

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

Détermination de la contamination microbienne du lait cru par *E.coli* à la région de Constantine

Présenté Par :

- 1) Mr : BEHLOUL Noureddine
- 2) Melle : SAIDANI Dounya Zed

Devant le jury composé de :

Dr : ILIES Faiza	M C A	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Président
Dr : ABDELLAOUI Hadjira	M A A	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examineur
Dr : Y.AHMED Ammar Ouadah	M C B	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidés et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promotrice Mme Y.AHMED AMMAR OUADAH de nous avoir encadrés.

Avec sa cordialité franche et coutumière, on le remercié pour sa patience et sa gentillesse, pour ces conseils et ces orientations clairvoyantes qui nous guidés dans la réalisation de ce travail.

Chaleureux remerciement.

Nous remercions :

Dr : ILIES Faiza de nous avoir fait l'honneur de présider notre travail.

Dr : ABDELLAOUI Hadjira d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner notre projet.

*A tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie à AIN
TEMOUCHENT pour nous avoir guidé et conseillé.*

A tout le personnel de la bibliothèque de l'université Belhadj Bouchaib à ain Temouchent.

*Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont
participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.*

Dédicaces

Avant tout je remercie notre dieu le tout puissant

Je dédie ce modeste travail :

A celui qui a sacrifié sa vie et son temps pour que je sois arrivé là, à l'homme qui m'a
soutenu,
orienté et guidé vers le bon chemin tout au long de ma vie et durant mon cycle à fin de me
voire

enfin arriver à ce stade, **A mon chère père : BOUALEM.**

A celle qui m'a donné un jour la lumière de la vie, à la femme la plus respectueuse, la plus
belle, à celle qui a beaucoup donné, **à ma très chère mère : MALIKA.**

A mes chères tantes : YAMINA, MBARKA, NACERA, MABROUKA.

A ma sœur : RABIA.

A mes cousins : abdo, mido, yoyou.

A ma cousine : chaima.

A mon binôme : Dounya zed

A ma femme : Rym

A tous mes amis : Marouane, Islem. Rami. Khatib , Abdelkader, Hakim

Farouk, Mouloud.

A tous ceux qui m'aiment.

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents, que DIEU les bénisses

Mes chers (es) frères et sœurs

A mon binôme Nouredine

A tous mes amis

Dounya zed

Résumé

Le lait est un produit à haute valeur nutritive et occupe une place importante au niveau de la ration de la population algérienne. Il constitue un milieu favorable pour les microorganismes .provenant souvent suite à un manque d'hygiène. En général, Ils peuvent survenir avant la traite, au moment de la traite, pendant le transport ou lors de la transformation. Dans la présente étude qui s'est déroulé dans la wilaya de Constantine, Nous avons analysé 45 échantillons prélevés au niveau de 3 fermes. Les résultats montrent que la majorité des échantillons sont contaminés par les coliformes fécaux soit un taux de 87% dont 100% sont des *E coli*. L'antibiogramme a révélé des taux de résistance assez élevés pour certains antibiotiques tels que l'ampicilline (49,15%), la céfoxitine (48,32%) et l'amoxicilline (46,19%). En revanche, la tétracycline et l'amoxicilline acide calvulanique ont enregistré des taux de résistance plutôt faibles avec 13,17% et 12,3% respectivement, voire très faibles pour la cefotaxime (6,49%) et la céfixime (7,33%). Aucune résistance n'a été observée pour gentamicine, amikacine, tobramicine, ceftriaxone et chloronphenicol.

Mots clés : lait cru, contamination bactérienne, *E.coli*, résistance aux antibiotiques.

Abstract

Milk is a product with high nutritional value and occupies an important place in the diet of the Algerian population. It constitutes a favorable environment for microorganisms .provenant often following a lack of hygiene. In general, they can occur before milking, at the time of milking, during transport or during processing. In the present study, which took place in the wilaya of Constantine, we analyzed 45 samples taken from 3 farms. The results show that the majority of samples are contaminated with fecal coliforms, ie a rate of 87% of which 100% are *E coli*. The antibiogram revealed fairly high resistance rates for some antibiotics such as ampicillin (49.15%), cefoxitin (48.32%) and amoxicillin (46.19%). In contrast, tetracycline and calvulanic acid amoxicillin recorded rather low resistance rates with 13.17% and 12.3% respectively, or even very low for cefotaxime (6.49%) and cefixime (7.33 %). No resistance was observed for gentamicin, amikacin, tobramicin, ceftriaxone and chloronphenicol.

Keywords: raw milk, bacterial contamination, *E.coli*, antibiotic resistance.

المخلص

الحليب منتج ذو قيمة غذائية عالية ويحتل مكانة مهمة في النظام الغذائي للشعب الجزائري. إنه يشكل بيئة مواتية للكائنات الحية الدقيقة. غالبًا ما يتبع العهد نقص النظافة. بشكل عام، يمكن أن تحدث قبل الحلب أو وقت الحلب أو أثناء النقل أو أثناء المعالجة. في هذه الدراسة التي أجريت بولاية قسنطينة، قمنا بتحليل 45 عينة مأخوذة من 3 مزارع. بينت النتائج أن غالبية العينات ملوثة بالبكتيريا القولونية البرازية، أي بنسبة 87% منها 100% هي *E coli*. أظهر المضاد الحيوي معدلات مقاومة عالية إلى حد ما لبعض المضادات الحيوية مثل الأمبيسيلين (49.15%) والسيفوكسينين (48.32%) والأموكسيسيلين (46.19%). في المقابل، سجل التتراسيكلين وحمض الكالفولانتيك أموكسيسيلين معدلات مقاومة منخفضة إلى حد ما بنسبة 13.17% و 12.3% على التوالي، أو حتى منخفضة جدًا للسيفوتاكسيم (6.49%) والسيفيكسيم (7.33%). لم يلاحظ أي مقاومة للجنتاميسين، الأميكاسين، التوبراميسين، سيفترياكسون والكورونفينيكول.

الكلمات المفتاحية: الحليب، التلوث الجرثومي، الإشركية القولونية، مقاومة المضادات الحيوية.

Liste des abréviations

AM : l'ampicilline

AMC : l'acide amoxi-clavinique

AMX : amoxicilline

AK : amikacine

C : chloronphenicol

CFM : cefixime

CTR : ceftriaxone

CTX : cefotaxime

CX : cefoxitine

E.coli : *escherichia coli*

GEN : gentamicine

SHU : le syndrome hémolytique et urémique

TE : tétracycline

TOB : tobramycine

TSE : l'eau tamponnée saline

UFC/ml : unité formant colonie ou unité formatrice de colonie par 1 millilitre

VRBL : milieu gélosé à la bile, au cristal violet, au rouge neutre et au lactose

Liste des tableaux

Tableau 01 : composition nutritionnelle de lait de différentes espèces animales.....	04
Tableau 02 : Composition vitaminique moyenne du lait.....	06
Tableau 03 : Composition minérale du lait.....	07
Tableau 04 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache et chèvre	08
Tableau 05 : Flore originelle du lait cru de vache	11
Tableau 06 : Principaux caractères permettant la différenciation des espèces du genre Escherichia (<i>E. coli</i> , <i>E. hermannii</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. fergusonii</i>).....	15
Tableau 07 : Nombre d'échantillons par station d'élevage.....	21
Tableau 08 : Spécifications microbiologiques du lait cru (seuils d'acceptabilité) en vigueur en Algérie.....	24
Tableau 09 : Noms, abréviations et doses des antibiotiques utilisés.....	26
Tableau 10 : Diamètres critiques.....	27

Liste des figures

Figure 1 : Composition de la matière grasse du lait.....	05
Figure 2 : Escherichia coli en microscopie électronique, photo	16
Figure 3 : le matériel de laboratoire utilisé pour la réalisation de travail.....	22
Figure 4 : ensemencement de la suspension bactérienne dans les micro-tubes pour incubation 24 h à 37°C.....	25
Figure 5 :l'antibiogramme.....	27
Figure 6 :Répartition des échantillons étudiés après le dénombrement bactériologique.....	29
Figure 7 : présentation d'identification biochimique des souches d'E.coli.....	29
Figure 8 : cultures positives d' <i>E.coli</i> sur milieu VRBL	30
Figure 9 : résultats d'antibiogramme après incubation.....	31
Figure 10 : profils de résistance aux antibiotiques d' <i>E coli</i>	31

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 01

Partie synthèse bibliographique

1. Définition du lait 04

2. Importance du lait..... 04

3. Composition du lait 04

 3.1. L'eau 05

 3.2. Matière grasse..... 05

 3.3. Les protéines..... 05

 3.4. Les vitamines 06

 3.5. Les enzymes 07

 3.6. Glucides 07

 3.7. Minéraux..... 07

4. Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques 08

 4.1. Propriétés physico-chimiques du lait 08

 4.1.1. Le pH..... 08

 4.1.2. Acidité du lait..... 09

 4.1.3. La densité 09

 4.1.4. Masse volumique 09

 4.1.5. Point de congélation..... 09

 4.1.6. Point d'ébullition..... 10

 4.2. Qualité organoleptique du lait..... 10

 4.2.1. La couleur..... 10

 4.2.2. L'odeur 10

 4.2.3. La saveur 10

5. Les caractéristiques microbiologiques de lait 10

5.1. Flore originale.....	10
5.2. La flore de contamination	11
5.2.1. Flore d'altération.....	12
5.2.2. Flore pathogène	13
6. Données générales sur <i>E.coli</i>	14
6.1. L'espèce <i>Escherichia coli</i>	14
6.2. Habitat	16
6.3. Pouvoir pathogène chez l'homme	16
6.4. Caractères bactériologiques	17
6.5. Diagnostic différentiel	17
6.6. La résistance bactérienne.....	17
6.6.1. Résistance naturelle.....	18
6.6.2. Résistance acquise	18
6.7. Sensibilité aux antibiotiques.....	18
6.7.1. β -lactamines	19
6.7.2. Aminosides.....	19
6.7.3. Fluoroquinolones	19
6.7.4. Autres	19

Partie expérimentale

1. Echantillonnage.....	21
1.1. Lieu et saison de prélèvement.....	21
1.2. Nombre de prélèvements	21
2. Matériel et méthodes	21
2.1. Matériel.....	21
2.2. Technique de prélèvement	22
3. Analyses microbiologiques	22
3.1. Préparation de la suspension mère et dilutions décimales.....	22
3.2. Dénombrement des enterobactériaceae.....	23
3.3. Identification biochimique	25
3.4. Antibiogramme	25
3.4.1. Préparation de l'inoculum	26
3.4.2. Ensemencement.....	26
3.4.3. Lecture.....	27

Résultats et discussion	29
Conclusion	35
Recommandations	37
Références bibliographiques	39
Annexes	

Introduction

Introduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de à 120 L/an / habitant, cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens. Il apporte la plus grande partie de protéines d'origine animale. Le lait, de par sa composition, est un aliment très riche : il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau. Sur le plan alimentaire, il est à la base de nombreuses préparations culinaires traditionnelles très ancrées dans l'histoire (jben, klila, d'hen, l'ben, raïb.) (**Mansour L, 2015**).

Le lait, qu'il soit frais ou transformé, est un excellent milieu de culture pour plusieurs microorganismes en particulier *Escherichia coli*, la contamination du lait cru peut provoquer l'altération des produits laitiers ou les infections/intoxications chez les consommateurs (**M. Kalandi et al ,2015**).

La présente étude vise à évaluer dans un premier temps la contamination microbienne par *E.coli* du lait cru prélevé dans des fermes situées dans la région de Constantine et estimer par la suite la résistance aux antibiotiques des souches isolées.

L'étude réalisée est scindée en deux parties : Une synthèse bibliographique englobant des généralités sur la composition et la qualité du lait ainsi, une partie expérimentale pour l'appréciation de la qualité microbiologique du lait cru (évaluer la contamination microbienne par *E. coli*).

Partie

Synthèse

bibliographique

1. Définition du lait :

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères après la naissance du jeune. C'est un liquide de composition complexe, blanc et opaque, d'une saveur douce, d'une réaction ionique (pH) voisin de la neutralité. La fonction naturelle du lait est d'être un aliment exclusif des jeunes mammifères pendant la période critique de leur existence, après la naissance, alors que la croissance est rapide et qu'il ne peut lui être substitué d'autres aliments. La grande complexité de la composition du lait répond à cette fonction. **(Kizi N et Makdoud S, 2014).**

2. Importance du lait :

Le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de la population mondiale. En effet, ce produit, irremplaçable pour les nourrissons, est aussi vital pour les autres tranches d'âge, du fait de son apport important en nutriments de base (protides, lipides et glucides) et sa richesse en éléments minéraux, notamment le calcium et en vitamines. Cette matière alimentaire, source de protéines animales relativement bon marché et ayant une bonne digestibilité connaît une hausse croissante de sa demande, soit en tant que produit commercialisé à l'état de lait frais ou transformé en produits dérivés (fromages, beurre, laits fermentés, crèmes glacées...etc.).**(Ghislaine A, 2018).**

3. Composition du lait :

La composition du lait est variable selon : les espèces animales et les races, la période de la lactation, de l'alimentation et l'âge. **(Tableau I).**

Tableau N°01 : composition nutritionnelle de lait de différentes espèces animales. (Belarbi M, 2014).

Animaux	Eau(%)	Matière grasse%	Protéines(%)	Glucide(%)	Minéraux(%)
Vache	87,5	3,7	3,2	4,6	0,8
Chèvre	87,0	3,8	2,9	4,4	0,9
Brebis	81,5	7,4	5,3	4,8	1,0
Chamelle	87,6	5,4	3,0	3,3	0,7
Jument	88,9	1,9	2,5	6,2	0,5

3.1. L'eau :

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides. **(Bouزيد A et Labidi H, 2015).**

3.2. Matière grasse :

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0,1 à 10µm et est essentiellement constituée de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acide gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés. **(Sehli S, 2016).**

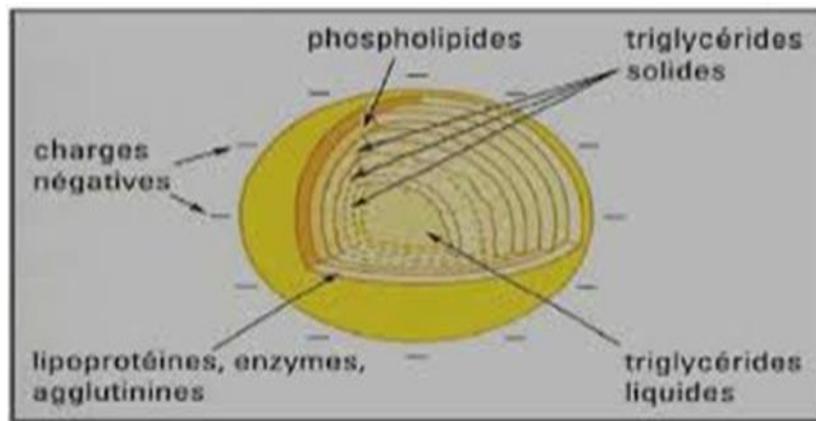


Figure 1 : Composition de la matière grasse du lait. **(Belarbi M ,2014)**

3.3. Les protéines :

Les protéines représentent 95% des matières azotées et sont constituées soit des AA (β lactoglobuline, α lactalbumine), soit des AA et d'acide phosphorique (la caséine α et β).

Les 5% restants sont constitués de peptone et de l'urée, le classement des protéines se fait selon deux catégories :

- ✓ Leur solubilité dans l'eau.
- ✓ Leur stabilité **(Bouarissa R et Herizi L ,2019).**

3.4. Les vitamines :

Le lait contient des vitamines liposolubles et des vitamines hydrosolubles :

- Les vitamines liposolubles sont : vitamines A, D, E et K ; ces vitamines sont soit associées à la matière grasse soit au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie.
- Les vitamines hydrosolubles du groupe B et vitamine C ; ce sont les vitamines de la phase aqueuse du lait. (Sassi H ,2019).

La teneur du lait en vitamine C est relativement faible. Les teneurs en vitamines dépendent beaucoup de l'alimentation. Les vitamines du groupe B synthétisées par les bactéries du rumen sont stables par rapport à d'autres vitamines. Les vitamines liposolubles sont seules d'origine alimentaire. (Sassi H, 2019).

Tableau N° 02 : Composition vitaminique moyenne du lait. (Sehli S ,2016).

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamine liposolubles	
Vitamine A (+carotènes)	40µg/100ml
Vitamine D	2.4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	2µg/100ml
Vitamines Hydrosolubles	
Vitamine C (acide ascorbique)	2 mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0.45µg/100ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350µg/100ml
Acide folique	5.5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3.5 µg/100ml

3.5. Les enzymes :

Les enzymes sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait, dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile (**Bouarissa R et Herizi L, 2019**).

3.6. Glucides :

L'hydrate de carbone principal du lait est le lactose qu'est synthétisé dans le pis à partir du glucose et du galactose. Bien que le lactose soit un sucre, il n'a pas une saveur douce.

Le lactose est le constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, est celui-ci est en grande partie produit par le foie. Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache. Le Lactose est un sucre spécifique du lait. (**Bouarissa R et Herizi L, 2019**).

3.7. Minéraux :

Le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux sont : calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate. (**Bouarissa R et Herizi L, 2019**).

Tableau N°03 : Composition minérale du lait (**Bouzid et Labidi H, 2015**).

Eléments minéraux	Concentration (mg.kg-1)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

4. Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques :

4.1. Propriétés physico-chimiques du lait :

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le pH et l'acidité. (**Tableau 4**)

Tableau N°04 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache et chèvre. (**Belarbi M, 2014**).

Composition	Vache	Chèvre
Energie	705	600-750
Densité du lait entier à 20°C	1.028 – 1.033	1.027 – 1.035
Point de congélation (C°)	-0.520 -0.550	-0.550 – 0.583
pH-20°C	6.60 – 6.80	6.45 – 6.60
Acidité titrable (°Dornic)	15 – 17	14 – 18
Tension superficielle du lait entier à 15 °C (dynes cm)	50	52
Conductivité électrique à 25 ° C (siemens)	45 x 10-4	43-56 x 10-4
Indice de réfraction	1,45-1,46	1,35-1,46

4.1.1. Le pH :

Les différents laits ont une réaction ionique voisine de la neutralité. Le pH est compris entre 6,4 et 6,8. C'est la conséquence de la présence de la caséine et des anions phosphorique et citrique, principalement. Le pH n'est pas une valeur constante. Il peut varier au cours du cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation. Cependant, l'amplitude des variations est faible dans une même espèce. Le pH du lait change d'une espèce à l'autre, étant donné les différences de la composition chimique, notamment en caséines et en phosphates. (**Bouزيد A et Labidi H, 2015**).

4.1.2. Acidité du lait :

L'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques et de l'acidité développée, due à l'acide lactique formé dans la fermentation lactique. Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (°D). $1^{\circ}\text{D} = 0.1\text{g}$ d'acide lactique par litre de lait. L'acidité du lait doit être comprise entre 14 et 18 °D. Un lait frais a une acidité de 18° D (**Kourghli S et Hadj ammer S, 2018**).

4.1.3 La densité :

La densité d'un liquide est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume d'eau. Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. (**Belarbi M, 2014**).

4.1.4. Masse volumique :

Le lait contient différents éléments dispersés (micro-organismes) globules gras, micelle de caséine qui peuvent être séparés selon leur masse volumiques.

La masse volumique du lait est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de lait divisée par son volume. La masse volumique, le plus souvent exprimé en grammes par millilitre ou en kilogrammes par litre, est une propriété physique qui varie selon la température, puisque le volume d'une solution varie selon la température. (**Belarbi M, 2014**).

4.1.5. Point de congélation :

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre $-0,54^{\circ}\text{C}$ et $-0,55^{\circ}\text{C}$ (**Mathieu, 1998**). La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ 0.0055°C . Le lait se congèle à -0.55°C . C'est la caractéristique la plus constante du lait et sa mesure est utilisée pour détecter le mouillage. Si le point de congélation est supérieur à -0.53°C on suspectera une addition d'eau. (**Belarbi M, 2014**).

4.1.6 .Point d'ébullition :

Il est défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la solution est égale à la pression appliquée. Il est légèrement supérieur à celui de l'eau, soit : 100.5°C (Belarbi M , 2014).

4-2 .Qualité organoleptique du lait :

4.2.1. La couleur :

L'opacité du lait est due à sa teneur en particules suspendues de matières grasses, de protéines et de certains minéraux, la couleur varie du blanc au jaune en fonction de la coloration (teneur en carotène) de la matière grasse. (Kigmou A, 2019).

4.2.2. L'odeur :

L'odeur est une caractéristique du lait, du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation, à la conservation. (Kourghli S et Hadj ammer S, 2018).

4.2.3. La saveur :

Le lait a une saveur douceâtre, faiblement sucrée en raison de la richesse en lactose dont le pouvoir sucrant est inférieur à celui du saccharose. (Wendmisida V, 2013).

5. les caractéristiques microbiologiques du lait :

Le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. Car il contient deux flores microbiennes : une flore originale et flore de contamination.

5.1. Flore originale

Il s'agit essentiellement de germes saprophytes de la mamelle et des canaux galactophores : Microcoques, Lactobacilles et Streptocoques lactiques.

D'autre micro-organisme peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes du point de vue sanitaire. Il s'agit d'agents de mammites c'est à dire d'infection du pis : *Streptococcus pyogènes*, *Corynébacterium pyogènes*, *Staphylococcus aureus*. (Bouarissa R et Herizi L, 2019).

Tableau N°05 : Flore originelle du lait cru de vache. (Bouzid A et Labidi H, 2015).

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

5.2. La flore de contamination :

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène capable de provoquer des maladies chez les personnes qui consomment ces produits laitiers. On considère comme flore de contamination d'altération et pathogène du lait l'ensemble des microorganismes qui s'ajoutent au lait extrait du pis de la vache. Il semble que la contamination à l'étable soit la plus importante. (Boudechiche Y et Dahmar S, 2019).le lait se contamine par des microbes d'origine diverses :

Fèces et téguments de l'animal : Coliformes, clostridies, et éventuellement des entéobactéries pathogènes (salmonella).

Sol : Streptomyces, bactéries sporulées, spores fongiques, listéria.

Litières et aliments : flore banale variée, en particuliers, Lactobacilles, Clostridium butyriques (ensilages).

Air et eau : flore diverse dont Pseudomonas, bactéries sporulées...

Équipements de traite et de stockage du lait : flore lactique, microcoque, Lactobacilles, Streptocoques, Leuconostoc, levure, cette flore sera souvent spécifique d'une usine à une autre.

Manipulateurs : *Staphylocoques* dans le cas de traite manuelle.

Vecteurs divers : insectes en particulier, flore de contamination fécale. (**Bouarissa R et Herizi L, 2019**).

5.2.1.Flore d'altération :

Incluse dans la flore de contamination, la flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduira la vie de tablette du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, les coliformes, soit principalement les genres *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bacillus sp*.et *Clostridium sp*. (**Boudechiche Y et Dahmar S, 2019**).

-Les coliformes :

En microbiologie alimentaire, on appelle <coliformes> les **entérobactéries** fermentant le lactose avec production de gaz à 30°C. Cependant, lorsqu'ils sont en nombre très élevé, les coliformes peuvent provoquer des intoxications alimentaires. Le dénombrement des coliformes a longtemps été considéré comme un indice de contamination fécale. Comme les **entérobactéries** totales, ils constituent un bon indicateur de qualité hygiénique et certaines levures et moisissures. (**Kizi N et Makdoud S, 2014**).

-Les levures :

Bien que souvent présentes dans le lait, elles s'y manifestent rarement. Peu d'entre elles sont capables de fermenter le lactose. Le genre **Torulopsis**, productrices de gaz à partir du lactose, supportent des pressions osmotiques élevées et sont capables de faire gonfler des boîtes de lait concentré sucré.

Les levures associées au lait sont les espèces suivantes : *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir* (**kizi N et Makdoud S, 2014**).

-Les moisissures :

Ils sont des champignons microscopiques. Ce sont des eucaryotes hétérotrophes, ils sont obligés de prélever le carbone et l'azote nutritifs de la matière grasse, le sucre et les protéines. D'une façon générale, les aliments sont des substrats très favorables à leur développement, ces

germes peuvent y causer des dégradations par défaut d'apparence, mauvais goût, ou plus gravement production de mycotoxines. (Kizi N et Makdoud S, 2014)

-Les *Streptocoques* (fécaux), les *Streptocoques* lactiques et les *Lactobaciles* :

Les Streptocoques sont des témoins de contamination fécale, entraînent très souvent une très forte protéolyse. Les Streptocoques lactiques et les lactobacilles (qui sont de la flore indigène du lait) sont recherchés pour la fabrication du fromage, peuvent en grande abondance, acidifier trop rapidement le lait ce qui provoque la coagulation. (Belarbi M, 2014).

5.2.2. Flore pathogène :

La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, et elle fait, alors, suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux) ou bien liées à l'Homme (Kizi N et Makdoud S, 2014).

-Salmonelles

Ces entérobactéries lactose-, sont essentiellement présentes dans l'intestin de l'Homme et des animaux. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, leur survie et leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et 40°C. Elles survivent aux basses températures et résistent à la réfrigération et à la congélation. En revanche, elles sont détruites par la pasteurisation (72°C pendant 15 secs). Elles sont capables de se multiplier dans une gamme de pH de 5 à 9, mais sont sensibles à la fermentation lactique . (Kizi N et Makdoud S, 2014).

-Listeria

Les bactéries du genre *Listeria* se présentent sous la forme de petits bacilles de forme régulière arrondis aux extrémités et ne formant ni capsule ni spore. Elles sont à Gram positif. Leur croissance est possible entre 0 °C et 45 °C (température optimale : 30°C- 37°C), pour des pH compris entre 4,5 et 9,6. Elles sont mobiles grâce à des flagelles péritriche.

Listeria monocytogenes peut être considérée comme un agent pathogène alimentaire « parfait » car elle est ubiquiste, très résistante aux conditions extrêmes (température, pH...) et

surtout elle est capable de se développer aux températures de réfrigération des aliments. (**Kizi N et Makdoud S, 2014**).

-Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus est le micro-organisme pathogène le plus souvent incriminé dans des cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) par le lait et les produits laitiers. Elle déclenche des nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et maux de tête voire des conséquences plus graves chez les jeunes enfants, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées. La contamination du lait cru à la production est due à la flore présente dans la mamelle en cas d'infection, de la flore décontamination apportée par le milieu extérieur au cours des différentes manipulations. (**Belarbi M, 2014**).

-Les clostridium sulfite-réducteurs

Ce sont des bâtonnets sporulés, mobiles, Gram+ anaérobies stricts, présentent généralement dans le sol et l'eau, mais aussi dans le tube digestif Humain et animal, le pouvoir pathogène est dû à la synthèse des toxines. (**Kizi N et Makdoud S, 2014**).

6. Données générales sur *E.coli* :

6.1. L'espèce *Escherichia coli* :

La bactérie *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois en 1885 après avoir été isolée dans des selles de nourrissons par l'allemand Theodor Escherich. Son nom actuel lui est ensuite donné en 1919 par Castellani et Chambers.

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des **Enterobacteriaceae**. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aéroanaérobies facultatifs qui peuvent fermenter les nitrates et qui ne possèdent pas d'oxydase.

Le genre **Escherichia** regroupe cinq espèces : *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris*. Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques particulières, permettant de les différencier. (**Fanny S, 2011**)

Tableau N°06 : Principaux caractères permettant la différenciation des espèces du genre *Escherichia* (*E. coli*, *E. hermanii*, *E. vulneris*, *E. fergusonii*). (Fanny S, 2011)

Caractéristiques	<i>E. coli</i> non O157 :H7	<i>E. coli</i> O157 :H7	<i>E. hermanii</i>	<i>E. vulneris</i>	<i>E. fergusonii</i>
Indole	+	+	+	-	+
Pigment jaune	-	-	+	(+)	-
LDC	(+)	(+)	-	+	+
ODC	+/-	+/-	+	-	+
β-xylosidase	-	-	-	+	-
β-glucuronidase	(+)	-	-	-	-
Sorbitol	+	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	+	-
Adonitol	-	-	-	-	+

Escherichia coli fait partie de la microflore commensale intestinale de l'homme et de nombreux animaux à sang chaud. Il représente près de 80% de la microflore aérobie. A ce titre *Escherichia coli*, et plus largement les coliformes thermotolérants, sont recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale ; leur présence fournit ainsi une indication sur une éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries pathogènes d'origine digestive (e.g. *Salmonella typhimurium*, *E. coli* O157 :H7...). (Fanny S, 2011).

On peut séparer les *E. coli* pathogènes en deux catégories, les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC) et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC). Chacune de ces catégories contient différentes sous-catégories provoquant différents symptômes. Les *E. coli* peuvent être classées de plusieurs manières, notamment par pathotype (un groupe d'organismes de la même espèce causant les mêmes maladies) ou par groupe phylogénique.

Les différents pathotypes sont regroupés selon qu'ils sont causés par des pathogènes intestinaux
Les différents pathotypes sont regroupés selon qu'ils sont causés par des pathogènes ou extra
intestinaux (**Ségoène M, 2016**).

Il existe une grande diversité de souches d'*E.coli*. Cette diversité ainsi que la pathogénicité des souches sont dues à l'insertion de matériel génétique, que ce soit sous forme d'îlot de pathogénicité, de transposon, de bactériophage ou de plasmide. Ce matériel génétique incorporé peut contenir des gènes impliqués dans la virulence. La diversité *d'E.coli* est aussi due à des remaniements de l'ADN de la souche. (**Ségoène M, 2016**).

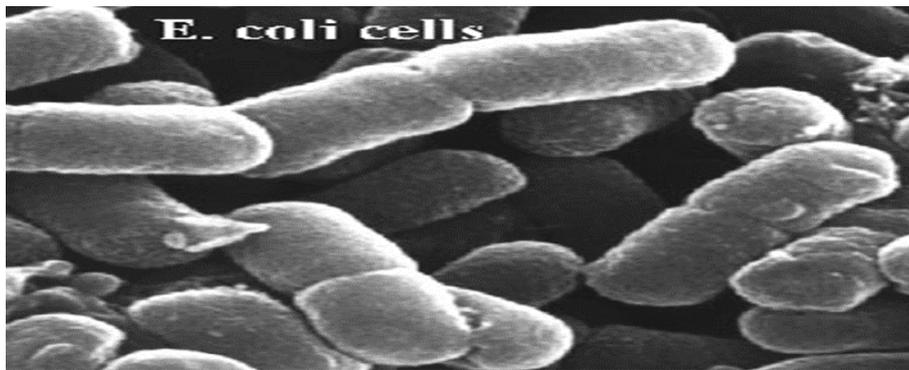


Figure 2 : *E. coli* en microscopie électronique, photo F. Sauvager / Université Rennes.

Le Docteur Danielle Clave (Expert biologiste –Bactériologie CHU TOULOUSE) a brièvement mentionné les caractéristiques des bactéries dans les points suivants :

6.2. Habitat :

E. coli fait partie de la flore digestive de l'homme et des animaux. C'est l'espèce prédominante de la flore fécale humaine aéro-anaérobie.

6.3. Pouvoir pathogène chez l'homme :

Bactérie ayant de nombreux facteurs de pathogénicité.

*Infection intestinale :

EPEC = autrefois.

ETEC = entérotoxique, turista.

EIEC = entéro-invasif, identique à Shigellose.

EHEC = entérohémorragique, diarrhées sanglantes, anémie hémolytique, thrombocytopénie et insuffisance rénale :

Le syndrome hémolytique et urémique SHU (O157 H7)

EAggEC = entéro-agrégatif

DAEC = *E. coli* à adhésion diffuse.

*Infection urinaire : 80 % des infections urinaires primitives.

*Suppuration à point de départ intestinal : pus appendicite, péritonite, cholécystite.....

*Septicémie :

1. après une infection urinaire ou digestive.

2. après « translocation intestinale » chez le sujet neutropénique.

*Méningite néo-natale : *E. coli* K1.

*Autres infections : pulmonaire, ostéo-articulaire

6.4. Caractères bactériologiques :

- **Caractères morphologiques :** Bacilles mobiles le plus souvent, à Gram -.

- **Caractères culturels :**

Aéro-anaérobies facultatifs.

Culture facile sur milieux ordinaires, lactosés.

Sur milieux solides après 18-24h les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre.

Pousse sur milieux sélectifs pour entérobactéries type Mac Conkey, Drigalski.

- **Caractères enzymatiques et biochimiques :**

Oxydase -, catalase +.

Glucose +, nitratase +.

6.5. Diagnostic différentiel :

* avec autres espèces du genre *Escherichia*.

* avec les *Shigella* : sont toujours LDC – et acétate -. Il existe des sérums agglutinants.

6.6. La résistance bactérienne :

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique. Les conditions d'activité d'un antibiotique sont de posséder une cible spécifique, de demeurer sous forme active, d'accéder à la cible et d'interagir efficacement avec elle en la désactivant. (Alpha A, 2013).

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise.

La résistance naturelle est programmée sur le génome et constante à l'intérieur du taxon ; elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce. Les résistances acquises sont quant à elles consécutives à des modifications de l'équipement génétique. **(Alpha A, 2013).**

6.6.1. Résistance naturelle :

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est essentiellement due à la présence de gènes chromosomiques ; elle est donc commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle peut être due à des particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible comme la présence d'une membrane externe chez les bactéries à Gram négatif les rendant naturellement résistantes aux antibiotiques de poids moléculaire élevé comme les glycopeptides. Elle peut être aussi due à des particularités métaboliques spécifiques : le bacille de la tuberculose par exemple n'est sensible qu'à un nombre restreint d'antibiotiques en raison de son métabolisme original. La résistance naturelle peut enfin être médiée par l'expression constitutive ou induite d'une enzyme d'inactivation ou par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis à vis de l'antibiotique. **(Alpha A, 2013).**

6.6.2. Résistance acquise :

Ce terme est utilisé pour désigner le résultat d'un processus permettant à des bactéries d'une espèce originellement sensible de devenir résistante à un ou plusieurs antibiotiques.

L'acquisition de ces résistances est déterminée par des modifications génétiques consécutives à des mutations ponctuelles ou à l'acquisition « de novo » de gènes de résistance exogènes.

La capacité de multiplication très rapide des bactéries favorise la sélection d'évènements génétiques favorables et la possibilité d'échange d'information même entre espèces lointaines leur conférant un très grand pouvoir d'adaptation aux contraintes du milieu. L'évolution des mécanismes de résistance aux antibiotiques, et notamment aux β lactamines illustre parfaitement ce phénomène. **(Alpha A, 2013).**

6.7. Sensibilité aux antibiotiques :

E. coli est naturellement sensible aux antibiotiques actifs sur les bacilles à Gram-

6.7.1.β-lactamines :

E. coli est classé dans le groupe 1. La résistance acquise résulte de l'évolution vers l'acquisition de pénicillinases, de céphalosporinases.

Acquisition d'une carbapénémase : exceptionnellement des souches d'*E.coli* peuvent acquérir une carbapénémase.

Les nouvelles recommandations dans les infections urinaires simples montrent l'intérêt du pivmécillinam par la réévaluation du taux de sensibilité de *E. coli* (<20%).

6.7.2. Aminosides :

E. coli est naturellement sensible aux aminosides.

Les variantes à petites colonies sont souvent résistantes aux aminosides.

6.7.3. Fluoroquinolones :

Les quinolones sont actives sur *E.coli*.

Le mécanisme de résistance acquise résulte le plus fréquemment d'une modification de cible.

Repérer si la souche a un profil sauvage ou une résistance acquise : les entérobactéries de profil sauvage sont S à l'acide nalidixique.

6.7.4. Autres :

Taux de sensibilité fort et stable pour fosfomycine-trométanol et nitrofurantoïne.

Partie

Expérimentale

1. Echantillonnage :

1.1. Lieu et saison de prélèvement :

Notre étude a été effectuée sur des prélèvements de lait cru provenant de troupeaux de bovins, appartenant à trois (03) stations d'élevage situées sur la périphérie de la wilaya de Constantine. L'âge des vaches varie entre 4 et 7 ans. La traite a été effectuée d'une manière mécanique.

Ce travail a été réalisé durant la période s'étalant du mois de Mars jusqu'au mois de Mai 2021.

L'étude bactériologique s'est déroulée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaires el khroub constantine.

1.2. Nombre de prélèvements :

La recherche bactériologique de coliformes fécaux spécifiquement les *E.coli* s'est portée sur un nombre de 45 échantillons de lait cru. (**Tableau n 07**).

Tableau N°07 : Nombre d'échantillons de lait cru par station d'élevage.

Station d'élevage	Ferme 1	Ferme 2	Ferme3	Le total
Nombre d'échantillons prélevés.	10	15	20	45

2. Matériel et méthodes :

2.1. Matériel :

-Pots de prélèvements stériles et gants d'examen.

-Coton hydrophile.

-Papier absorbant.

-Glacière avec pains de glace.

- Matériels de laboratoire : Flacons stériles, tubes à essai stériles, pipette pasteur, l'anse de platine, portoir, boîtes de pétri, les milieux de culture comme la gélose nutritive et le V.R.B.L(**Annexe04**) et l'huile de paraffine.

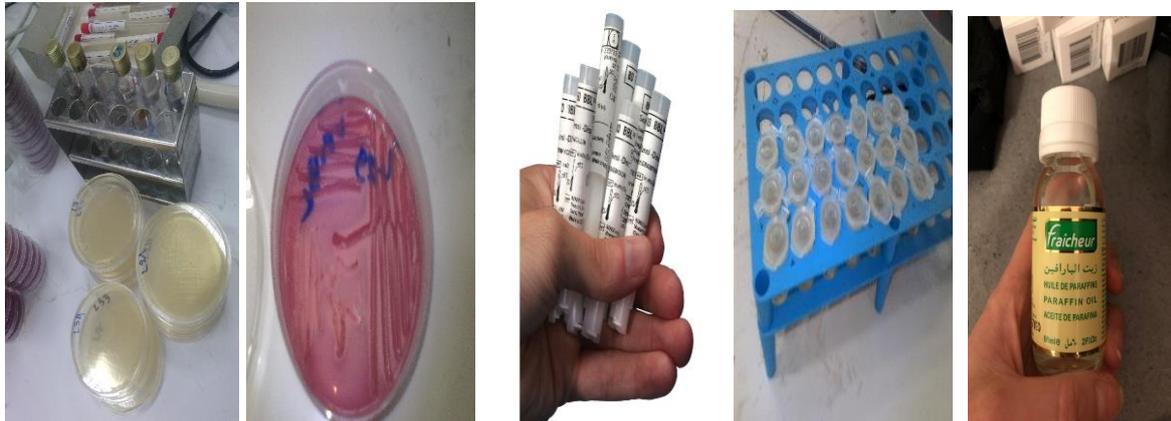


Figure 3 : le matériel de laboratoire utilisé Au cours de la partie pratique. **(Photos originales)**

2.2. Technique du prélèvement :

- ❖ Laver les mains et la mamelle de chaque vache avant la traite.
- ❖ Porter des gants stériles durant la traite.
- ❖ Eliminer les premiers jets de chaque quartier afin de réduire le nombre de bactéries présentes dans le canal de chaque trayon.
- ❖ Prélever d'abord les trayons les plus rapprochés, puis ceux les plus éloignés.
- ❖ Les échantillons sont transportés dans des flacons stériles, ils doivent être conservés dans une glacière à 5° C.
- ❖ En laboratoire, les cultures doivent être réalisées immédiatement, sinon, il faut ranger les échantillons dans un réfrigérateur à 4 ou 5° C.

3. Analyses microbiologiques :

Le but de ces analyses est la détection et le dénombrement des coliformes fécaux spécifiquement les *E.coli* rencontrés dans le lait cru.

3.1. Préparation de la suspension mère et dilutions décimales :

Introduire aseptiquement 1ml du lait cru (solution mère SM) dans un tube stérile, contenant 9ml de diluant d'eau tamponnée saline (TSE). Cette suspension constitue alors la dilution mère (D.M) qui correspond donc à la dilution (10^{-1}).

La recherche de ces micro-organismes est basée sur les normes de standardisation internationales.

3.2. Dénombrement des enterobacteriaceae :

Une boîte de pétri stérile reçoit 1 ml des différentes dilutions. Puis 15 ml de gélose standard. Le dénombrement des enterobacteriaceae se fait par technique d'ensemencement dans la masse, sur milieu gélosé à la bile, au cristal violet, au rouge neutre (V.R.B.L), coulé dans une boîte de pétri. Le milieu et l'inoculum de chaque boîte sont parfaitement homogénéisés par agitation délicate. Les boîtes sont laissées à la température du laboratoire jusqu'à solidification du milieu. Elles sont alors incubées à 37°C pendant 24h (**ISO 21528-2, 2004**).

Les colonies caractéristiques sont roses à rouge ou violettes avec ou sans halo de précipitation (**ISO 21528-2, 2004**).

L'ensemencement se fait en profondeur sur milieu gélosé à la bile, au cristal violet, au rouge neutre et au lactose (V.R.B.L), 15 ml sont coulés dans une boîte de pétri avec 1 ml de l'échantillon pour essai pour chaque dilution. Il faut ensuite mélanger soigneusement l'inoculum au milieu de culture et laisser le mélange se solidifier en posant les boîtes de pétri sur une surface fraîche et horizontale. Après solidification du mélange, il faut ajouter une couche d'environ 5 ml de milieu V.R.B.L refroidi afin d'empêcher l'étalement des colonies. Il faut laisser la seconde couche se solidifier et retourner les boîtes ainsi préparées ensuite incuber dans l'étuve réglée à 44°C pendant 24h (**ISO 08-060, 1996**).

-la lecture :

- Les colonies des fécaux comme les coliformes totaux apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé et de 0,5 mm de diamètre.

Compter toutes les colonies ayant poussées sur les boîtes en tenant compte les facteurs suivants :

- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies.
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

✓ Le dénombrement se fait selon la formule et les seuils d'acceptabilité (**Tableau 8**)

Tableau 08 : Spécifications microbiologiques du lait cru (seuils d'acceptabilité) en vigueur en Algérie (**Annexe 1**)

Paramètre microbiologique	Limites microbiologiques dans le lait cru (ufc (l) /g ou ufc/ml)	
	Min	Max
Coliformes thermotolérants	5.10 ² ufc/ml	5.10 ³ ufc/ml

Le calcul du nombre de microorganismes par millilitre du lait se fait selon la formule suivante :

$$[N] = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1 n_2) dV}$$

C : est la somme des colonies comptées dans la première dilution (au moins une des boîtes comptées contenait au moins 15 colonies).

V : volume de solution déposé (en général exprimé en ml).

N : nombre total des colonies dans toutes les boites.

n1 : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution (en général 2).

n2 : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution (en général 2).

d : facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

EX : **-Dilution 10⁻¹** : 150(1ere boîte) et 160 (2ème boîte).

-Dilution 10⁻² : 30 (1ere boîte) et 45(2ème boîte).

$$N = \frac{160+150+30+45}{(2+0,1*2)10^{-2}} = \frac{385}{2,2*10^{-2}} = 17,5 * 10^3 \text{ ufc/ml.}$$

On remarque que le nombre des coliformes fécaux trouvé dans le lait cru de vache (**17,5 * 10³ UFC/ml**) est supérieur à celle annoncé par la norme algérienne **5.10³ UFC/ml** (**Annexe 01**).

✓ Donc la contamination est satisfaisante.

3.3. Identification biochimique :

Les souches isolées ont été confirmées par les tests suivants :

-Galeries biochimiques API20E (*Biomérieux*)

Après purification, une colonie pure caractéristique, Gram négatif, mobile à l'état frais est transférée dans 5 ml d'eau distillée stérile, cette suspension bactérienne est introduite dans chaque micro-tube à l'aide d'une pipette pasteur stérile, avec la pointe appuyée à l'intérieur et sur les côtés pour éviter la formation de bulles. Pour certains caractères, les micros tubes sont remplis d'huile de paraffine après inoculation de la suspension pour assurer l'anaérobiose. Après 24h d'incubation à 37°C, des additifs sont ajoutés à quelques micro-tubes afin de compléter la lecture, dont l'interprétation se fait grâce à une grille de référence. (**Annexe 02et 03**).



Figure 4 : ensemencement de la suspension bactérienne dans les micro-tubes pour incubation 24 h à 37°C. (**Photos originales**).

3.4. Antibiogramme :

La sensibilité aux différents antibiotiques a été étudiée par diffusion en gélose Mueller Hinton, selon la méthode de disques sur boîtes de pétri, selon les recommandations du Comité de l'Antibiorésistance de la Société Française de Microbiologie.

Les antibiotiques utilisés figurent sur **le tableau 9**

Tableau 9 : Noms, abréviations et doses des antibiotiques utilisés.

Antibiotiques	Abréviations	Doses (µg)
Pénicillines		
Amoxicilline	AMX	25
Amoxiciline- Clavulanique	AMC	20/10
Ampicilline	AMP	10
Céphalosporines		
Céfazoline	Cz	30
Ceftriaxone	CTR	30
Céfoxitine	Cx	30
Aminoglycosides		
Amikacine	AK	30
Gentamicine	GN	15 (10)
Tobramycine	TOB	10
Cefixime	CFM	10
Autres antibiotiques		
Chloramphénicol	C	30
Tétracycline	TE	30

3.4.1. Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture bactérienne de 18-24h sur un milieu gélosé non sélectif, une suspension de bouillon Tryptone de Soja est préparée. L'inoculum est ensuite étalonné au standard Mc Farland 0,5 (108 UFC/mL), ou ajusté à la densité optique (Do) de 0,1 à 630 nm au spectrophotomètre.

3.4.2 Ensemencement :

La technique utilisée est la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton.

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage avec la suspension diluée au 1/10 (107UFC/ml). Des disques pré-imprégnés d'antibiotiques à tester sont déposés à la surface du milieu gélosé. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

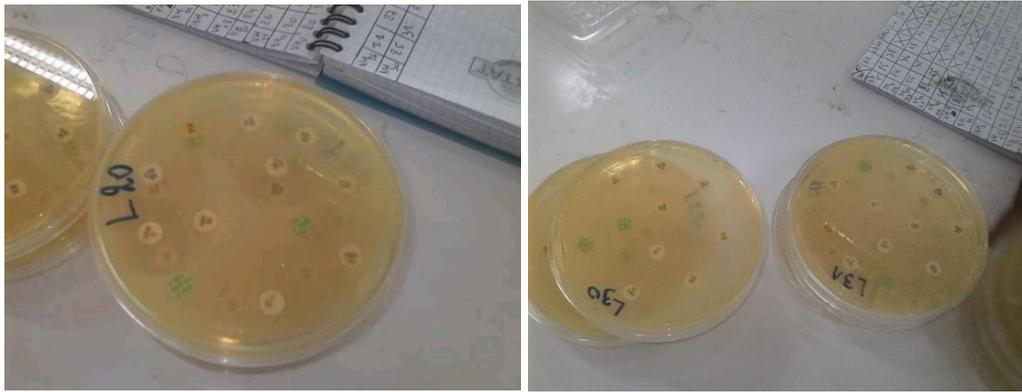


Figure 5 : l'antibiogramme (photos originales)

3.4.3. Lecture :

Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition circulaires, correspondant à une absence de culture visibles autour des disques, est observé et mesuré à l'aide d'un pied à coulisse pour chaque couple de bactérie-antibiotique. Il est ensuite comparé aux diamètres critiques définis par des comités spécialisés (**Tableau10**).

Tableau 10 : Diamètres critiques.

Antibiotiques	Doses (μg)	Abréviations	Diamètres		Références
			S >	R <	
Amoxiciline	25	AMX	21	16	CA-SFM, 2010
Amoxicilline- Clavulanique	10/20	AMC	21	16	CA-SFM, 2010
Ampicilline	10	AMP	21	16	BSAC, 2013
Céfoxitine	30	CX	18	14	NCCLS, 2007
Amikacine	30	AK	19	15	BSAC, 2013
Gentamicine	15 (10)	GN	20	16	BSAC, 2013
Tobramycine	10	TOB	21	17	BSAC, 2013
Chloramfénicol	30	C	18	12	CA-SFM, 2010
Tetracycline	30	TE	19	17	CA-SFM, 2010
Cefazoline	30	Cz	18	12	CA-SFM, 2010
Ceftriaxone	30	CTR	26	23	CA-SFM, 2010
Cefixime	10	CFM	25	22	CA-SFM, 2010

Résultats
et
Discussion

Résultats et discussion

I. Analyse bactériologique

I.1. résultats du dénombrement bactériologique :

Les 45 prélèvements de lait cru ont subi un dénombrement bactérien en vue de la recherche de coliformes fécaux.

Les résultats sont présentés dans la figure ci-dessous. :

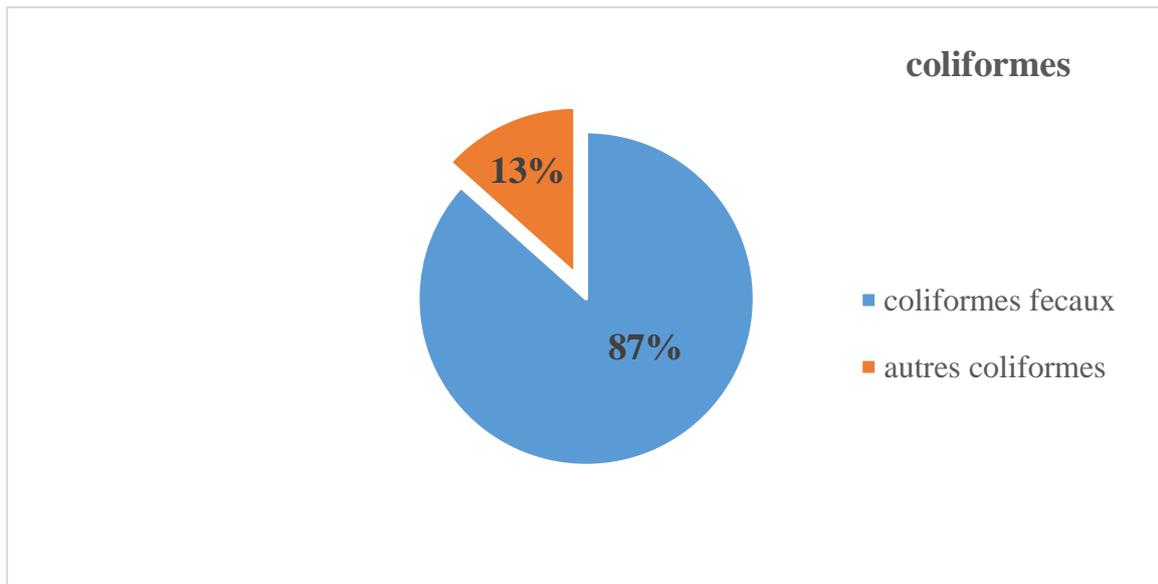


Figure 6 : Répartition des échantillons étudiés après le dénombrement bactériologique.

Les résultats de l'analyse bactériologique du lait cru révèlent que sur les 45 prélèvements étudiés, 39 ont été contaminés par les coliformes fécaux ce qui représente 87% des échantillons analysés.

II. Résultats de l'identification biochimiques des coliformes fécaux :

L'identification biochimique des souches isolées à partir des cultures positives sur le milieu VRBL a montré que tous les isolats sont des *E.coli*. (**Figure 7**)

La figure 8 montre l'aspect des souches *E coli* sur le milieu VRBL (cultures positives)

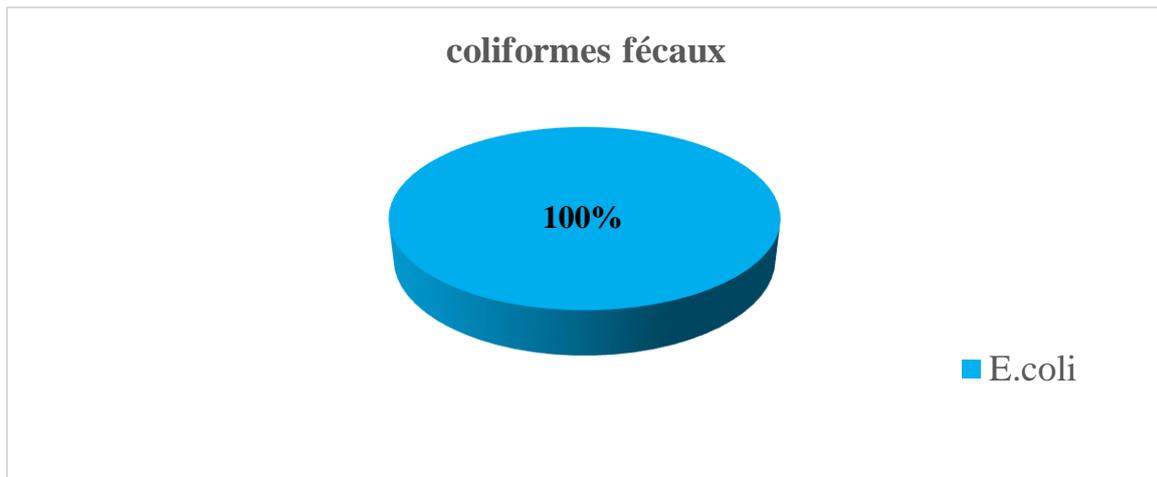


Figure 7 : Répartition des souches identifiées par rapport aux coliformes fécaux dénombrés.



Figure 8 : cultures positives d'*E.coli* sur milieu VRBL

Selon (**Guiraud et Rosec, 2004**), on peut considérer la présence des coliformes fécaux comme un indice de contamination fécale et pourrait s'expliquer par le mode de la traite (traite mécanique) et la mauvaise manipulation lors de la collecte (mains sales, trayon non lavé, matériel sale).

Mosquot et Guittonneau en 1939 ont montrés que les coliformes fécaux contaminent le lait directement (par contact direct avec le pis).

Selon **Larpent, 1990**, la présence des coliformes totaux n'est pas nécessairement une preuve de la contamination fécale parce que certains coliformes sont présents dans les résidus humides trouvés au niveau de l'équipement laitier.

Selon **Bille et al, 2009** la contamination du lait cru pourrait provenir de l'environnement extérieur lors de la traite et de la manutention du lait, de l'équipement et des installations d'eau et de la traite.

En outre, d'après (Bonfoh et al, 2003) les déterminants de la qualité et de la sécurité du lait cru sont également la structure du troupeau (l'effectif, l'état de santé des vaches), traite et pré-conditions de stockage on a observé dans le lait cru la présence des taux élevés de bactéries, à cause de l'absence de refroidissement les installations et l'utilisation de l'eau non potable (Vahedi et al, 2013).

III. L'antibiogramme

Un antibiogramme a été réalisé pour toutes les souches *E.coli* qui ont été isolées.

Nous avons déterminé la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec ceux de la souche de référence (*E coli ATCC 25922*)

Les figures suivantes montrent les résultats de certains antibiogrammes :

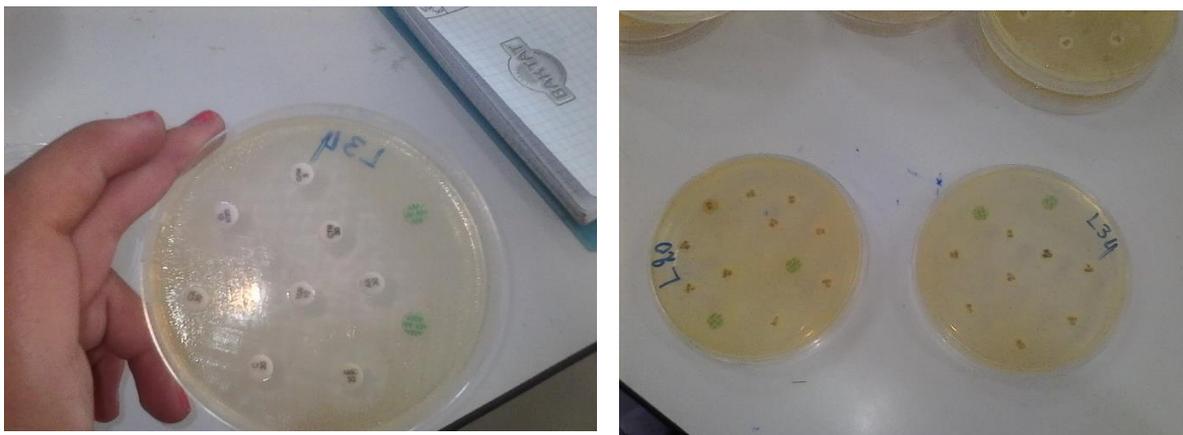


Figure 9 : résultats d'antibiogramme après incubation.

La fréquence de la résistance des souches isolées vis-à-vis les antibiotiques testés est présentée dans la figure ci-dessous.

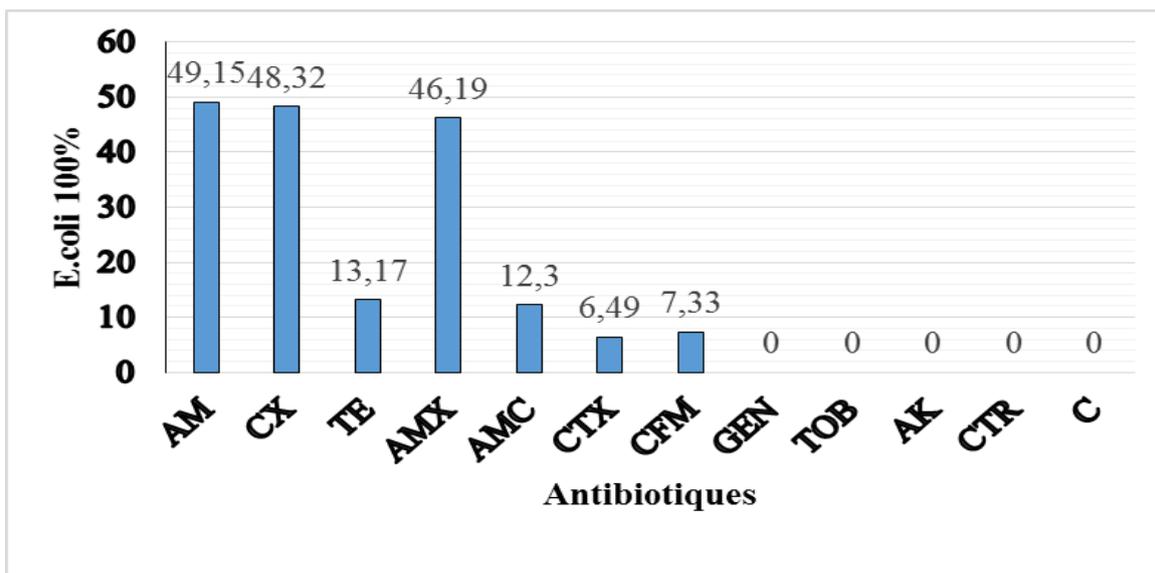


Figure 10 : profils de résistance aux antibiotiques d'*E. coli*.

Les résultats de la figure ci-dessus révèlent des taux de résistance assez élevés vis-à-vis l'ampicilline (49,15%), la céfoxitine (48,32%) et l'amoxicilline (46,19%).

En revanche, la tétracycline et l'amoxicilline acide clavulanique ont enregistré des taux de résistance plutôt faibles avec 13,17% et 12,3% respectivement, voire très faibles pour la céfotaxime (6,49%) et la céfixime (7,33%).

Aucune résistance n'a été observée pour gentamicine (GEN), amikacine (AK), tobramycine (TOB), ceftriaxone (CTR) et chloronphenicol (C). (**Annexe 4**)

D'après (**Rasool et al, 2003**) La résistance aux antibiotiques pourrait causer des difficultés graves à la santé mondiale en médecine humaine et vétérinaire.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), cette résistance est due à la capacité de la population bactérienne de survivre à l'effet d'une concentration inhibitrice d'agents antimicrobiens (**Thavasi et al, 2007**).

Nos résultats sont en accord avec les conclusions d'**Alpha A en 2013**, où les souches ont enregistré un taux de résistance élevé pour l'ampicilline (49,15%), et des taux plutôt faibles pour l'amoxicilline + acide clavulanique (12,3%), la tétracycline (13,17%), au céfotaxime (6,49%) et aucune n'était résistante à la gentamicine (0%).

En outre, les études effectuées en Ethiopie par **Bharathi et al en 2008** et **Briscoe et al en 2005** montrent que le profil de résistance antimicrobienne des isolats d'*E. coli* (n=91) a

révélé une résistance élevée, contrairement à nos résultats, à la tétracycline (88,9 %), au chloroamphénicol (83,3 %) à la gentamicine (65,9 %), mais une faible résistance à la ceftriaxone (9,9 %).

Des études menées en Inde par **Kunal B et Abhiroop B** ont montré que les taux de résistance obtenus étaient très élevés pour la céfotaxime (100 %), l'amoxicilline/acide clavulanique (83,33 %), la tétracycline (75,00 %) et la gentamicine (58,33 %).

D'après (**Muhammad Sanusi Mohammed B Bello M Junaid K, 2015**), Tous les isolats d'*E.coli* ont montré une résistance à l'ampicilline (100 %), 13,3 % de ces isolats étaient résistants à la céfixime et 33,3 % à l'amoxicilline + acide clavulanique (pénicilline synthétique). De plus, 26,7 % des isolats d'*E.coli* étaient résistants à la gentamicine.

Ces différences de taux de résistance peuvent être liées à la fréquence d'utilisation, selon le pays de ces antibiotiques pour traiter ou prévenir les maladies.

Ce phénomène de l'antibiorésistance peut être expliqué par l'utilisation accrue des antibiotiques notamment pour certaines bêtalactamines telles que l'amoxicilline et l'ampicilline grâce à de leur large disponibilité dans le marché Algérien (présence de génériques) alors qu'il y a quelques années , il n'existait que la molécule mère qui était chère, d'une part, et leur utilisation en première intention dans plusieurs types d'infections grâce à leur large spectre, d'autre part.

Plus on prend d'antibiotiques, plus le risque s'accroît de faire émerger des bactéries résistantes qui rendent les traitements à base de ces molécules moins efficaces pour le patient et pour la collectivité.

Cette résistance est très inquiétante car elle présente un énorme risque pour l'élevage bovin lors des transmissions plasmidiques des résistances d'où échec de traitement et par conséquent diminution de la production à cause de l'augmentation de taux de morbidité et de mortalité, d'une part. D'autre part, la contamination de l'homme par ces bactéries résistantes (lors des opérations de la traite ou en consommant du lait cru) constituera l'une des causes majeures des difficultés de traitements rencontrés chez ce dernier.

La résistance observée chez les bactéries commensales présente un indicateur de l'état de l'antibiorésistance des autres germes pathogènes (**Kijima-Tanaka et al, 2003**).

Conclusion

Conclusion

Les résultats obtenus à l'issue de notre étude montrent que 87% des échantillons de lait de vache cru analysés étaient contaminés par les coliformes fécaux et que 100% de ces derniers étaient représentés par *E coli*. Cette présence peut être due à de mauvaises conditions d'hygiène au moment de la traite (mains sales, trayon non lavé, matériel sale), et présente un réel danger pour le consommateur lors de sa contamination suite à la consommation de lait cru contaminé en lui causant des maladies infectieuses d'origine alimentaire qui peut être graves dans certains cas.

L'antibiogramme a révélé des taux de résistance assez élevés pour certains antibiotiques tels que l'ampicilline (49,15%), la céfoxitine (48,32%) et l'amoxicilline (46,19%) (Médicament fortement utilisés en première intention contre une large gamme d'infections).

Cette forte résistance vis-à-vis ces molécules les rend inefficaces dans la lutte contre les pathologies causées par ce type de germes.

En revanche, la tétracycline et l'amoxicilline acide clavulanique ont enregistré des taux de résistance plutôt faibles avec 13,17% et 12,3% respectivement, voire très faibles pour la cefotaxime (6,49%) et la céfixime (7,33%). Aucune résistance n'a été observée pour gentamicine, amikacine, tobramycine, ceftriaxone et chloramphenicol.

Cette faible résistance voire même nulle vis-à-vis certains antibiotiques (amikacine, gentamicine utilisés principalement chez l'espèce équine) peut être due à l'absence de contact préalable entre les bactéries étudiées et ces molécules.

L'utilisation anarchique et accrue des antibiotiques sans avoir recours à l'antibiogramme et sans avis médical a déterminé la sélection de bactéries résistantes.

Une surveillance régulière de la résistance aux antimicrobiens chez les entérobactéries commensales d'origine animale est nécessaire dans le cadre de la stratégie de détection précoce de la résistance aux antimicrobiens dans la communauté.

De ce fait il serait intéressant d'initier des recherches avec un nombre d'échantillons plus élevé et une zone de prélèvement plus large.

Recommendations

Recommandations

la contamination du lait cru par des bactéries résistantes peut être responsable de pertes économiques considérables lors de la contamination du cheptel par ce type de germes (chute de production et échec de traitement) d'une part, elle présente un énorme risque pour la santé publique (suite à la transmission de ces bactéries à l'homme) , d'autre part

De ce fait, il est indispensables de maîtriser l'hygiène des aliments qui repose en premier lieu sur l'application de bonnes pratiques :

- ✓ Le respect des mesures d'hygiène au moment de la traite (nettoyage des mains, du pis et du matériel utilisé).
- ✓ L'état sanitaire des animaux laitiers et des troupeaux devrait être géré de manière à réduire les dangers de contamination pour la santé humaine.
- ✓ Les animaux malades ne devraient être traités qu'au moyen de médicaments vétérinaires autorisés par les autorités compétentes en respectant les délais d'attente.
- ✓ La pratique d'une bonne hygiène durant la traite est une composante fondamentale du système de maîtrise indispensable à la production de lait et de produits laitiers sûrs et salubres.
- ✓ Former divers acteurs de la filière (producteurs, collecteurs et consommateurs).
- ✓ Des registres devraient être tenus, selon qu'il sera nécessaire, pour accroître la capacité de vérification de l'efficacité des systèmes de maîtrise.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

1-Amira G, (2018), Caractérisation physicochimique, microbiologique et immunochimique des laits camelin et bovin d'Algérie. Activités antioxydante et antitoxique de la fermentation. Thèse de doctorat, université de Djillali SIDI BEL ABBES.

2-Alpha A, (2013), Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. , Thèse de doctorat, université de TOULOUSE.

3- Belarbi M, (2014) ; Etude comparative entre la qualité Microbiologique du lait cru de vache et le Lait de chèvre. Mémoire du diplôme de Master, Université Abou Baker Belkaid-Tlemcen.

4-Bille et al, (2009) Evaluation of chemical and bacteriological quality of raw from neudamm dairy farm in Namibia, Doi:10.4314/ajfand.v9i7.47682.

5-Bharathi et al, (2008), Briscoe et al, (2005): Antibioqram of Escherichia coli strains isolated from food of bovine origin in selected Words of Tigray, Ethiopia P 20 Article • July 2014 DOI: 10.5897/JBR2014.0126.

6- Bonfoh et al, (2003) Les sources de contamination du lait du lait local et les méthodes d'amélioration de sa qualité microbiologique à Bamako (Mali). Revue Etud. Rech. Sahél.

7-Bouarissa R et Herizi L, (2019) : Généralités sur le lait de vache. Mémoire du Diplôme de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

8 - Boudechiche Y et Dahmar S, (2019) : Evaluation de la qualité microbiologique d'un lait pasteurisé et un lait U.H.T. selon la durée de conservation. Mémoire du diplôme de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

9-Bouزيد A et Labidi H, (2015). Caractérisation physico-chimique et organoleptique du lait des espèces laitières dans la région du Souf (wilaya d'El Oued) Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED.

10-Dr. Danielle C Expert biologiste –Bactériologie CHU TOULOUSE : fiche technique :

Escherichia coli. Fiche technique –Bactériologie 153 EN.FTBAC.07-09-17.01, Emis le 13 Novembre 2015.

11-Fanny S, (2011) ; Optimisation du protocole de recherche des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments, Sciences agricoles. Université de BOURGOGNE, 2011. Français. ffNNT : 2011DIJOS093ff. fftel-00794936ff., thèse Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Bourgogne.

12- Guiraud et Rosec, (2004), Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris.

11-ISO 21528-2, (2004) : Microbiologie des aliments- Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae- Partie 2 : Méthode par comptage des colonies.

13-ISO 08-060, (1996) : Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44°C.

14-Kalandi M et al, (2015), Evaluation de la qualité nutritionnelle du lait cru dans les élevages traditionnels de Kaolackau Sénégal, page 901-909.

15-Kigmou A, (2019) : Caractérisation physico-chimique et microbiologique de lait pasteurisé de la laiterie d'Adrar. Mémoire du diplôme de Master .université d'ADRAR.

16-Kizi N et Makdoud S, (2014) Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait cru collecté au niveau de deux régions Akbou et Sidi Aich (Bejaia). ; Mémoire du diplôme de Master. Université DE BEJAIA.

17-Kourghli S et Hadj ammer S, (2018) : Analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait pasteurisé conditionné de Laiterie Fromagerie de Boudouaou. ; Mémoire du diplôme de Master., université DE BOUIRA.

18-Kunal B, Abhiroop B, Susmita P, Samir D, Siddhartha N,Indranil S, Devi P and Abhishek D, Detection, characterization, and antibiogram of extended-spectrum beta-lactamase Escherichia coli isolated from bovine milk samples in West Bengal, India .

19-Larpen, (1990) : Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie alimentaire. (Bourgeois C.M., Mesclé J.F.et Zucca J.) Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Tec et Doc, Lavoisier,

20-Mansour L, (2015), Etude de l'influence des pratiques d'élevage sur la qualité du lait : effet de l'alimentation. Thèse du Doctorat en Sciences, université FERHAT ABBAS SETIF 1.

21-Mocquot et Guittonneau, (1939). Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée au contrôle de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. Le lait N°182, pp. 114-139.

22-Rasool et al, (2003). Plasmid borne antibiotic resistance factors among indigenous, Pakistan Journal of Botany 35: 243-248.

23-Sassi H, (2019) ; Etude de la variation saisonnière des paramètres biochimiques et microbiologiques du lait cru de vache à la traite dans l'Ouest Algérien. these du diplome de doctorat 3eme cycle LMD ; université de MOSTAGANEM.

24-Ségoène M, (2016) caractérisation de souches d'*escherichia coli* pathogènes urinaires provenant de guadeloupe : portrait de la diversité des facteurs de virulence présents. Mémoire présentée pour l'obtention du grade de Maître des sciences (M.Sc.) en Microbiologie Appliquée, université du QUEBEC.

25-Thavasi et al, (2007), Plasmid mediated antibiotic resistance bacteria. J. Environ. Biol. 28 617–621. [PubMed] [Google Scholar].

26-Vahedi et al, (2013). Bacteriological study of raw and unexpired pasteurized cow's milk collected at the dairy farms and super markets in Sari city.

27-Wendmisida V, (2013), Appréciation de la qualité physico-chimique du lait frais en rapport avec les pratiques d'élevage dans les élevages autour de la ville de Kaolack au Sénégal. Thèse Doctorat Médecine Vétérinaires. Université de SENEGAL.

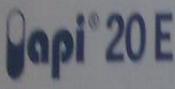
Annexes

Annexe

Annexe 01 : journal officiel de république algérienne n°39.

8 Chaoual 1438 2 juillet 2017		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39			13	
ANNEXE I						
Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires						
1- Lait et produits laitiers						
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)		
		n	c	m	M	
Lait cru	Germes aérobies à 30 °C	5	2	3.10 ⁵	3.10 ⁶	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³	
	Coliformes thermotolérants	5	2	5.10 ²	5.10 ³	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml		
	Antibiotiques	1	—	Absence dans 1 ml		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Lait pasteurisé et autres produits laitiers liquides pasteurisés	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 ⁴	10 ⁵	
	Enterobacteriaceae	5	0	10		
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 ml		
Lait UHT et lait stérilisé	Germes aérobies à 30 °C	5	0	10/0.1ml		
Lait en poudre et lactosérum en poudre	Enterobacteriaceae	5	2	10	10 ²	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
Fromages au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ⁴	10 ⁵	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ³	10 ⁴	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Fromages à base de lait ayant subi un traitement thermique moins fort que la pasteurisation et fromages affinés à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ²	10 ³	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Fromages à pâte molle non affinés (fromages frais) à base de lait ou de lactosérum pasteurisés ou ayant subi un traitement thermique plus fort que la pasteurisation	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 ²	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		
Crème au lait cru	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ²	10 ³	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ³	10 ⁴	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100		

Annexe 02 : La grille de référence des Galeries biochimiques API20E (photo originale)





 BIOMÉRIEUX

REF: LcH137

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+								
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2			
ONPG	ADH	LDH	GGT	LDH	H ₂ S	URE	TDA	IND	LVP	IGEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO ₂	N ₂	MOB	MCC	OF-D
7			1			4			4			5			7			2							

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
E. coli

Annexe 03 : Tableau de lecture des galeries API 20 E (Biomérieux).

Tests	Composants actifs	Réactions/Enzymes	Résultats	
			Négatifs	Positifs
ONPG	2-nitrophényl- β Dgalactopyranoside	β -galactosidase (Ortho NitroPhényl- β DGalactopyranosidase)	Incolore	jaune (1)
ADH	L-arginine	Arginine DiHydrolase	Jaune	rouge/orangé (2)
LDC	L-lysine	Lysine DéCarboxylase	Jaune	rouge/orangé (2)
ODC	L-ornithine	OrnithineDéCarboxylase	Jaune	rouge/orangé (2)
CIT	trisodium citrate	utilisation du CITrate	vert pâle/jaune	bleu-vert/bleu (3)
H₂S	sodium thiosulfate	production d' H ₂ S	incolore/grisâtre	dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	UREase	Jaune	rouge/orangé (2)
TDA	L- tryptophane	Tryptophane DésAminase	TDA/immédiat	
			Jaune	Marron-rougeâtre
IND	L- tryptophane	production d'INDole	JAMES/immédiat	
			Incolore vert pâle/jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	production d'acétoïne (VogesProskauer)	VP1+VP2/10 min	
			Incolore/rose pâle	rose/rouge (5)
GEL	Gélatine (origine bovine)	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	fermentation/oxydation (GLUcose) (4)	bleu/bleu vert	jaune/jaune gris
MAN	D-mannitol	fermentation/oxydation (MANnitol) (4)	bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	fermentation/oxydation (INOsitol) (4)	bleu/bleu vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	fermentation/oxydation (SORbitol) (4)	bleu/bleu vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	fermentation/oxydation (RHAmnose) (4)	bleu/bleu vert	Jaune
SAC	D-saccharose	fermentation/oxydation (SACcharose) (4)	bleu/bleu vert	Jaune
MEL	D-melibiose	fermentation/oxydation (MELibiose) (4)	bleu/bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	fermentation/oxydation (AMYgdaline) (4)	bleu/bleu vert	Jaune
ARA	L-arabinose	fermentation/oxydation (ARABinose) (4)	bleu/bleu vert	Jaune

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (2) Une couleur orange apparaissant après 36-48 H d'incubation doit être considérée négative.
- (3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
- (4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
- (5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

Annexe 04 : Pourcentage de résistance des *E.coli*

Les antibiotiques	<i>E.coli</i> (n=45)
Ampicilline	49.15% (19)
Cefixime	7.33% (3)
Tetracycline	13.17 (5)
Cefoxitine (cephalosporine de 2 ^e g)	48,32% (17)
Amoxicilline	46,19 (17)
Amox.clav.acide	12.3% (4)
Cefotaxime (Cephalosporine de 3 ^e g)	6,49% (2)
Gentamicine	0% (45)
Amikacine	0% (45)
Tobramycine	0% (45)
Ceftriaxone	0% (45)
Chloronphenicol	0% (45)

Annexe 05 : les milieux utilisés (composition en g/l d'eau distillée)

1/ Le milieu culture :

➤ Gélose nutritive

Extrait de levure.....	2g
Extrait de viande.....	1g
Peptone.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	15g

pH = 7,4.

2/ le milieu sélectif :

➤ Le milieu V.R.B.L

Est recommandée pour la recherche des coliformes dans les aliments et les produits laitiers.

Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	7g
Chlorure de sodium.....	5g
Sels biliaires n°3.....	1,5g
Lactose.....	10g
Rouge neutre.....	0,03g
Cristal violet.....	0,002g
Agar.....	12g

pH 7,4 ± 0,2

3/ milieu d'antibiogramme :

➤ Géllose Muller Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	300 ml
Peptone de caséine.....	17,5g
Amidon de maïs.....	1,5g
Agar.....	17g

PH = 7,4±0.2.

