37°C pendant 24h, puis conservées à 4°C. Par ailleurs, une conservation en glycérol à 30% ont été aussi réalisé à -20°C.

II. 4. 1. 2. Distribution de concentration dans le lait consommé dans la ville d'Ain El Arbaa

La distribution de *Staphylococcus aureus* dans le lait était évaluée par multiplication de la prévalence par les concentrations (ufc/mL) de cette bactérie dans les échantillons analysés (Tableau 11).

Tableau 11 : Variables, distributions et modèles utilisés au Module H₀.

Variable	Description	Unité	Valeur/distribution/model	Référence
Module 1: Concentration initiale de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le lait				
P_{Staph}	Prévalence	%	RiskUniform(0, P_{staph})	Résultats
N_{0Staph}	Concentration initiale	ufc/mL	RiskDuniform($N_{01},N_{02},N_{03}, \dots, N_{0n}$)	
N_{lait}	Distribution de la concentration	ufc/mL	$N_{0Staph} \times P_{Staph}$	Résultats

II. 4. 2. Module G : Croissance de *Staphylococcus* à coagulase positive dans le lait

II. 4. 2. 1. Estimation de paramètres de croissance de *S. aureus*

L'étude de la croissance d'un isolat de *Staphylococcus aureus*, choisi au hasard, a été réalisée dans le lait stérilisé.

A partir de l'isolat conservé, une öse était ensemencée un bouillon cœur cervelle puis incubé à 37°C pendant une nuit. Ensuite, un inoculum de cette pré-culture a été ensemencé dans le lait stérilisé à raison de 1%. Après agitation et homogénéisation, le mélange était distribué dans des boites à urines. Les boites étaient par la suite, incubées à 37°C durant toute la journée. La concentration initiale était déterminée sur des boites non incubé, tandis que les autres points de dénombrement étaient réalisés à différents temps d'un pas de 30 min et/ou 1h.

A différents temps, une boite était récupéré et un volume de 200µL était ensemencé en masse dans milieu de Chapman puis incubée à 37°C.

Le modèle primaire de Rosso (1995) était utilisé pour décrire la cinétique de croissance de l'isolat étudié. Par conséquent, les paramètres de croissance de cet isolat de *Staphylococcus aureus* ont été déterminés après avoir tracé la courbe LogN (UFC) en fonction de temps d'incubation en (heures).

Après l'ajustement de modèle de croissance (équation 1), les paramètres de la cinétique telle que le temps de latence ($\lambda_{T^{\circ}C}$), le taux de croissance (μ_{max}) et la population maximale (X_{max}) étaient estimés.

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

II. 4. 2. 2. Estimation de paramètre de croissance de *Staphylococcus aures* à différentes températures de stockage

Les paramètres de croissance étaient estimés à chaque température de stockage comme montré dans le tableau 12.

Tableau 12 : Équation utilisé pour estimer les paramètres de croissance de *S. aureus* à différentes températures de stockage.

Variable		Unité	Equation	Référence
Température de stockage	de	T°C °C	/	Enquête réalisée
Températures cardinales	Minimale	Tmin °C	Uniform(15;6)	Matériel et méthodes
	Maximale	Tmax °C	Uniform(45;46)	
	Optimale	Topt °C	37	
Température de challenge test	de	37 °C	/	/
Temps de latence de challenge test	à	$\lambda_{37^\circ\text{C}}$ h	Equation 1	Résultat
Gamma T		$\gamma^{\circ\text{T}}$ /	$\gamma(T) = \frac{(T - T_{\text{min}})^2 (T - T_{\text{max}})}{(T_{\text{opt}} - T_{\text{min}})(T_{\text{opt}} - T_{\text{max}})(T - T_{\text{opt}}) - (T_{\text{opt}} - T_{\text{max}})(T_{\text{opt}} + T_{\text{min}})}$ /	
Taux de croissance de challenge test	à	$\mu_{37^\circ\text{C}}$ h ⁻¹	Equation 1	Résultats
Taux de croissance optimal dans le lait		μ_{opt} h ⁻¹	$\mu_{\text{opt(lait)}} = (\mu_{(37^\circ\text{C})} / \gamma_{(37^\circ\text{C})})$	Résultats
Taux de croissance		$\mu_{T^\circ\text{C}}$ h ⁻¹	$\mu_{T^\circ\text{C}} = \gamma_{T^\circ\text{C}} \times \mu_{\text{opt(Lait)}}$	Résultats
Temps de latence		$\lambda_{T^\circ\text{C}}$ h	$\lambda_{T^\circ\text{C}} = \mu_{(37^\circ\text{C})} \times (\lambda_{(37^\circ\text{C})} / \mu_{T^\circ\text{C}})$	Résultats

II. 4. 2. 3. Estimation de concentration de *S. aureus* à différentes conditions de stockage

Les paramètres de croissance ont été estimés à chaque température de stockage (Tableau 12). Ils étaient ensuite compilés dans l'équation 2 pour prédire la concentration de *Staphylococcus aureus* pour chaque condition de stockage (temps/température) (données de l'enquête).

$$N_f = N_{T^\circ\text{C}} \times \exp(\mu_{T^\circ\text{C}} \times (t_{T^\circ\text{C}} - \lambda_{T^\circ\text{C}})) \quad \text{Equation 2}$$

II. 4. 3. Module 3 : Destruction de *Staphylococcus aureus*

II. 4. 3. 1. Estimation de paramètre de nombre de réduction décimale de *S. aureus* durant les traitements thermiques

Selon l'enquête effectuée certains consommateurs chauffent le lait avant sa consommation à une température estimée de 50°C, 70°C et 100°C. De ce fait, le nombre de réduction décimale a été estimé pour *S. aureus* à ces températures selon l'équation 3.

$$n = \left(t_{T^{\circ}C} / \delta_{(T^{\circ}C)} \right) \quad \text{Equation 3}$$

$t_{T^{\circ}C}$: Temps de cuisson à chaque température T°C de chauffage;

$\delta_{T^{\circ}C}$: Temps de réduction décimale estimé à chaque température de chauffage (équation 4);

$$\log \delta_{(T^{\circ}C)} = \log \delta_{T_{mean}} - (T^{\circ}C - T_{mean}) / z_T \quad \text{Equation 4}$$

T°C : Température de chauffage ;

T_{mean} : Température moyenne calculée sur l'ensemble des températures de traitement thermiques des souches de *Staphylococcus aureus* selon Walker et Harmon (1966).

$\delta_{T_{mean}}$: Temps de réduction décimale à T_{mean} ;

$z_{T^{\circ}C}$: sensibilité au traitement thermique pour chaque souche de *S. aureus*.

II. 4. 3. 2. Estimation de concentrations de *S. aureus* après le traitement thermique

Au terme de chaque traitement thermique, les concentrations de *Staphylococcus aureus* a été estimé à laide de l'équation 5. La distribution de la concentration finale a été modélisé par la distribution discrète([*S. aureus*] à chaque traitement; Probabilité de chaque traitement). Ensuite, l'instruction (Si...alors...) a été utilisée pour compiler l'ensemble des concentrations par un mois étudié.

$$N_{ci} = \text{Poisson}(N_{T^{\circ}C} \times 10^{-n_{4,streams}}) \quad \text{Equation 5}$$

II. 4. 4. Estimation de concentrations de *Staphylococcus aureus* à chaque prise

Les concentrations de *S. aureus* a été estimé à chaque prise consommée comme décrite précédemment. Le tableau 13 résume les liaisons de simulation entre chaque prise. La concentration finale à chaque prise était utilisée comme concentration initiale pour la prise suivante.

Tableau 13 : Méthodologie de l'estimation des concentrations au long de la consommation de lait.

Variable	Définition	Equation
Transport		
t	Temps de transport	Risktriangl(min;most;max)
P_t	Proportion de transport	Bernoulli(P _t)=1
C_t	Concentration à chaque t	Equation 2 x Bernoulli(P _t)
P_{T°C}	Proportion de la température	Bernoulli(P _{T°C})
C_{t/T}	Concentration à chaque température de stockage	C _t X P _{T°C}
C_{≥5log}	Nombre de portion ≥5log Consommation	1-Risktarget(C _{t/T})
C_{stor}	Estimation de [<i>S. aureus</i>] de la même façon que le transport	
P_{t/T} stockage	Proportion de consommation de lait cru	
C_{cuisson}	Concentration après cuisson	Equation 5
P_{cuisson}	Proportion de consommation crut	1- P _{t/T} stockage
C_{1^{ère} prise}	Concentration avant la première prise	C _{stor} x P _{t/T} stockage + C _{cuisson} x (1- P _{t/T} stockage)

II. 4. 5. Estimation de nombre de personnes ingérant une [*S. aureus*]

Pour chaque température et temps de stockage et à chaque prise, le nombre de portion dont la concentration de *S. aureus* (≥ 5 log) a été estimé à l'aide de distribution Target. Ensuite, le nombre généré est multiplié par proportion nombre de consommateurs du lait dans ces conditions X 11 mois X nombre d'achat par an X proportion de personnes consommant le lait dans la ville d'Ain El Arbaa X nombre d'habitant d'Ain El Arbaa.

Partie III
RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats et discussion

III. 1. Résultats de la recherche de *Staphylococcus* à coagulase positive

L'isolement et le dénombrement de *Staphylococcus* à coagulase positive a été réalisé sur milieu Baird Parker. C'est un milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des SCP.

Les colonies présumées de SCP sur milieu Baird Parker sont toutes, de couleur noir, brillantes, entourées d'un halo clair (Figure 5). Selon Joffin et Joffin (2010), les colonies noires ne possédant pas les halos représentent probablement de *Proteus*.

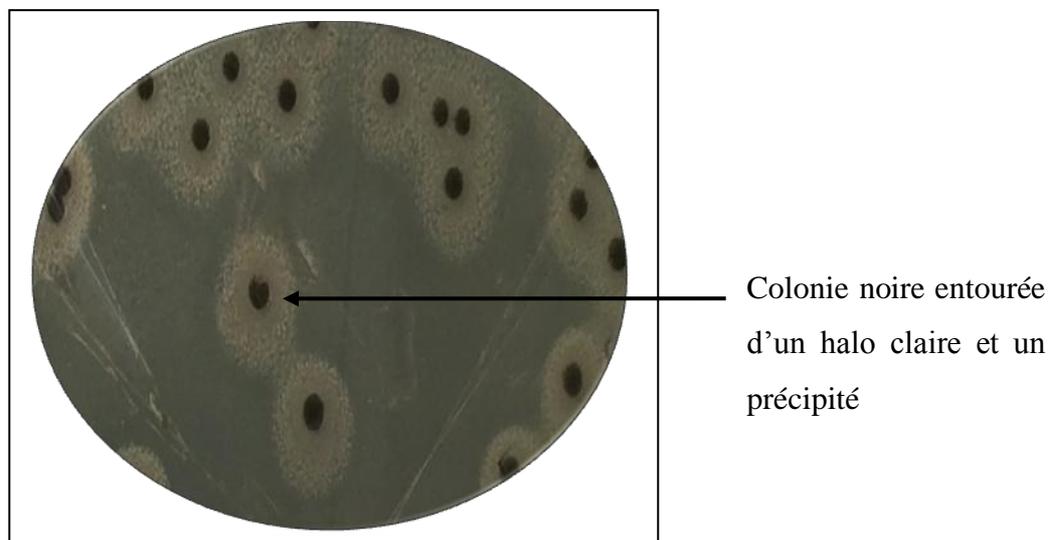


Figure 5 : Aspects des colonies de *Staphylococcus* à coagulase positive sur Baird Parker. Boîte laquelle, l'isolat Lc1 était obtenu (Echantillons E1).

Les isolats issus des colonies repérées comme SCP sont tous Gram positif (Figure 6), possédant une catalase positive (Figure 7A) et une réaction positive avec le plasma du lapin c'est-à-dire sont coagulase positive (se traduit par la formation d'un coagulum (Figure 7B)). Par ailleurs, un aspect de colonies jaune (Figure 8) confirme l'appartenance des isolats obtenus au *S. aureus*.

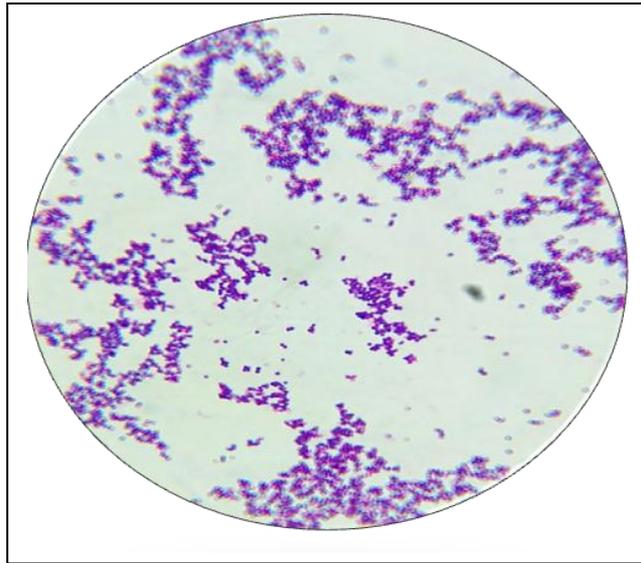


Figure 6: Images d'isolat Lc1 après la coloration de Gram sous microscope GX100.

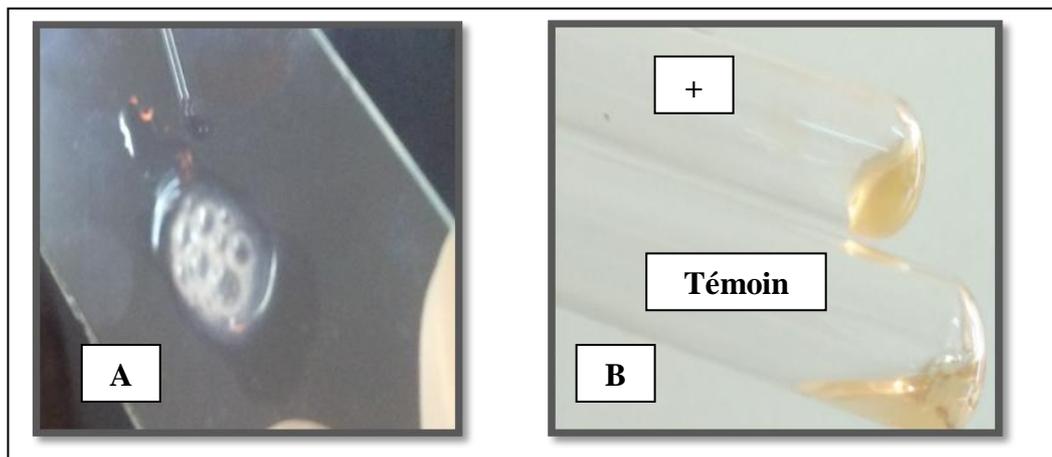


Figure 7 : A) résultats du test de catalase positive ;B) Résultats du test de coagulase positive (coagulase libre).

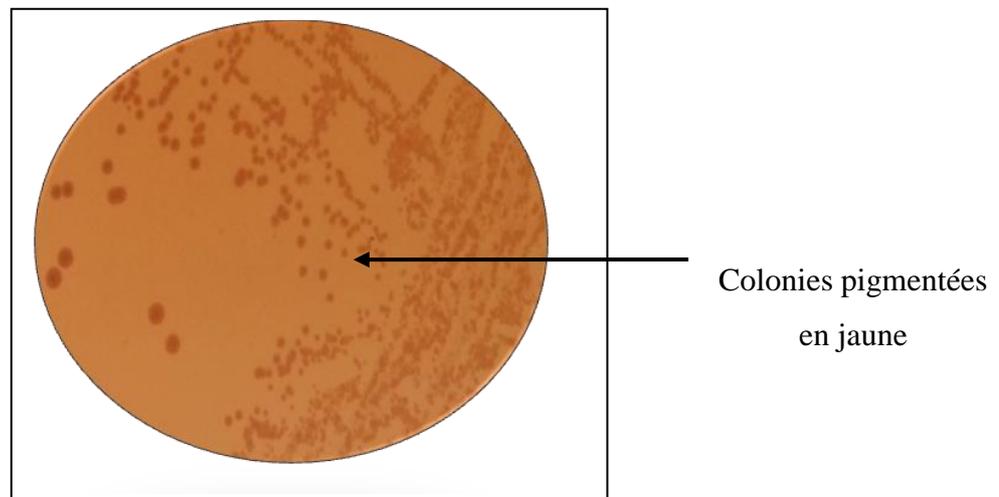


Figure 8 : Aspect des colonies de l'isolat Lc1 sur milieu Chapman.

II. 2. Prévalence et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Les résultats de la recherche de SCP à partir de 20 échantillons du lait, montre que 65% des échantillons étaient contaminés par *Staphylococcus* à coagulase positive. Cette prévalence est supérieure à celle reportée (24,71%, 17,6% et 35%) par Titouche et al. (2016) à Tizi ousou (Algérie), Kouame sina et al. (2010) à Abidjan (coté d'ivoire) et Hamiroune et al. (2014) à Jijel et Blida respectivement.

La présence de ces bactéries dans les échantillons de lait est probablement liée à plusieurs facteurs notamment (1) état sanitaire de la vache qui peuvent être atteint de mammite, (2) des équipements et eaux de traite ou bien son environnement.

Par ailleurs, les résultats de dénombrement de SCP sont illustrés sous forme d'une distribution graphique de type cumulée (Figure 9). Les concentrations oscillent entre un minimum et maximum de 0,699 \log_{10} et 3,301 \log_{10} avec une concentration moyenne de 2,1319 \log_{10} et un médiané de 1,903. Ces concentrations sont dans l'ordre des concentrations reportées (3 log) Hamiroune et al. (2014) et Afifet al. (2008).

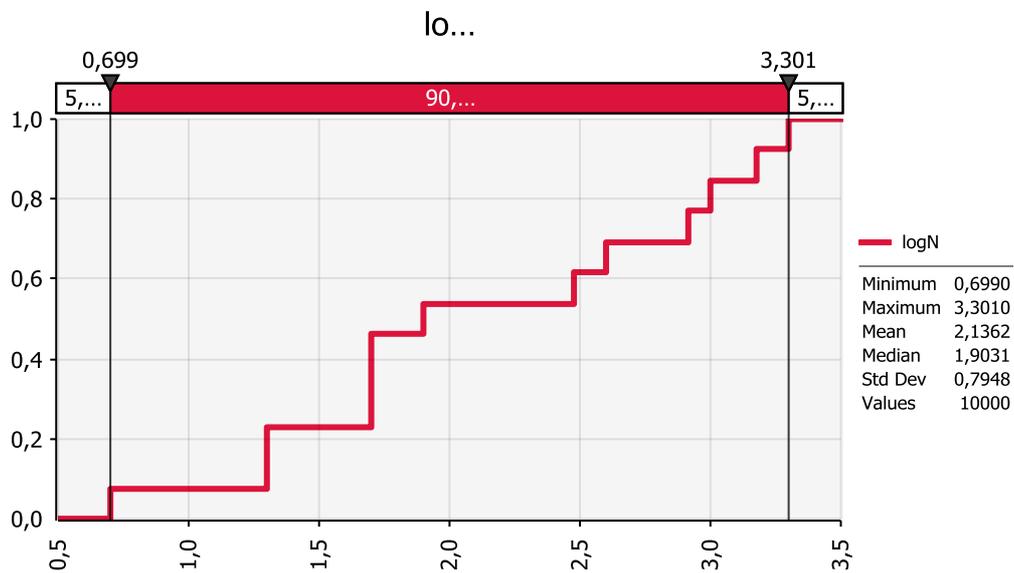


Figure 9 : Distribution cumulée de dénombrement de SCP dans les échantillons du lait dans la ville d'Ain El arbaa, Ain Témouchent.

III. 3. Prévalence et concentration de *S. aureus* dans le lait consommé à la ville d'Ain El Arbaa

Les résultats de prévalence et de dénombrement sont utilisés pour prédire la distribution des contaminations de *S. aureus* dans le lait consommée dans la ville d'Ain El Arbaa. La prévalence déterminée dans les échantillons du lait analysé est dans l'ordre de 65%, tandis que à échelle de consommation, cette prévalence est représentée par une distribution probabiliste de type bêta qui sert à modéliser la probabilité de survenu des concentrations de *S. aureus* dans la ville de Ain El Arbaa (Figure 10a). A cet effet, la bêta prévalence est multipliée par Duniform concentration, pour décrire la probabilité de contamination initiale. Les résultats de la simulation (Figure 10b) montrent que la concentration minimale et maximale dans le lait consommé est de 0,1372 log₁₀ et de 2,4249 log₁₀ respectivement. La médiane est égale à 0,79 log₁₀, c'est-à-dire 50% des quantités achetée du lait ont une concentration $\leq 0,79$ log₁₀.

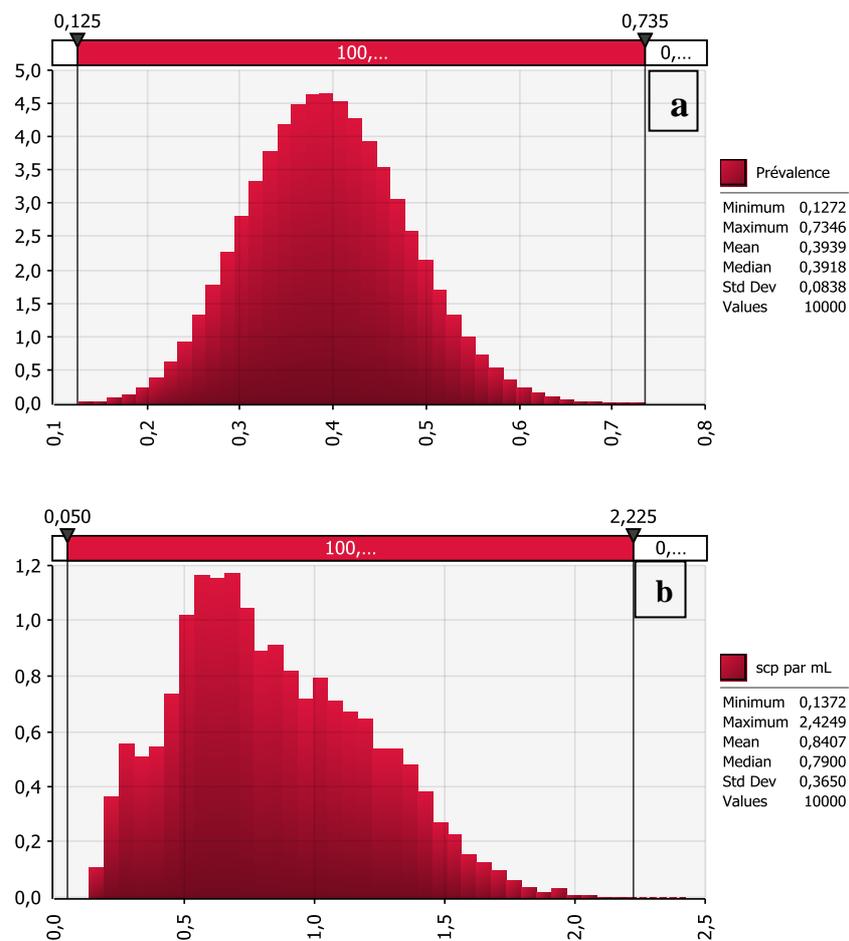


Figure 10 : Distribution de probabilité de concentration de SCP dans les portions de Le lait consommé dans la ville d'Ain El Arbaa.

A cette étape et après les résultats de simulation, aucunes portions ne contiennent des concentrations $\geq 5 \log_{10}$ de SCP. Cependant, ces bactéries peuvent se multiplier et atteindre probablement des concentrations $\geq 5 \log_{10}$, surtout si les conditions de stockage sont favorables à leur croissance.

III. 4. Concentration de *Staphylococcus aureus* dans le lait au moment de la consommation

Les concentrations de *S. aureus* étaient estimées à différentes étapes de consommation du lait. En effet, les concentrations ont été estimées après transport de la ferme au ménage, après le stockage et/ou les traitements thermiques du lait avant sa consommation. Les concentrations ont été estimées à chaque prise.

III. 4. 1. Estimation de croissance durant le module G

III. 4. 1. 1. Estimation de paramètres de croissance de *S. aureus*

La figure 11 montre la cinétique de croissance de la souche Lc1 à 37°C dans le lait stérilisé. Les paramètres de croissance estimés pour cet isolat Lc1 était de 1,8h et 0,8h⁻¹ pour le temps de latence ($\lambda_{37^\circ\text{C}}$) et taux de croissance ($\mu_{37^\circ\text{C}}$) respectivement. Ces valeurs sont dans l'ordre des valeurs montré par Souida (2017). Par ailleurs, ces valeurs de challenge test étaient utilisés pour estimer les temps de latence ($\lambda_{T^\circ\text{C}}$) et taux de croissance ($\mu_{T^\circ\text{C}}$) à différentes températures de stockage déterminées par les questionnaires (Tableau 14).

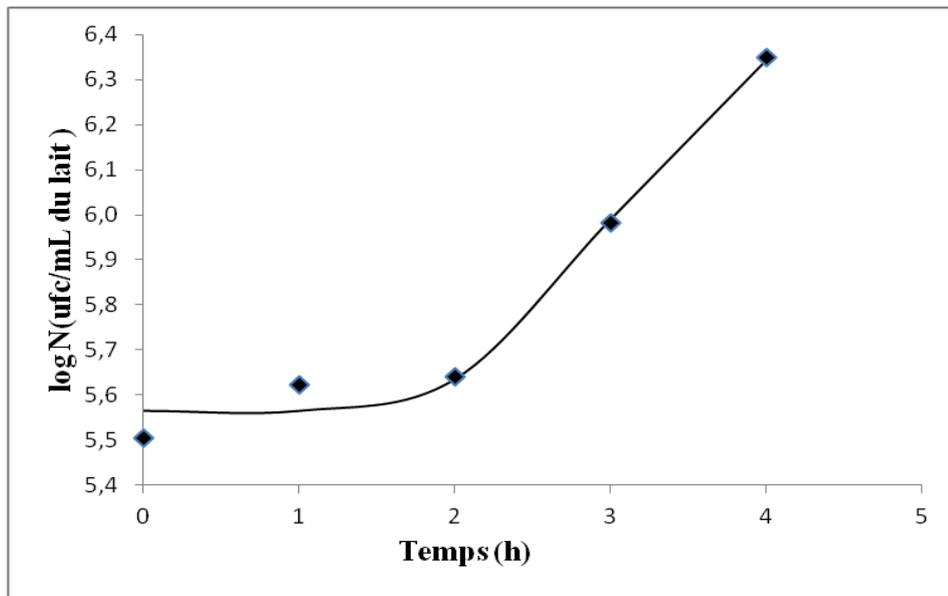


Figure 11 : Cinétique de croissance de l'isolat Lc1 inoculé dans le lait stérilisé et incubé à 37°C.

Tableau 14 : Paramètres de croissance à différentes températures de stockage (ambiante et réfrigération), résultats d'une simulation.

Mois	Températures mensuelle	Temps de latence	Taux de croissance
	moyenne	$\lambda_{T^{\circ}\text{C}}$ (h)	$\mu_{T^{\circ}\text{C}}$ (h^{-1})
Janvier	11.3	29,26	0,05
Février	11.7	38,05	0,04
MARS	13.4	11,96	0,12
Avril	15.1	10,33	0,14
Mai	18	7,65	0,19
Juin	21.4	4,75	0,31
Juillet	24.7	3,46	0,43
Aout	25.6	2,69	0,55
Septembre	22.8	3,38	0,44
Octobre	19.2	5,37	0,27
Novembre	15.1	9,03	0,16
Décembre	12.3	16,68	0,09

Au froid	Pert(4;7;12)	188852,978	0,00255596
-----------------	--------------	------------	------------

Les taux de croissance le plus élevés étaient reportés pour les températures les plus élevés durant les Juin, Juillet, Aout et même Septembre. Durant ces mois, évidemment, les temps de latence sont les plus courts. Par conséquent, les concentrations les plus élevées sont probablement estimées à ces mois.

III. 4. 1. 1. Concentration de *S. aureus* après le transport de la ferme au ménage

Les concentrations de *S. aureus* sont estimées à l'ensemble des temps de transport (Tableau 15). Le tableau 15 résume l'ensemble des concentrations estimées à différents temps de transport. Comme montre le tableau 15 aucune portion ne contient une concentration $\geq 5 \log_{10}$, car quel que soit le temps de transport, il est toujours inférieur au temps de latence de SCP étudié.

Tableau 15 : Concentrations de *S. aureus* à différents temps de transport par mois de Janvier 2018.

Case de l'Excel	Temps (h)	Case de l'Excel	Proportion	[<i>S. aureus</i>] log (ufc/mL)			[<i>S. aureus</i>] $\geq 5 \log$
				Min	Max	Méd.	
A1	0,0833	B1	0,1737	0,11	2,40	0,079	0
A2	0,166	B2	0,0234				
A3	0,25	B3	0,187				
A4	0,333	B4	0,164				
A5	0,5	B5	0,206				
A6	1	B6	0,244				
				Riskdiscrète(A1:A6;B1:B6)		1-Risktarget([<i>S. aureus</i>];5)	
Proportion de temps de transport				1			

Les concentrations durant le transport relativement ne sont pas changées par rapport à la concentration initiale estimée précédemment. En effet, le temps de transport (max 1h) est inférieur au temps de latence (1,8h) de *S. aureus* à 37°C. Durant cette année 2018, la température moyenne le plus élevée est observée en mois d'Aout (25,6°C). Alors, à cette température le temps de latence est plus élevé par rapport à 1,8h et par conséquent au temps de transport.

A cette étape aucune portion ne contient une concentration toxique (Figure 12) (Annexe 3)

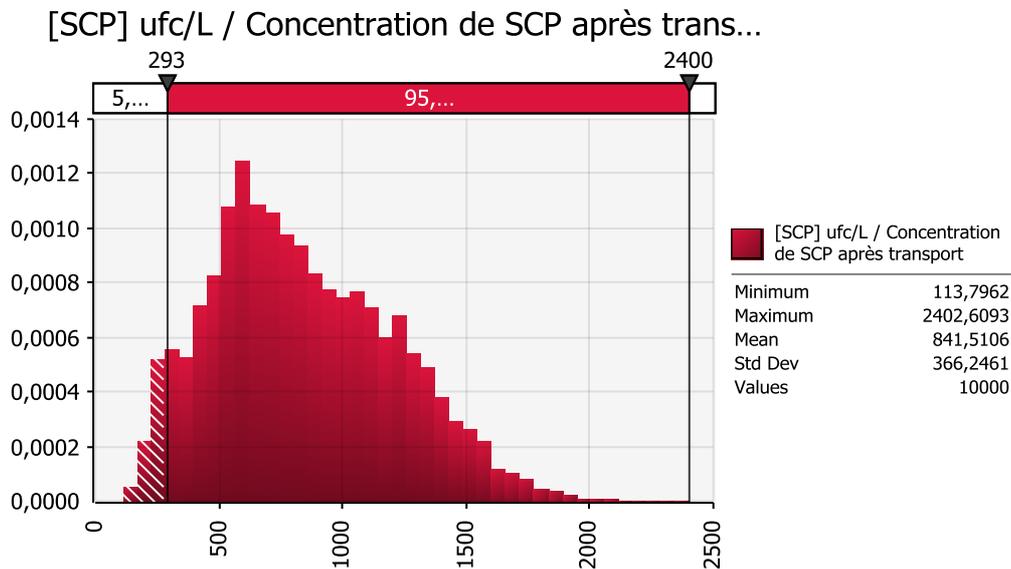


Figure 12 : Distribution cumulée de [*S. aureus*] ufc/L après stockage durant le mois de Janvier.

III. 4. 2. Estimation de concentration de *S. aureus* durant la première prise

Les concentrations simulées après transport ont été introduites dans cette étape comme concentration initiale. Durant cette prise, 85% chauffe le lait avant sa consommation, tandis que 25% le consomme frais. Alors, les concentrations étaient estimées durant le stockage et après le traitement thermique.

III. 4. 2. 1. Concentration de *S. aureus* après le traitement thermique

III. 4. 2. 1. 1. Estimation de paramètres de thermorésistance

Les consommateurs de la ville d'Ain El arbaa chauffent le lait à 50°C, 70°C et 100°C. Alors, le nombre de réduction décimale était estimé à ces températures (Tableau 16) (Figure 13). On constate, une relation proportionnelle entre la température et le temps de réduction décimale. Des valeurs de « n » élevées étaient observées pour les températures 70 et 100°C.

Tableau 16 : Estimation de nombre de réduction décimale à différentes températures de chauffage du lait.

		Température °C		
		50	70	100
n	min	0,00094	1,7755	1883,46
	max	3,3806	4 103	1,58 10 ¹¹
	médian	0,8245	769	2 10 ¹⁰
	moy	0,1303	241,79	3 10 ⁵

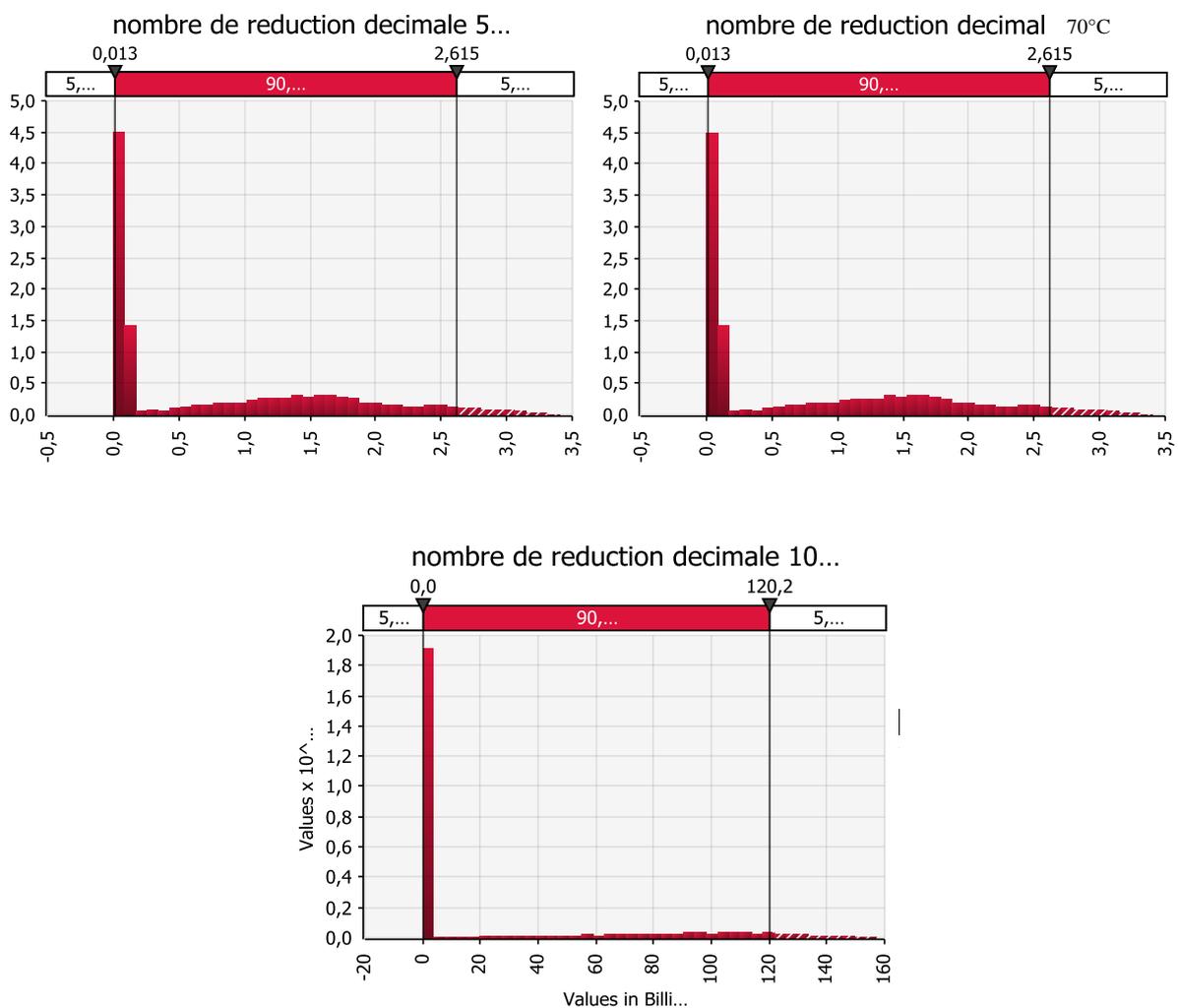


Figure 13 : Distribution de probabilité des nombres de réduction décimale à différentes températures de traitement 50°C, 70°C et 100°C.

III. 4. 2. 1. 2. Concentration de *S. aureus* en ufc/mL

Les concentrations de *S. aureus* étaient déterminées au temps de chauffage Triangle(0;5;7). 0 et 7 les temps minimum et maximum respectivement, tandis que 5 est plus probable selon les résultats de l'enquête (Figure 14). La concentration est constante pour l'ensemble des mois car la même habitude est suivie durant les mois. Les concentrations sont comprises entre 0 et 1,8 avec une moyenne de 0,06 log (ufc/mL) et médiane de 0. A cet effet, aucune portion toxique n'était constatée.

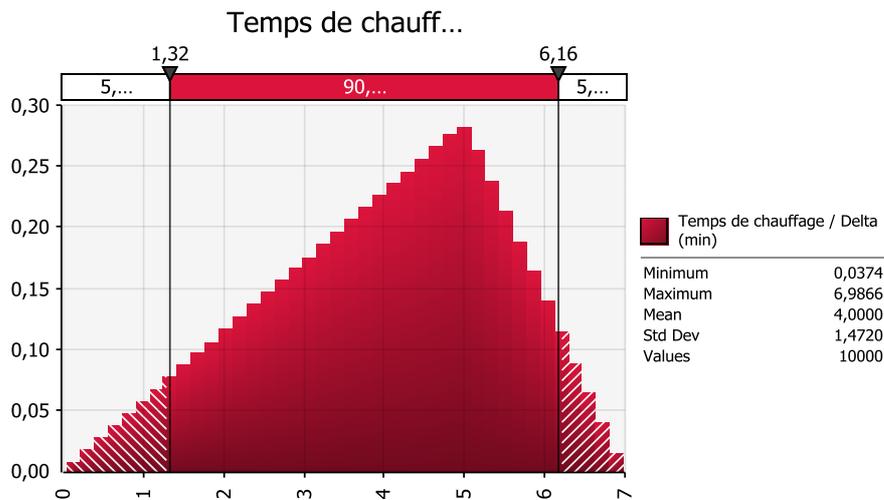


Figure 14 : Distribution des temps de chauffage chez les consommateurs à différentes températures (50°C, 70°C et 100°C).

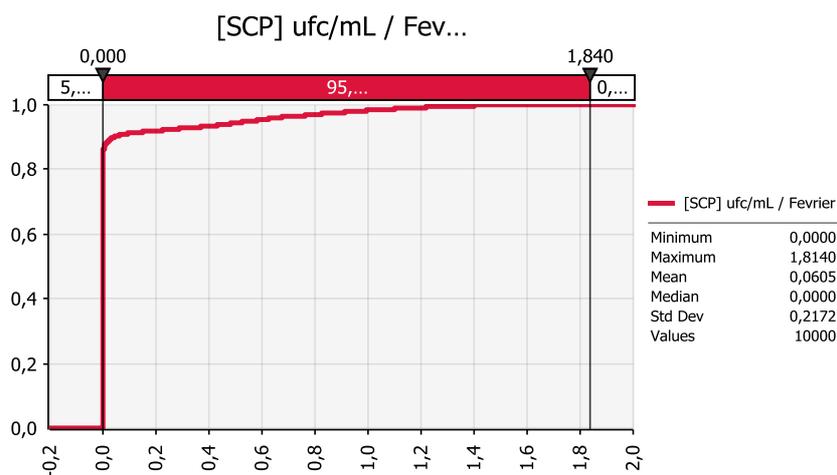


Figure 15 : Distribution de concentration de *S. aureus* (ufc/mL) après les traitements thermiques.

III. 4. 2. 2. Concentration de *S. aureus* durant le stockage avant première prise

Les concentrations de *S. aureus* ont été estimées à différents temps de stockage au froid. Les temps de stockage sont inférieurs au temps de latence (le plus court durant le froid est de 32h). Ce temps est plus élevé par rapport au temps de stockage au froid. Par ailleurs, le temps de stockage à la température ambiante est inférieur au temps de latence pour les températures ambiante. Alors aucune croissance de *S. aureus* ne sera lieu (Tableau 17).

Tableau 17 : Estimation de concentrations de [*S. aureus*] à différents temps de stockage

Case d'Excel	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1	H1	I1
Temps de stockage au froid*	0,08	0,17	0,50	1,00	2,00	3,00	5,00	8,00	12,00
Case d'Excel	A3	B3	C3	D4	E5	F6	G7	H8	I9
Proportion [<i>S. aureus</i>] moyenne g/mL par temps	0,03	0,11	0,02	0,10	0,05	0,06	0,03	0,11	0,48
[<i>S. aureus</i>] g/mL pour l'ensemble des temps	Riskdicrète(A1:I1;A3:I9) X Proportion de stockage au froid								
[<i>S. aureus</i>] g/mL pour le stockage	[<i>S. aureus</i>] g/mL pour l'ensemble des temps + [<i>S. aureus</i>] de transport								
[<i>S. aureus</i>] g/mL pour la première prise	[<i>S. aureus</i>] g/mL pour le stockage + [<i>S. aureus</i>] g/mL après traitement thermique (Figure 16)								

*Température de froid Pert(4;7;12)

III. 4. 3. Estimation de nombre de personnes exposées à $\geq 5 \log$

Le nombre de personnes exposées à des concentrations toxiques de *Staphylococcus aureus* de 5 log UFC/ml est estimé par compilation des distributions (Si alors...) des concentrations à chaque prise. Après simulation de Monte Carlo, les résultats montrent que le

nombre total de personnes qui consomment des concentrations de $\geq 5 \log_{10}$ est de 192 personnes par anéquivant à 1,1% de la population globale d'Ain El Arbaa (Tableau 18).

Tableau 18 : Résultat global de l'estimation de nombre de personnes ingérant $\geq 5 \log$.

Prise	%	Proportion	Cumulé	Proportion de $\geq 5 \log$
1	13,1455399	0,1314554	1	0
2	52,5821596	0,5258216	0,8685446	0
3	34,2723005	0,342723	0,342	
	100	1		0,01152546
Proportion de consommateur de lait				0,83*
Nombre d'habitants				20000**
				192 personnes

*Données de l'enquête ;

** sources APC d'Ain El Abraa.

CONCLUSION

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 à cause de manque d'hygiène. Malgré l'interdiction de vente de lait de vache dans la ville d'Ain El Arbaa, le lait reste vendu à l'informel qui peut présenter ce pathogène. A cet effet, le nombre de intoxication est probablement sous estimé. Pour cela, nous tenterons de déterminer le nombre de personnes exposées à une concentration toxique ($5 \log \text{ ufc/ml}$) de *S. aureus* dans la ville d'Ain El Arbaa.

Les résultats ont montré une forte prévalence de *Staphylococcus* à coagulase positive (65%) avec des concentrations de $0,699 \log_{10}$ et $3,301 \log_{10}$. Un isolat sélectionné au hasard a montré une capacité de croissance dans le lait ($\text{lag} = 1,8\text{h}$ et $\mu_{37^\circ\text{C}}=0,8\text{h}^{-1}$) et une thermo-résistance estimée à différentes températures de cuisson (50°C , 70°C et 100°C). Après simulation de Monte Carlo tenant compte de comportement de consommateurs de la ville d'Ain El Arbaa, les résultats ont montré que *Staphylococcus aureus* peut se développer et atteindre $5 \log \text{ UFC/ml}$. En effet, au total 1,1% (192 personnes) de consommateurs peuvent consommer une concentration égale ou supérieure à $5 \log \text{ UFC/ml}$.

La prévention contre les toxi-infections alimentaires à *Staphylococcus 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.

Au terme de ce travail, nous souhaitons d'identification les isolats de *Staphylococcus aureus* par des outils moléculaires. Ensuite, nous traçons comme perspective l'application de l'évaluation du risque de la part des acteurs concernés (organismes gouvernementales, 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 BIBLIOGRAPHIQUE

Références Bibliographiques

- 1- **Agabriel C., Coulon J.B., Brunshwig G., Sibra C. et Nafidi C. 1995.** Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. INRA Prod. Anim., 8 (4). pp : 251- 258.
- 2- **Accarias S. 2014.** Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*, Université Paul Sabatier Toulouse III.
- 3- **Afif A., Faid M. et Najimi M. 2008 .**Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc, Reviews in Biology and Biotechnology, vol. 7, no. 1, p27.
- 4- **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.
- 5- **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.
- 6- **Ananthanarayan P. 2006.** Textbook of Microbiology. Edition Seventh, India.665pages.
- 7- **Angandza G.2012.** Recherche des souches de *Staphylococcus aureus* et *pseudintermedius* résistant à la méticilline dans les muqueuses anale et nasale de chiens, consultés dans les cabinets vétérinaires de Dakar.
- 8- **Anonyme.2013.**<http://www.visualphotos.com>. Consulté le: 23.11.2013.
- 9- **Asperger H ., Zangerl P. 2011.**Staphylococcus aureus. In Encyclopedia of dairy sciences (H. Roginski, J.W. Fuquay & P.F. Fox, édit.). Vol. 4., Academic Press & Elsevier Science, Amsterdam, 2563–2569.
- 10- **Bergdoll M.S.1979.** Staphylococcal intoxications. In: Riemann H, Bryan FL. Food-borne infections and intoxications. Academic press New York, 443-494.
- 11- **Bitman J., Wood D., Miller et al.1996.**Comparaison of milk and blood lipids in jersey and holstein- cows fed total mixed rations with or without whole cottonseed.J.Dairy Sci.
- 12- **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.
- 13- **Bylund G.1995.** Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems AB S-221 86 , Lund ,Sweden : 18-23-381(436 pages).

Références Bibliographiques

- 14- Céline R. 2002.**Comprehension Des Mecanismes D'adhesion Des Biofilms En Milieu Marin En Vue De La Conception De Nouveaux Moyens De Prevention (Docteur De L'université Paris 6).
- 15- Chilliard Y.,Sauvant D.1987.** La sécrétion des constituant du lait. In : INRA-CEPIL. Le lait, Matière premier de l'industrie laitière.paris.P13-26
- 16- Corne ph. 2004.** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Thèse de doctorat, Montpellier , p.18
- 17- Coudrec C. 2015.**L'université pierre et marie curie. Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *staphylococcus aureus*.
- 18- Couture B. 1990.** Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 15- 32p.
- 19- Davido B.D.2010** .Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à staphylocoque doré..
- 20- Debry G. 2001.** Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- 21- Dematos G.2013.** Contribution à la maîtrise du risque lié à staphylococcus aureus en filière fermière de fromage de chèvre au lait cru en corse, l'universite clude-bernard – lyon.
- 22- Denis F., poly M.C., Martin C., Bingen E., Quentin R.2007.** Bacteriologies médicale:Techniques usuelles. Edition Elsevier Masson. pp 27-251.
- 23- DGROA/DQC/SDNPA/2014.** Rapport relatif aux intoxications alimentaires enregistrées durant l'année 2014. Février 2015.
- 24- El Haddad L.2014.**Utilisation des bactériophages pour le contrôle de *staphylococcus aureus* dans les produits laitiers.
- 25- El Hassani K. 2013.** La dépendance alimentaire en Algérie : importation de lait en poudre versus production locale, quelle évolution ? Mediterranean Journal Of Social Sciences Vol 4, N°11, 152-158.
- 26- Eykin S.J. 1996.** Staphylococci. In: DJ Weatherall. JG Ledingham eds. Oxford text book of medicine. Oxford medical publications. 533-542.
- 27- Fasquelle R. 1974** .Eléments de bactériologie médicale 9 ème édition. Flammarion,
- 28- Fauchere J.L. et Avril J.L. 2002.** Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris.213-217.
- 29- Fernane B.H.2017.**Etude des bactéries thermorésistantes dans le lait (doctorat en sciences, Mascara)

Références Bibliographiques

- 30- Ferron A.1984.** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12^{ème} édition. croauan et roques, Paris. 87-94p.
- 31- Flandrois J.P. 1997.** Bacteriologie médicale. Presse Universitaire de Lyon. pp 108-109.
- 32- Freney J., Kloos W., Hajek V., Webster J., Bes M., Brun Y., Vernozy Rozand C. 1999.** Recommended minimal standers for description of new Staphylococcal species. International Journal of Systematic Bacteriology 49, 489-502.
- 33- FTLQ. 2002.** Science et Technologie du lait. Fondation de Technologie Laitière du Québec Inc. Ed, Presses Internationales Polytechnique, Québec, canada, pp. 28-44.
- 34- Garrity G.M., Johnson K.L., Bell J., et Searles D.2002.** Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, second ed. New York: Springer-verlag.
- 35- Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J. et Tindall B.J. 2007.** Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7 **March 6**, Part 9- the Bacteria: Phylum "Firmicutes": Class "Bacilli".
- 36- Ghazi K. et Niar A. 2011.** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). tropicultura, 2011, 29, 4. pp : 193-196.
- 37- Gopal N., Hill C., Paul R., Ross P.R., Beresford T.P., Mark A., Fenelon M.A., et Cotter P.D. 2015.** The prevalence and control of Bacillus and Related spore- forming Bacteria in the Dairy Industry.
- 38- Guiraud J.P. 2003.** Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. pp : 136-139.
- 39- Guiraud J.P.1998.** Microbiologie alimentaire. Edition dunod, paris, p. 137.
- 40- Hamiroune M., Berber A. et Boubekour S. 2014.** Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. Ann. Méd. Vét., 2014, 158, 137-144.
- 41- Hennekinne J.A. 2009.** Nouvelles approches pour la caractérisation des toxi infections alimentaires a staphylocoques a coagulase positive, thèse de doctorat.Paris, pp.16-17.
- 42- Hoden P. et Coulon H.1991.** Composition chimique du lait, [http:// www.2.vet.lyon.fr](http://www.2.vet.lyon.fr).
- 43- 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
- 44- Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G. 2006.** Science des aliments- technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 17 (456 pages).
- 45- Jensen R.G.1995.** Handbook of milk composition. Academic press, SanDiego.577-592.

- 46- Joffin C., joffin J.N. 2010** .Microbiologie Alimentaire ,6^e édition
- 47- Journal officielle de république algérienne (J.O.R.A). 1993.**
- 48- Kabir A. 2015.** Contraintes de la production lait en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitier (constates et perspectives). Doctorat en science en microbiologie
- 49- 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.
- 50- Kouamé-Sina., Kohei Makita., Solenne Costard., Delia Grace., Adjehi Dadié., Marcellin Dje., Bassirou Bonfoh.2012.**Hazard identification and exposure assessment forbacterial risk assessment of informally marketed milkin Abidjan, Côte d'Ivoire. *Rev. Afr. Santé Prod. Anim.*, **8** (S),page 228.
- 51- Kloos W.E. et Lambe D.W. 1991.** In : Staphylococcus Manual of clinical microbiology. 5th ed Washington, DC: American Society for Microbiology. 222-237.
- 52- Kloos W.E. et Schleifer K.H. 1986 .** In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams & Wilkins, Baltimore, Md., pp. 1013-1035.
- 53- Lafitedupont A. 2011.** Les différents laits et leur complexité Les protéines du lait de vache : aspect nutritionnel et allergie alimentaire (docteur en pharmacie, université de limoges faculté de pharmacie). URL
- 54- Lammerding A.M. 1997.** An Overview of Microbial Food Safety Risk Assessment. *J. Food Prot.* **60**, 1420-1425. 54.
- 55- Lankveld J.M.G.1995.**Proteirn standaridized milk produits, composition and properties- IDF Brussels 70-85
- 56- Larpent J.P.1997.** Memento technique de microbiologie. 3^{eme} Ed. technique et documentation Lavoisier. Paris. 910pages.
- 57- Le Minor L. et Veron M. 1990.** Bactériologie Médicale «*Staphylococcus* et *Micrococcus*» J.Fleurette 2^{ème} édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 773-794.
- 58- Leymarios F.C. 2010.** Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d'amélioration par l'alimentation. La faculte de médecine de Créteil, (doctorat vétérinaire)

- 59- Leyral G et Vierling É. 2007.** Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires. Wolters Kluwer France. p. 287.
- 60- Magnusson M., Christiansson A., Sevansson B. 2007.** Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: Factors Affecting contamination of raw milk. Journal of dairy science, volume 90.
- 61- Mansour A.S., Wagih G.S., Morgan S.D., Elhariri M., El-Shabrawy M.A., Abuelnaga A.S.M, et. Elgabry. E. A. 2017.** Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains in bovine raw milk by reversed passive latex agglutination and multiplex polymerase chain reaction, Egypt.
- 62- 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.
- 63- Mathieu J. 1998.** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- 64- Mathieu J. 1999.** Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 3-190 (220 pages).
- 65- Nagase N., Shimizu A., Kawano J., Yamashita K., Yoshimura H., Ishimaru M., Kojima A. 2002.** Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Bovine Mastitis in Japan. J. Vet. Med. Sci. 64(12): 1169–1172.
- 66- 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.
- 67- Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO),** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, Collection FAO: Alimentation et nutrition, 1998, n° 28, ISBN 92-5-20534-6. Paris. 27-36p.
- 68- Pougheon S .et Goursaud J. 2001.** Le lait caractéristiques physicochimiques *In DEBRY G.,* Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).
- 69- Pougheon S. 2001.** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et Pour l'obtention du Diplôme De Magister. Biotechnologie Microbienne. Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

Références Bibliographiques

- 70- Quinn P.J., Markey B.K., Leonard F.C., Hartigan P., Fanning S., FitzPatrick E.S. 2011.** Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Edition Blackwell-science, USA. pp 893.
- 71- Robinson R.K. 2002.** Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milk products. Third edition. Edition John Wiley and sons, INC. New York. 780p.
- 72- Seme K., Pitala W. et Osseyi G. E. 2015.** Qualité nutritionnelle et hygiénique de laits crus de vaches allaitantes dans la région maritime au sud-togo édition, vol 11(36) Ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire,
- 73- Souida Z.H. 2017.** Evaluation quantitative de l'exposition au *Staphylococcus* à coagulase positive dans le lait cru de vache consommé dans la ville de Laghouat. *Mémoire*
- 74- Spicer W. 2003.** Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28 – 29.
- 75- Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. Edition polytechnica. p62.
Technique et documentation. 273 p. (Boudier et Luquet, 1981).
- 76- Titouche Y, Hakem A, Salmi D, Yabrir B, Chenouf N, Chergui A, Chenouf A et Houali k . 2016 .** Évaluation de la qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tizi Ouzou (Algérie).
- 77- 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. Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages). Université Paul Sabatier de Toulouse, France.
- 78- Varnam A.H. et Sutherland P. 2001.** Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. pp: 35-37
- 79- Vignola C.L. 2002.** Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).
- 80- Vincenot F., Saleh M. et Prévost G. 2008.** Les facteurs de virulence de *staphylococcus aureus*. Revue Francophone des Laboratoires; 407 :61-9.
- 81- Walker G. C. et Harmon L.G. 1966.** Thermal Resistance of *Staphylococcus aureus* in Milk, Whey, and Phosphate Buffer¹.

Références Bibliographiques

- 82- Wilkinson B.J.1997.** Biology. In: Crossley KB, Archer GL, Eds. The Staphylococci in Human Diseases. Churchill Livingstone, London. pp 1-38.

Annexes

Annexes

Annexe 01 : Questionnaire relatif au consommateur du lait cru de vache :

1. Quel est le nombre de votre famille ?

2. Quel est le nombre de personnes consommant le lait dans la famille ?

3. Quel est l'âge de personnes consommant le lait cru de vache?

-

-

-

4. Quel est la quantité du lait achetée en litre ?

5. Combien de fois achetez-vous le lait par semaine ?

 Fois

6. Comment transportez-vous le lait acheté ?

-

7. Combien du temps faut il pour apporter le lait à la maison ?

 Minutes

7. Quel est le nombre de prises par achat ?

 Prises

8. Quel est le temps d'attente pour la première prise ?

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

Annexes

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

11. Quel est le lieu de stockage entre la première et la deuxième prise ?

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

13. Quel est le lieu de stockage entre la deuxième et la troisième prise ?

14. Chauffez- vous le lait avant sa consommation ?

Oui

Non

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

Ébullition

Autre :

16. Quel est le temps de chauffage ?

3 min

5 min

7 min

autres

17. Préparez-vous autres dérivés du lait à la maison ?

- Si oui lesquels ? :

18. Avez-vous déjà des cas d'intoxications suite à la consommation du lait de vache cru et ou leur dérivés ?

Oui

Non

Annexes

Annexe 02 :

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.

Annexe 03 : La Composition des milieux de culture utilisés

1. Gélose Païrd Parker : PH=7

- | | |
|---------------------|-----|
| - Tryptone | 10g |
| - Extrait de viande | 30g |
| - Extrait de levure | 10g |
| - Glucose | 20g |

2. Gélose nutritive :

Utilisation

Milieu d'isolement courant

Composition

- | | |
|----------------------|-------|
| - Extrait de viande | 1.0g |
| - Extrait de levure | 2.0g |
| - Peptone | 5.0g |
| - Chlorure de sodium | 5.0g |
| - Agar | 15.0g |
| - ph | 7.4 |

3. Chapman (gélose)

Annexes

Utilisation

Isolement les *Staphylococcus*

Composition

- Peptone	10.0g
- Extrait de viande de bœuf	1.0g
- Chlorure de sodium	75.0g
- Mannitol	10.0g
- Rouge de phénol	0.025
- Agar	15.0g
- ph	7.4

4. Cœur-cervelle

Utilisation

Milieu polyvalent riche, utilisé pour la coagulase et la DNase des *staphylococcus*

Composition

- Protéose-peptone	10.0g
- Infusion de cervelle de veau	12.5g
- infusion de cœur de bœuf	5.0g
- Glucose	2.0g
- Chlorure de sodium	5.0g
- hydrogénophosphate de sodium	2.5g

5. T.S.E (liquide de dilution)

- Caséine peptone	1g
- Na Cl	8.5
- Eau	1000ml
- pH : 7	

6. Bouillon nutritif

- Tryptone	10.0g
- Extrait de viande	5.0g
- Chlorure de sodium	5.0g
- pH du milieu prêt -à- l'emploi à 25C° : 7.2 ± 0.2	

Annexes

7. Eau physiologique

- Chlorure de sodium	8.5g
- Peptone	0.5g
- Eau distillée	1000ml
- pH=7	
- Autoclavage : 120C° pendant 20 minutes	

8. 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 04 :

Coloration de Gram

La coloration de Gram, qui permet de différencier les micro-organismes selon la structure de leur paroi, est la première étape d'identification bactérienne (**Céline, 2002**).

Expérimentalement, nous avons utilisé le test de coloration de Gram en plusieurs étapes, selon le protocole suivant : - effectuer un frottis, - le fixer à la chaleur, - recouvrir de Cristal violet (colorant) pendant 1 minute, puis rincer à l'eau distillé, - recouvrir de lugol pendant 1 minute, puis rincer à l'eau distillé, - décolorer à l'aide d'un éthanol pendant 40 secondes puis rincer à l'eau distillé,- contre-colorer à fuschine pendant 1 minute , puis rincer à l'eau distillé.

Après séchage à l'air, les bactéries sont observées au microscope optique à l'aide d'un objectif à immersion (grossissement X 100).

Lecture

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

الخلاصة

وكثيراً ما تلوث المكورات العنقودية الذهبية اللبن من البقرة المصابة بالتهاب الضرع، كما أنها ثاني عامل مسبب للتسمم الغذائي في الجزائر التي لا يزال عدد حالاتها غير معروف. في هذا السياق، ويهدف هذا العمل إلى تقدير عدد من الناس تناول $(5 \log \text{ UFC/m}) \leq$

في نموذج مدينة "عين الأرباء" ولاية عين تموشنت. أظهرت النتائج انتشار بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية من 65% بتركيزات تتراوح في تم استخدام هذه $10 \log 3.301$ ، $10 \log 0.699$ العينات التي تم تحليلها بعد الحصاد بيانات الاستهلاك، تم تحديد معايير النمو والمقاومة للحرارة القيم لنمذجة تركيز البكتيريا العنقودية الذهبية في كل من زمن التخزين ودرجة الحرارة. بعد محاكاة مونت كارلو مع الأخذ بعين الاعتبار سلوك المستهلكين في مدينة عين الأرباء والتركيزات المقدرة في ظروف مختلفة، أظهرت النتائج أن المكورات العنقودية الذهبية يمكن أن تطور وتصل في وقت الاستهلاك. في الواقع، يتعرض 192 نسمة لهذه التركيزات التي تعتبر سامة. على مستوى المستهلك، تتطلب الوقاية $\log \text{ CFU} / 5$ إلى تسخين الحليب عند درجة حرارة 70 درجة مئوية أو أعلى. بالإضافة إلى ذلك، على مستوى المزرعة، تتطلب الوقاية تنفيذ برنامج عمل ضد التهاب الضرع البقري، والحفاظ على الحليب في درجة حرارة التبريد، وكذلك الاحترام الصارم لقواعد النظافة أثناء المناولة. في المزرعة وفي مصانع الألبان للحد من عدد البكتيريا الذهبية الموجودة في الحليب.

الكلمات المفتاحية: حليب البقر الخام، المكورات العنقودية الذهبية، تقييم المخاطر الميكروبيولوجية، التسمم الغذائي

Résumé :

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 dont le nombre de TIA reste sous estimé. Dans ce contexte, ce travail vise à estimer le nombre de personnes ingérant $\geq 5 \log$ dans une ville modèle « Ain El Arbaa » wilaya d'Ain Témouchent. Les résultats montrent une prévalence de *S. aureus* de 65% avec des concentrations varie entre 0,699 \log_{10} et entre 3,301 \log_{10} dans les échantillons analysés. Après récolte de données de consommations, les paramètres de croissance et de thermorésistance ont été déterminés. Ces valeurs étaient utilisées pour modéliser la concentration de *S. aureus* à chaque temps et température de stockage. Après simulation de Monte Carlo tenant compte le comportement de consommateurs de la ville d'Ain El Arbaa et les concentrations estimés à différentes conditions, les résultats ont montré que *Staphylococcus aureus* peut se développer et atteindre 5 $\log \text{ UFC/mL}$ au moment de la consommation. En effet, 192 habitants sont exposés à ces concentrations jugées toxiques. Chez le consommateur, la prévention exige le chauffage de lait à une température de 70°C ou plus. Par ailleurs, au niveau de la ferme, la prévention 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 aureus*, évaluation du risque microbiologique, intoxication alimentaire.

Summary:

Staphylococcus aureus often contaminates the milk from a cow with mastitis, also it is the second causative agent of food poisoning in Algeria whose number of TIA remains underestimated. In this context, this work aims to estimate the number of people ingesting $\geq 5 \log$ in a model city "Ain El Arbaa" wilaya of Ain Témouchent. The results show a prevalence of *S. aureus* of 65% with concentrations varying between 0.699 \log_{10} and between 3.301 \log_{10} in the samples analyzed. After harvesting consumption data, growth and heat resistance parameters were determined. These values were used to model the concentration of *S. aureus* at each storage time and temperature. After Monte Carlo simulation taking into account the behavior of consumers in the city of Ain El Arbaa and the concentrations estimated at different conditions, the results showed that *Staphylococcus aureus* can develop and reach 5 $\log \text{ CFU} / \text{mL}$ at the time of consumption. In fact, 192 inhabitants are exposed to these concentrations deemed toxic. At the consumer level, prevention requires the heating of milk at a temperature of 70 ° C or higher. In addition, at the farm level, prevention requires the implementation of an action program against bovine mastitis, the maintenance of milk at refrigeration temperature, as well as the strict respect of hygiene rules during handling. on the farm and at the dairy to limit the number of *S. aureus* present in the milk.

Key words: raw cow's milk, *Staphylococcus aureus*, microbiological risk assessment, food poisoning.