

A

Mes parents

Mon mari

Mes enfants Mehdi et Madjda

Mes frères , ma soeur

Mes beaux parents

Toute ma famille

REMERCIEMENTS

Le sujet de notre travail de recherche nous a été proposé par M^r J. OUDAR professeur à l'école nationale vétérinaire de Lyon .

Nous le remercions vivement pour ses conseils et pour toute la bibliographie qu'il nous a envoyée.

Toute notre reconnaissance à M^r N. KARAM maître de conférence à l'institut de Biologie d'Oran qui nous a aidé par ses conseils et encouragements à réaliser ce travail . Nous le remercions vivement .

Tout notre respect et remerciements à M^{me} F. Z EL KEBIR , maître de conférence à l'institut de Biologie d'Oran . Vous nous faites un grand honneur en acceptant la présidence de jury de cette thèse .

Nos sincères remerciements s'adressent aussi à :
M^r NGO.TU.THANH , maître de conférence à l'institut de Biologie de Tlemcen pour avoir accepté de juger ce travail .

M^r KHALID MADJID HAMED professeur à l'institut de Biologie de Tlemcen .Toute notre reconnaissance pour avoir voulu vous associer à ce jury .

M^r A.SOULIMANE docent au C.H.U Sidi Bel Abbas . Qu'il veuille bien accepter nos remerciements et notre profond respect pour sa participation à ce jury .

Enfin nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont aidé à la réalisation de ce travail ,que ce soit à l'institut de Biologie de Sidi Bel Abbas où à l'unité de l'OROLAIT de Sidi Bel Abbas sans oublier monsieur le directeur de l'unité .

مثل الجنة التي وعد المتقون فيها أنهار من ماء غير آسن وأنهار من لبن لم يتغير طعمه
القران الكريم

Voici une description du paradis qui est reserve
aux croyants : des sources dont l'eau reste toujours pure
le parcourent de meme que des ruisseaux de lait d'une
saveur unalterable .

CORAN

R E S U M E

La recherche de la qualité hygiénique du lait cru de vache , produit dans la région de Sidi-Bel-Abbes a été réalisé sur 176 échantillons pris au niveau de l'usine et des exploitations (E.A.C. et ferme) .

L'analyse qualitative révèle que la contamination microbienne du lait débute dans les exploitations dont l'hygiène manque très souvent .

Cette contamination se poursuit durant la collecte , surtout pendant les périodes chaudes de l'année , d'où il ya une élévation importante de germes au mois d'Aout (2.10^7 germes totaux /ml) .

L'identification complète des microbes trouvés dans le lait que nous étudions montre qu'il existe des germes nocifs pour la santé du consommateur et surtout les enfants comme les Coliformes , les Streptocoques fécaux , Staphylococcus aureus et les Salmonella .

Ainsi on peut dire , que le lait de vache de la région de Sidi-Bel-Abbes est impropre à la consommation . Ce lait est pasteurisé pour être transformé en fromage , mais le produit peut risquer une contamination provenant de l'usine . Pour cela , des mesures d'hygiène et de contrôle microbiologiques doivent être prises tant au niveau des exploitations que pendant la collecte et la réception à l'usine , afin de préserver la santé du consommateur .


Mots clefs : Sidi Bel-Abbes (ALGERIE) , Lait cru de vache , qualité hygiéniques , germes , contamination , usine , E.A.C , ferme , citerne , cuve , bidon .

SOMMAIRE

	Pages
1. INTRODUCTION -----	4
1.1. Définition du lait -----	7
1.2. Etude microbiologique du lait -----	7
1.2.1. Flore microbienne du lait -----	7
1.2.2. Contamination du lait à la ferme -----	9
1.2.2.1. Contamination par les mamelles -----	10
1.2.2.2. Contamination par le matériel de traite -----	13
1.2.2.3. Contamination microbienne du lait par des vaches atteintes de mammites .-----	13
1.2.2.4. Incidences de la réfrigération et d'une conservation trop longue du lait à la ferme .-----	15
1.2.3. Contamination du lait pendant la collecte -----	17
1.2.3.1. Température trop élevée du lait au moment de la collecte .-----	17
1.2.3.2. Apport dans la citerne de collecte de lait de très mauvaise qualité bactériologique .-----	20
1.2.3.3. Contamination par la citerne .-----	20
1.2.4. Comparaison de la teneur en germes entre des échantillons de lait pris à la ferme , et des échantillons de lait pris à la laiterie .-----	21
2. MATERIEL ET METHODES DE TRAVAIL .-----	23
2.1. Les échantillons .-----	24
2.2. Les lieux de collecte .-----	24
2.2.1. Qu'appelle t'on une E.A.C. ? -----	26
2.2.2. Qu'appelle t'on une ferme ? -----	26
2.2.3. Conditions hygiéniques des exploitations .-----	27
2.2.4. Conditions hygiéniques de collecte .-----	27

2.3. Les modes de prélèvement .-----	28
2.3.1. Prélèvements à partir des bidons ou des cuves réfrigérantes .-----	28
2.3.2. Prélèvements à partir des citernes .-----	28
2.4. Conservation des échantillons et transport .-----	29
2.4.1. Echantillons pris à l'usine .-----	29
2.4.2. Echantillons pris dans des E.A.C. ou des fermes .--	29
2.5. Milieux de culture , réactifs et solutions .-----	29
2.5.1. Milieux de culture solides -----	29
2.5.2. Milieux de culture liquides -----	30
2.5.3. Réactifs et solutions .-----	31
2.6. Techniques d'analyses des échantillons .-----	32
2.6.1. Dilution .-----	32
2.6.2. Ensemencement .-----	32
2.6.3. Incubation .-----	33
2.6.4. Lecture .-----	33
2.7. Méthodes d'identification des germes .-----	34
2.7.1. Streptocoques fécaux .-----	34
2.7.2. Staphylococcus aureus .-----	34
*La phase d'enrichissement -----	34
*Examen microscopique -----	35
*La recherche du mode respiratoire -----	35
*La recherche de la catalase -----	35
*La recherche de la coagulase -----	35
2.7.3. Les indologènes .-----	35
2.7.4. Bacilles Gram négatifs .-----	36
3. RESULTATS .-----	37
3.1. Analyse qualitative et quantitative des laits d'une E.A.C. et d'une ferme .-----	38
3.1.1. Laits prélevés de l'animal .-----	38
3.1.2. Laits prélevés des bidons .-----	39
3.1.3. Laits prélevés des cuves réfrigérantes .-----	39

3.2. Analyse qualitative des laits des différentes fermes et E.A.C. et CITERNES	41
3.3. Analyse des laits durant une tournée de la citerne .----	43
3.4. Evolution de la flore de lait au cours d'une année .----	45
3.4.1. Evolution des germes totaux .-----	45
3.4.2. Evolution des Coliformes -----	45
3.5. Fréquence des germes trouvés dans les laits collectés à la ferme , à l'E.A.C. et à l'usine .-----	47
3.5.1. Bacilles à Gram négatif .-----	47
3.5.2. Streptocoques fécaux et Staphylococcus aureus .----	47
3.5.3. Levures , Moisissures et Indologènes .-----	47
 4. DISCUSSION ET CONCLUSION .-----	 51
4.1. Discussion .-----	52
4.2. Conclusion .-----	54
 ANNEXES .-----	 56
Annexe I : Abréviations utilisées .-----	57
Annexe II : Milieux de cultures , solutions et réactifs .--	58
Annexe III : Normes sanitaires et qualitatives du lait en France .-----	64
Annexe IV : Identification des Enterobacteries .-----	66
- Notice technique de la galerie API 20E .----	67
- Tableau de lecture .-----	68
- Tableau d'identification .-----	69
- Exemples d'identification .-----	71
 BIBLIOGRAPHIE .-----	 72



1 INTRODUCTION

L'eau est vitale dit-on , et le lait ne le serait-il pas lui aussi ? A un degré moindre , mais juste après cette première si l'on considère d'une part l'importance de sa consommation tant au niveau de l'espèce humaine qu'animale et à différente tranche de leur existence , et d'autre part les nombreuses formes sous lesquelles il se présente . Ainsi comme l'eau , le lait se consomme quotidiennement tel qu'il est ou entrant dans la composition de nos fromages , yaourts , beurre , gâteaux etc... (DARBRE 1982) . " L'agneau désire avec ardeur le lait proposé par sa mère mais avec plus d'ardeur encore , celle ci aime à éteindre cette soif " (RABBI 1973) , ou encore " notre malade n'arrive plus rien à avaler , juste un peu de lait " .

Ce ne sont là que deux exemples de la vie quotidienne où le lait prend toute sa dimension de vitalité .

Ainsi un travail scientifique sur le lait ne sera jamais de trop et surtout , lorsque ce travail a pour but de préserver le lait que nous consommons tous et en particulier le lait de vache , donc de le préserver de toute contamination microbienne transmissible pour justement garder son effet de " bienfaiteur " .

La question reste pour nous si préoccupante que nous vient à l'esprit ce qu'avait déjà dit le professeur Porcher en 1930, à savoir " certains laits sont plus riches en microbes que les eaux d'égoûts " (JAILLARDON 1985) .

En Algérie l'instruction technique N° 5 du Ministère de la Santé Publique précise les maladies graves transmises à l'homme par le lait dans notre pays : thyphoïde , diphtérie cholera , hépatite , brucellose , gastro-entérite virale ou microbienne , etc...

Pour vérifier la réalité de cette affirmation , nous avons choisi comme terrain de travail, la Wilaya de Sidi-Bel-Abbes du fait qu'elle occupe la première place dans la production laitière de tout l'Ouest Algérien. A titre d'exemple en 1989, alors que la production laitière totale de l'Ouest était de 23 702 951 litres de lait, celle de l'unité de Sidi-Bel-Abbes pour la même année était de 8 956 802 litres. Si on compare ce chiffre avec la production de l'une des six autres unités de l'Ouest, nous remarquons que la Wilaya d'Oran en 1989 n'a produit que 4 795 216 litres de lait qui correspond à la moitié de la production de Sidi-Bel-Abbes pour la même année. Cette forte production laitière est due à la vocation agricole et l'élevage de la région de Sidi-Bel-Abbes. Effectivement le nombre de vaches, dans cette Wilaya est d'environ 10.000 vaches laitières réparties à travers une vingtaine d'exploitations agricoles collectives (E.A.C) et 537 producteurs privés.

Nous avons entrepris l'étude de la qualité hygiénique des laits de la Wilaya de Sidi Bel-Abbes sur une durée d'une année, d'Octobre 1988 jusqu'à Septembre 1989. Notre travail expérimental a été effectué en partie au sein du laboratoire de l'Office Régional Ouest du lait et des produits laitiers de Sidi-Bel-Abbes (OROLAIT) et en partie au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Institut des Sciences de la Nature de Sidi-Bel-Abbes.

Dans un premier temps nous avons analysé qualitativement et quantitativement des laits d'une E.A.C. et d'une ferme choisies dans la même période.

Dans un deuxième temps, nous avons comparé qualitativement des laits des différentes fermes et E.A.C. & CITERNE

Dans un troisième temps nous avons analysé des laits durant une tournée de la citerne. Ensuite nous avons montré l'évolution de la flore du lait au cours d'une année. Et enfin nous avons mesuré la fréquence des germes trouvés dans les laits collectés à la ferme, à l'E.A.C. et à l'usine.

1.1-DEFINITION DU LAIT :

Légalement, "le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompu d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum". (ECK 1962).

La même définition avait été adoptée par la France à la suite du Congrès International de la Répression des Fraudes Alimentaires qui s'était tenu à Genève en 1908, en précisant que la dénomination des laits tout court sans indication d'espèce ne s'applique qu'au lait de vache (VEISSEYRE 1975, BOURDIER et LUQUET 1981).

La Fédération Internationale de Laiterie (F.I.L) dans son Dictionnaire de Terminologie définit en 1983 le lait comme: "Le produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ou soustraction".

Le lait est le seul aliment des mammifères nouveaux-nés absolument indispensable pour assurer leur survie, puis leur croissance. Sur terre environ 2000 espèces de mammifères, allant de la souris à la baleine en passant par la femme, sont concernées. (GOURSAUD 1985).

1.2 -ETUDE MICROBIOLOGIQUE DU LAIT :

Le lait peut être facilement contaminé par divers microorganismes.

1.2.1-FLORE MICROBIENNE DU LAIT :

Selon JOUGIER et COHEN-MAUREL (1989).

On désigne sous le nom de flore microbienne du lait l'ensemble des germes présents dans le lait à un instant donné.

Cette flore microbienne du lait résulte :

-De l'existence d'une flore originelle : germes provenant de l'intérieur de la mamelle ou du trayon , sous réserve d'une infection latente .

-De l'apport d'une flore de contamination : germes apportés par le milieu extérieur lors de la traite ou des manipulations ultérieures .

-Du développement de la flore originelle et/ou de la flore de contamination .

Le lait est en effet un excellent milieu nutritif permettant la multiplication plus ou moins rapide de la plupart des germes , en particulier :

-La flore coliforme ; Indicateur d'un risque hygiénique comme Escherichia coli , Klebsiella , Enterobacter et Citrobacter .

-La flore thermorésistante , capable de résister aux traitements thermiques comme les microcoques , les streptocoques , et les bacilles sporulés .

-La flore psychrotrophe , Capable de se développer dans le lait conservé à basse température comme Pseudomonas qui apparaissent à 4°C .

-La flore lactique , Importante pour la fabrication des fromages comme les lactobacilles , les streptocoques lactiques et les leuconostoc .

-La flore butyrique , nuisible dans l'industrie des fromages , (défauts de goût , gonflements , etc.....) , Constituée essentiellement de Clostridium tyrobutyricum .

-La flore totale : A un instant donné c'est la résultante d'une flore originelle (germes présents dans la mamelle) ; et d'une flore de contamination (germes apportés par le milieu extérieur) .

Plusieurs études et travaux ont été réalisés pour montrer le risque de contamination du lait de vache à la ferme ou pendant le transport (BECKERS et al 1985 , CHATELIN et RICHARD 1981 , HARVEY et GILMOUR 1985 , POMMIER et al 1985 RAMADE et al 1985 , WALKER SMITH 1986 etc ...) .

1.2.2- CONTAMINATION DU LAIT A LA FERME

A la production , et pendant la traite même , le lait peut être l'objet d'importantes contaminations par plusieurs facteurs .

Le tableau N° 1 montre les résultats obtenus par MAHIEU (1985 a) .

Ces résultats indiquent que l'air de l'étable est peu contaminant , et que l'intérieur de la mamelle est peu contaminé . Par contre , l'extérieur de la mamelle , de même que l'installation de traite peuvent constituer des facteurs contaminants non négligeables .

TABLEAU N° 1 :
LES SOURCES DE CONTAMINATION DU LAIT
(MAHIEU 1985 a)

	FLORE TOTALE 1	BACTERIES COLIFORMES	FLORE THERMORESIS- TANTE 1
Air de l'étable	< 100	0	1 à 10
Mamelle (Interieur)	200 à 1000	0	0
Mamelle (Exterieur)	<300.000	< 10	100 à 200
Matériel propre	< 10.000	< 200	< 1000
Matériel sale	10.000 à 5000.000	0 à 2000	1000 à 100.000

1 : Nombre de germes par millilitre .

1.2.2.1 Contamination par les mamelles :

La mamelle de la vache est une source de contamination très importante comme l'on montré RICHARD (1978) et CHATELIN et RICHARD (1981). les résultats, reportés dans le tableaux N°2, montre que la contamination est beaucoup plus importante pour une traite ordinaire qu'une traite soignée.

Il arrive parfois que la lavette qui devrait assurer le nettoyage des mamelles, ne contribue en fait qu'a les souiller. Dans ce cas on observe une augmentation du nombre de microorganismes thermorésistants (Tableau N°3). D'où " l'intérêt d'éliminer systématiquement les premiers jets de lait et de laver très soigneusement les mamelles avec des lavettes très propres, d'utiliser une grande quantité d'eau et d'essuyer soigneusement avec des serviettes en papier. Après la traite, on procédera à la désinfection des trayons avec une solution antiseptique (par trempage ou par pulvérisation) en vue de limiter leur contamination ultérieure. (JUGIER ET COHEN-MAUREL, 1989).

TABLEAU N° 2

CONTAMINATION MICROBIENNE DU LAIT PAR LES MAMELLES

(CHATELIN et RICHARD , 1981)

ORIGINE DES ECHANTILLONS	FLORE TOTALE	FLORE PSYCHROTROPHE	BACTERIES COLIFORMES	THERMORESISTANTS TOTAL	SPORES DE BACILLUS
Traite soignée *	4800	650	0	190	14
Traite ordinaire *	4200	2000	< 10	150	31
Tank	41000	5000	60	1300	42
Traite soignée *	3100	140	< 10	40	11
Traite ordinaire *	50000	2300	< 10	6300	18
Tank	62000	4700	70	4800	8
Traite soignée *	2900	700	< 10	< 10	4
Traite ordinaire *	35000	14000	< 10	1300	17
Tank	40000	12000	< 10	850	37

* Moyenne arithmétique des résultats correspondants à des prélèvements en cours de traite .

TABLEAU N° 3

CONTAMINATION MICROBIENNE DU LAIT PAR LA PEAU
DES MAMELLES (nombre de germes par ml de lait)

(RICHARD 1978)

	FLORE TOTALE	FLORE PSYCHROTROPHE	BACTERIES COLIFORMES	FLORE THERMORE- SISTANTE	SPORES DE BACILLUS MESOPHILES
Mamelles lavées					
Soigneusement	1400-12000	140 -590	1 - 10	15 - 75	6 - 12
Rapidement	25000-210000	500-2300	5 - 10	980-6300	6 - 28
Mamelles non lavées					
Propres	1400-17000	-	1 - 40	4 - 280	7 - 150
Sales	11000-140000	-	1 - 250	60 - 160	14 - 150

1.2.2.2-Contamination par le matériel de traite:

Si on considère maintenant que la mamelle est bien lavée , la principale source de contamination du lait se trouve au niveau de l'installation de traite surtout si elle est mal nettoyée. Ceci a été montré par MAHIEU (1985 a) (Tableau N° 4).

La contamination microbienne du lait par le matériel de traite dépend de deux facteurs qui impliquent deux types de remèdes . Il s'agit :

-De la conception et de l'état du matériel de traite .

-De la qualité du nettoyage.

L'efficacité du nettoyage découle de sa capacité à éliminer les souillures déposées au cours de la traite , cette efficacité dépend en partie du pouvoir détergent de la solution de lavage (et donc de sa composition chimique , de sa concentration et de sa température d'utilisation) mais aussi de la force d'arrachement développée par la solution (MAHIEU 1985 a).

1.2.2.3-Contamination microbienne du lait par des vaches atteintes de mammites .

Il arrive que les mammites soient responsables d'une contamination importante du lait. Comme le montrent les travaux de CHATELIN et RICHARD (1981) (Tableau N° 5).

TABLEAU N° 4

POUVOIR CONTAMINANT DE LA MACHINE A TRAIRE

(Nombre de germes par ml)

Cité par (MAHIEU 1985 a)

	FLORE TOTALE	FLORE PSYCHRO-TROPHE	FLORE PEN SY*	BACTERIES COLIFORMES	FLORE THERMORESISTANTE
Avant intervention	71000	3600	1900	0	6700
Après intervention	5800	1600	100	< 10	2500

* : Flore psychrotrophe pénicillino-résistante .

TABLEAU N° 5

CONTAMINATION MICROBIENNE DU LAIT PAR DES VACHES ATTEINTES DE MAMMITES

Les prélèvements de lait ont été effectués au niveau du tank dans une ferme

(CHATELIN ET RICHARD , 1981)

DATE	FLORE TOTALE	FLORE PSYCHROTROPHE	BACTERIES COLIFORMES	FLORE THERMORESISTANTE	
				TOTAL	SPORES DE BACILLUS
13-2-75	2500.000	7200	-	-	-
4-3-75	360.000	4400	< 10	1300	60
14-3-75	720.000	2900	< 10	600	60
8-4-75	540.000	1800	< 10	1800	190

1.2.2.4-Incidence de la réfrigération et d'une conservation trop longue du lait à la ferme

La conservation du lait au froid aboutit à une sélection des germes psychrotrophes et en particulier de Pseudomonas (MAHIEU 1985 a, JOUGIER et COHEN-MAUREL 1989). Le tableau n° 6 et la figure n° 1 montrent l'évolution de la flore des laits conservés plusieurs jours à différentes températures .

TABLEAU N° 6

AUGMENTATION DE LA FLORE PSYCHROTROPHE DU LAIT
CRU CONSERVE 3 JOURS A 3-5° C OU 10° C (nombre de germes
 par ml)

(MAHIEU 1985 a)

ECHANTILLONS	4 HEURES APRES LA TRAITE	72H 3-5°C	72H 10°C
1	3	1650	2500.000
2	2160	2000	1000.000
3	204	5600	43000
4	14	42	226000
5	0	31	194000
6	200	146	1300.000
7	0	43	15000
8	4	3	21000
9	0	112	2000

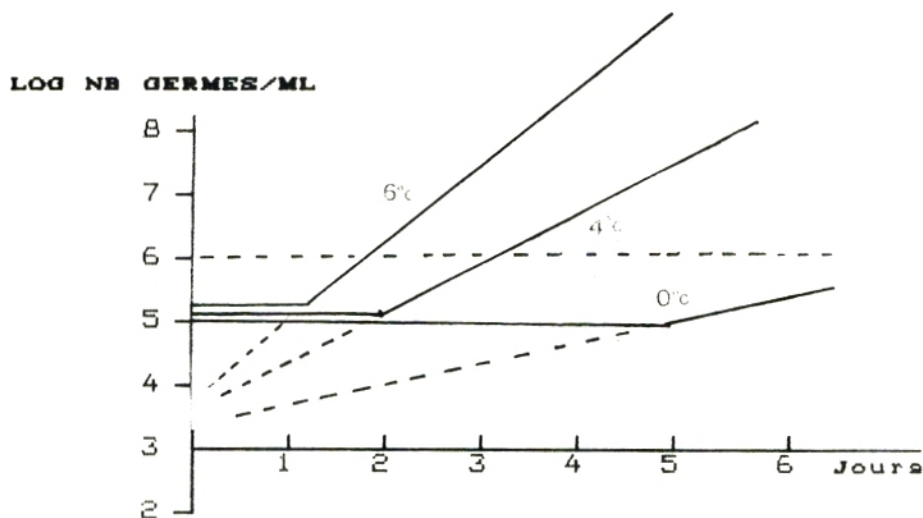


FIGURE 1

MULTIPLICATION DES GERMES DANS LE LAIT EN FONCTION DE LA
 TEMPERATURE DE CONSERVATION ET DE LA DUREE DE STOCKAGE
 (d'après AUCLAIR 1980 cité par MAHIEU 1985 a)

D'après ces représentations, on peut observer qu'un lait peu riche en germes peut se conserver 3 jours à 4° C s'il est refroidi dans de bonne conditions . Cependant le 3 ème jour , le seuil du million de germes est atteint , seuil critique d'altération des produits : ce seuil critique est atteint dès le 2 ème jour de conservation pour des laits contenant plus de 50.000 germes par millilitre (MAHIEU 1985 a) .

1.2.3-CONTAMINATION DU LAIT PENDANT LA COLLECTE

Pendant la collecte aussi le lait peut se contaminer , sous l'influence de plusieurs facteurs à savoir: la citerne si elle est mal ou non lavée, l'élévation de la température extérieure, & le mélange dans la citerne des laits de bonne qualité avec des laits de mauvaise qualité.

2.1.3.1-Température trop élevée du lait au moment de la collecte

L'élévation de la température du lait des citernes résulte de la mauvaise réfrigération des citernes d'où la croissance rapide des germes . (JOUGIER et COHEN-MAUREL et COHEN-MAUREL 1989 , MAHIEU 1985 a) .

La figure 2 montre l'évolution de la flore des laits au moment de la collecte ou avant pasteurisation comme l'indique FLUCKIGER (1981) cité par MAHIEU (1985 b).

Nombre de germes /ml
(10^3)

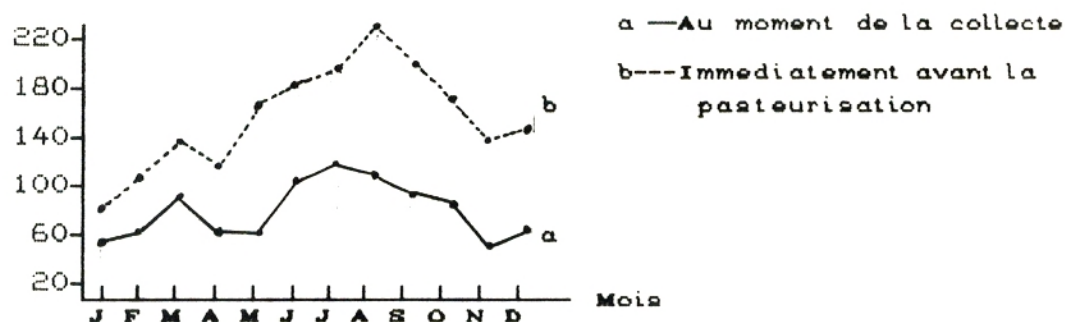


FIGURE N° 2

FLORE TOTALE DU LAIT DE TANK DE GARDE DU CENTRE DE COLLECTE
(FLUCKIGER , 1981 cité par MAHIEU 1985 b)

La courbe (a) atteint son maximum pendant le mois de juillet , la courbe (b) pendant le mois d'Août .Cela montre l'importance de l'élévation du nombre de germes durant les périodes chaudes d'où l'interêt de la réfrigération du lait et son maintien à basse température, pendant toute la durée de la collecte .

Lors d'enquêtes effectuées en Norvège durant les années 1978-1982 , les résultats suivants ont pu être observés par MAHIEU (1985 b) .

Fréquence relative

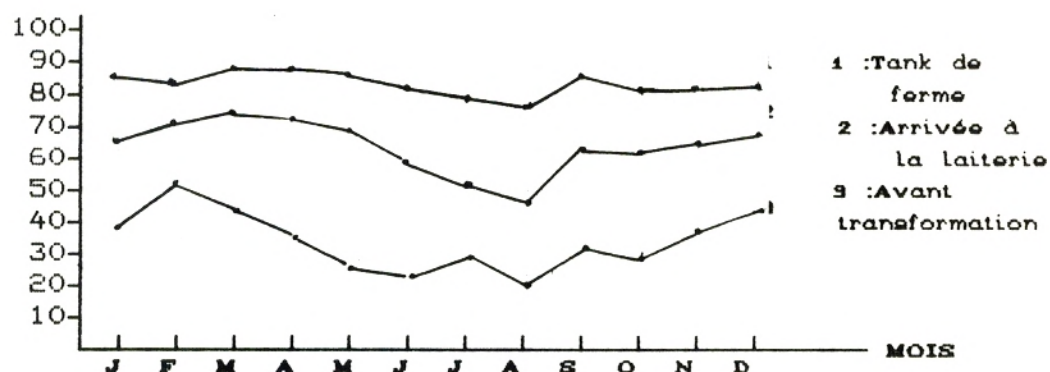


FIGURE N° 3

FREQUENCE RELATIVE DES LAITS AYANT UNE TENEUR EN GERMES TOTAUX INFÉRIEURE A 100 000

(NORVEGE 1978-1981)

(MAHIEU 1985 b)

-La qualité bactériologique du lait décroît considérablement depuis le stockage dans le tank de ferme jusqu'à son utilisation finale .

Si 85 à 90% des laits de tanks , au cours de l'enquête contenaient moins de 100.000 bactéries par ml , ce pourcentage était réduit à 50-70% à l'arrivée à la laiterie et à 30-50% immédiatement avant l'utilisation pour des transformations .

-Le nombre d'échantillons dont la teneur des germes est supérieure à 500.000 au moment de la transformation est plus important durant les mois de Mai à Septembre . (MAHIEU 1985 b) .

1.2.3.2-Apport dans la citerne de collecte de lait de très mauvaise qualité bactériologique

Il est amplement démontré que la mauvaise qualité du lait des citernes résulte souvent de l'apport de petites quantités de lait de très mauvaise qualité (MAHIEU 1985 b , CNERNA* 1984) .

Durant le ramassage , deux traites , et parfois quatre traites sont versées dans la citerne , (MAHIEU 1985 b) Le CNERNA recommande de ne pas stocker à la ferme , le lait de plus de quatre traites , (MAHIEU 1985 b) .

Le lait des bidons non réfrigérés ou le lait refroidi à une température supérieure à 4°C est souvent mélangé au lait réfrigéré dans la citerne .

Tout ceci constitue une cause majeure de la mauvaise qualité du lait des citernes .

Ainsi la séparation des bons et mauvais laits au moment de la collecte en utilisant des citernes différentes ou des citernes à deux compartiments est très importantes pour éviter la contamination du lait , (MAHIEU 1985 b , CNERNA 1981) .

1.2.3.3-Contamination par la citerne

Il est recommandé un nettoyage après chaque tournée, avec alternance des nettoyages alcalins et acides, et un lavage de longue durée tous les mois .

La canne suceuse est sans doute l'un des éléments qui risque le plus de contaminer massivement le lait en l'absence de précautions particulières .

Un dispositif de rinçage automatique à l'eau javellisée entre chaque ferme doit être installé sur les camions (JOUGIER et COHEN-MAUREL 1989) .

* C.N.E.R.N.A. : Centre National de coordination des études et recherche sur la nutrition et sur l'alimentation .

1.2.4-COMPARAISON DE LA TENEUR EN GERMES ENTRE DES ECHANTILLONS DE LAIT PRIS A LA FERME , ET DES ECHANTILLONS DE LAIT PRIS A LA LAITERIE .

Le tableau N° 7 montre l'accroissement de la teneur en germes entre la ferme et la laiterie . THOMAS (1974) compare la teneur en germes de laits ramassés tous les jours et de laits des citernes correspondantes à l'arrivée à la laiterie au Pays de Galles . L'accroissement est particulièrement appréciable pour les numérations en psychrotrophes et en Coliformes , les thermorésistants ne se multipliant pas ou très peu dans la laiterie (MAHIEU 1985 b) .

TABLEAU N° 7

COMPARAISON DE LA TENEUR EN GERMES DE LAIT REFRIGERE
RAMASSE QUOTIDIENNEMENT SELON DES ECHANTILLONS DANS
DES REFROIDISSEURS A LA FERME ET DANS DES CITERNES
A L'ARRIVEE A LA LAITERIE

(THOMAS , 1974)

TENEUR EN GERMES	PRELE- VEMENTS	NOMBRE ECHANTILLONS LAIT	<1000	1000 10000	>10000 50000	>50000 100000	> 100000
GermeS Totaux sur YMA 72h à 30°C	Ferme Laiterie	369	0.0	32.2	44.4	11.7	11,7
		73	0.0	2.8	45.2	27.4	24,6
Psychrotro- phes sur YMA 7 jours à 3,5°C	Ferme Laiterie	369	91.7	6.4	1.9	0.0	0,0
		60	55.0	30.0	13.3	10	0,0
Thermoresis- tants sur YMA 4 jours à 30°C	Ferme Laiterie	369	83.8	11.5	3.9	0.8	0,0
		73	68.5	27.4	4.1	0.0	0,0
			> 1	1.10	>10.100	>100.1000	>1000
Coliformes Aérogènes sur VRB Agar 18-20h à 30°C	Ferme Laiterie	369	18.7	47.2	26.0	8.1	0,0
		68	2.9	7.4	52.9	33.9	2,9

VRB : Violet Red Bile Agar

YMA : Yeastred Milk Agar



2 . MATERIEL ET METHODES DE TRAVAIL

2.1-LES ECHANTILLONS :

Nous avons prélevé 176 échantillons durant notre travail .

L'échantillonnage a été réalisé durant une année, d'octobre 88 à septembre 89.

A l'usine de l'OROLAIT* de Sidi-Bel-Abbes , les échantillons sont pris à partir des citernes dès leur arrivées.

A la ferme ou à l'E.A.C*, les échantillons sont pris à partir des bidons ou des cuves réfrigérantes, sachant que la traite est effectuée deux fois par jour, le matin vers 3 heures et l'après-midi vers 16 heures.

2.2-LES LIEUX DE COLLECTE :

L'usine OROLAIT de Sidi Bel-Abbes est approvisionnée quotidiennement par trois citernes collectant le lait des fermes et E.A.C de la région. Ces citernes empruntent chacune un trajet ou ligne correspondant à une direction donnée tel que le montre la carte, en page suivante.

Le trajet est de 90 km pour la ligne une et deux, est de 120 km pour la ligne trois. La durée du ramassage est fonction des possibilités d'accès aux lieux de production.




les laits de ferme, et d'E.A.C sont collectés dans les mêmes citernes entre 4 heures et 10h du matin.

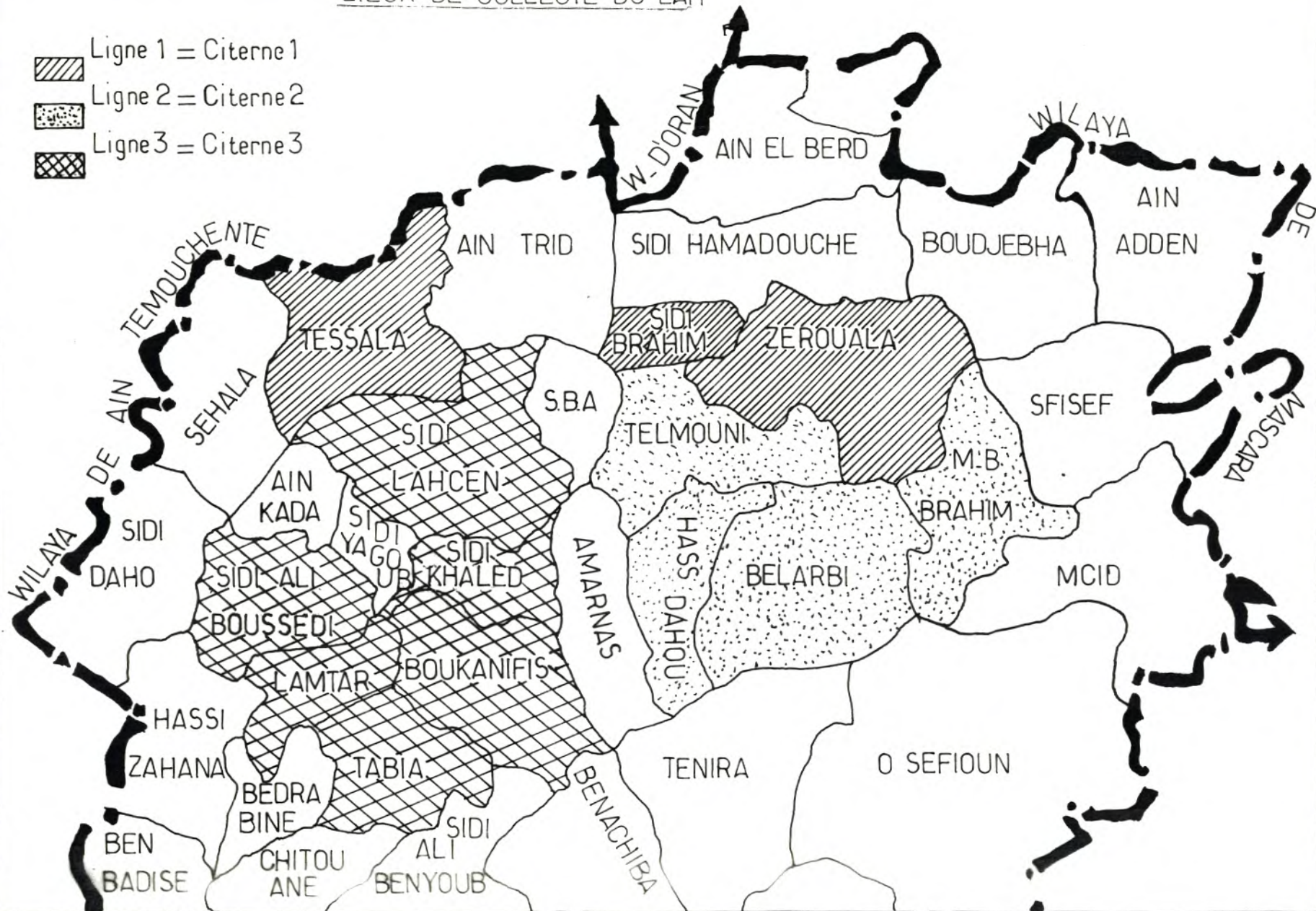
Pendant le transport , la température est d'environ 20°C dans les citernes réfrigérantes .

La tournée, ayant lieu tous les jours de 4 heures à 10 heures du matin, ne peut collecter le lait de toutes les fermes et E.A.C chaque jour , le lait non collecté est alors réfrigéré jusqu'au lendemain. En fait dans la citerne il y a toujours un mélange de lait de 24 heures et de lait de 48 heures (réfrigéré) .

* : Voir annexe I

LIEUX DE COLLECTE DU LAIT

-  Ligne 1 = Citerne 1
-  Ligne 2 = Citerne 2
-  Ligne 3 = Citerne 3



2.2.1-QU'APPELLE T'ON UNE E.A.C ?

Une E.A.C est une Exploitation Agricole Collective. Comme son nom l'indique , ce sont des exploitations publiques dont les activités recouvrent aussi bien l'exploitation agricole que la production laitière .

Ces E.A.C possèdent en général deux ou trois étables abritant quelques dizaines de vaches . Elles ont presque toutes des cuves réfrigérantes et des machines à traire .

L'OROLAIT de Sidi-Bel-Abbes leur apporte son soutien en leur fournissant des produits de nettoyage et de désinfection, quand les possibilités existent, et leur assure la maintenance du matériel de traite.

Trois E.A.C. ont arrêtées leur production de lait en 1989, faute de fourrage à cause de la sécheresse, d'où une chute de la production laitière dans la région.

2.2.2-QU'APPELLE T'ON UNE FERME ?

A l'opposé les fermes sont des exploitations appartenant à des propriétaires privés et qui vendent leur lait à l'OROLAIT.

Elles ne bénéficient pas du soutien technique de l'OROLAIT, et sont obligées de s'assumer toutes seules. Elles sont de niveau variable selon les propriétaires.

Certains producteurs transportent eux même le lait à l'usine . Chez d'autres par contre , le lait est ramassé par les citernes . Dans notre étude nous nous sommes intéressés seulement au lait des fermes collecté par les citernes .

2.2.3-CONDITIONS HYGIENIQUES DES EXPLOITATIONS

Nous avons constaté la même mauvaise hygiène aussi bien au niveau des E.A.C qu'au niveau des fermes, à de quelques rares exceptions : manque d'aération des étables , murs non peints , sols non nettoyés , animaux sales , matériel de traite et de conservation non lavés etc...

-Au niveau des E.A.C. , les travailleurs se plaignent du manque d'eau , de l'insuffisance des produits de nettoyages et de désinfection (bien que toutes les E.A.C disposent de puits et parfois même d'eau courante) .

-Au niveau des fermes , l'exploitant se plaint du manque de main d'oeuvre , du manque d'eau , et de la cherté et rareté des produits de nettoyage et de désinfection .

2.2.4-CONDITIONS HYGIENIQUES DE COLLECTE

Au niveau de l'usine , les citernes sont lavées à l'eau froide , après chaque collecte .

Une fois par semaine en hiver et deux fois par semaine en été , les citernes subissent le traitement suivant .

- Lavage à l'eau chaude à 85°C .
- Lavage avec de la soude diluée .
- Rinçage à l'eau froide .
- Lavage avec de l'acide dilué .
- Rinçage à l'eau froide .
- Lavage avec de l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) dilué dans de l'eau froide .
- Rinçage à l'eau froide .

Occasionnellement, ces citernes subissent un lavage en circuit fermé qui consiste à laisser circuler l'eau puis les produits de nettoyage pendant 20 à 30 minutes .

2.3-LES MODES DE PRELEVEMENTS

Deux modes de prélèvements , ont été utilisés :

2.3.1-PRELEVEMENTS A PARTIR DES BIDONS OU DES CUVES REFRIGERANTES (à l'exploitation)

A l'aide d'une tige et d'un coton imbibé d'alcool , on réalise une torche pour flamber l'ouverture du bidon ou de la cuve réfrigérante au niveau du couvercle . On débouche , le récipient en dirigeant la flamme horizontalement à quelques centimètres au dessus de la surface du liquide . Tout en maintenant la flamme à proximité , on dégage une pipette de son tube protecteur, on la flambe et on prélève quelques millilitres de lait . Qu'on transfère dans un tube à essai stérile .

2.3.2-PRELEVEMENTS A PARTIR DES CITERNES (à l'usine)

Immédiatement , après l'arrivée des citernes , on flambe énergiquement le robinet d'un compartiment et on crée une atmosphère stérile de protection. Tout en maintenant la flamme à proximité , on ouvre un peu le robinet, après élimination du premier jet environ 1/4 de litre, on remplit un tube à essai stérile .

2.4 CONSERVATION DES ECHANTILLONS ET TRANSPORT

2.4.1-ECHANTILLONS PRIS A L'USINE

Les échantillons prélevés sont conservés dans le réfrigérateur ou la température est située entre 0° et 5°C en attendant de commencer les analyses qui se faisaient généralement le jour même.

Lorsque le traitement ne pouvait pas se faire le jour même, les échantillons étaient congelés sans que le délai ne dépasse une semaine.

2.4.2-ECHANTILLONS PRIS DANS DES E.A.C OU DES FERMES

Les échantillons prélevés durant la tournée sont acheminés dans une glacière, pour être analysés le jour même au laboratoire. En cas d'impossibilité ils sont conservés au congélateur dans les mêmes conditions que les échantillons prélevés à l'usine.

2.5-MILIEUX DE CULTURE , REACTIFS ET SOLUTIONS

2.5.1-MILIEUX DE , CULTURE SOLIDES

La composition des milieux utilisés est donnée dans l'annexe II .

-Le milieu Baird Parker : Agar sélectif , pour l'isolement et la différenciation des Staphylocoques (HARVEY et GILMOUR 1989) .

-Le milieu DLA (Désoxycholate Lactose Agar) , utilisé pour le dénombrement des Coliformes (MARCHAL et al 1982 , ANONYME 1987) .

-Le milieu EMB (Eosine Methylene Blue) , permet de différencier les Entérobactéries capable de fermenter le lactose , ou le saccharose ou les deux sucres à la fois , de celles qui ne les fermentent pas (BIOMERIEUX 1980 , BECKER et al 1985) .

-Gelose à l'extrait de Malt: Pour l'isolement et le dénombrement des Levures et Moisissures (MARCHAL et al 1982 , ANONYME 1987) .

-Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) : pour le dénombrement des Levures et Moisissures (MARCHAL et al 1982 ANONYME 1987) .

-Le milieu TGE (Tryptone Glucose Extract Agar) , utilisé pour la détermination du nombre total de germes aérobies (MARCHAL et al 1982 , ANONYME 1987) .

Préparation des milieux de cultures

La quantité du milieu déshydraté recommandée par le fabricant est dissoute dans un litre d'eau distillée . On mélange jusqu'à obtention d'une suspension homogène , on chauffe lentement en agitant fréquemment puis on porte à ébullition jusqu'à dissolution complète . On répartit 10 à 15 ml de produit dans chaque tube (la quantité varie selon les milieux), puis on stérilise à l'autoclave pendant 20 minutes à 121°C . On conserve ces milieux au réfrigérateur entre 0°C et 5°C .

2.5.2 MILIEUX DE CULTURE LIQUIDES (MARCHAL et al 1982, ANONYME 1987 , PETRANSXIENE et LAPIED 1981) .

La composition des milieux utilisés est donnée dans l'annexe II.

-Le milieu Rothe : C'est un bouillon , pour l'enrichissement , et l'identification des Streptocoques fécaux-.

-Le milieu Litsky : utilisé pour la recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux :

Le milieu Rothe sert au test présomptif , le milieu Litsky au test confirmatif .

-Eau peptonée exempte d'indole : les bactéries dites indologènes , produisent de l'indole dans cette eau .

-Bouillon Coeur-Cerveau (B.H.I = Brain-Heart infusion) : pour la recherche de la staphylocoagulase .

-Bouillon viande-Foie (V.F) glucosé à 2% , il permet la croissance de nombreuses bactéries aérobies et anaérobies .

-Bouillon Giolitti et Cantoni pour l'enrichissement de Staphylococcus aureus .

Ces bouillons sont commercialisés , prêts à l'emploi par l'Institut Pasteur d'Alger dans des tubes à essai .

2.5.3-REACTIFS ET SOLUTIONS

-Solution de dilution

La solution de dilution utilisée dans notre travail est le milieu de Ringer dont la composition est donnée en annexe II~~X~~ .

Dans un litre d'eau distillée , on met deux comprimés de Ringer qu'on laisse bien dissoudre , puis on répartit la solution dans des tubes à essai stérile à raison de 9 ml pour chaque tube , et on autoclave , 20 mn à 121°C .

-Tellurite de potassium

Additionné au jaune d'oeuf , il donne la couleur noire aux Staphylococcus et Micrococcus sur le milieu Baird Parker (MARCHAL et al 1982) .

-Plasma de Lapin

Parmi les cocci Gram positifs , catalase positives , seules les souches de Staphylococcus aureus provoquent la coagulation du plasma oxalaté de lapin dans un délai de 24 heures . Cette production de coagulation permet de différencier les souches de Staphylococcus aureus des souches de Staphylococcus epidermis et de Micrococcus (PETRANSXIENE et LAPIED 1981 , ANONYME 1987) .

-Réactif d'Erlich Kovacs

Il permet de confirmer l'existence des indologènes en formant un anneau rouge dans l'eau peptonée .

-Galeries API 20 E

Elles permettent l'identification de 20 Entérobactéries. La composition de cette galerie et sa notice d'emploi figurent dans l'annexe IV .

2.6-TECHNIQUES D'ANALYSES DES ECHANTILLONS

L'échantillon de lait est dilué . Ces dilutions sont utilisées pour ensemercer des milieux solides ou liquides qui sont ensuite incubés .

La lecture des résultats est réalisée soit par comptage des colonies , soit en mesurant un nombre approximatif .

2.6.1-DILUTION

Dans un premier temps , nous avons testé plusieurs dilutions pour la recherche des différentes espèces .

Nous avons pu ensuite limiter le nombre de dilutions pour obtenir des cultures dénombrables .

- Pour Coliformes , Levures , moisissures et germes totaux :
dilution -4 et -5 :
- Pour Staphylococcus aureus : Dilution -2 et -1
- Pour bacilles Gram négatifs et Streptocoques fécaux :
dilution -4 et -3 .
- Indolgènes : dilution -3,-4 et -5 ; et -4,-5 et -6
d'autre part .On ensemence trois ou six tubes pour chaque analyse .

2.6.2-ENSEMENCEMENT

Tous les bouillons et géloses sont ensemencés en masse, sauf les milieux LITSKY et VF qui sont encemencés à l'aide d'une anse de platine .

2.6.3-INCUBATION

Les géloses DLA , EMB , Baird Parker et les bouillons de Rothe , Litsky , VF , Giolitti et Cantoni , eau peptonée et BHI sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 48 heures .

Les géloses de TGE sont incubées dans une étuve à 30°C pendant 48 heures aussi .

Et les géloses de PDA est extrait de Malt sont incubées pendant cinq jours .

-Soit dans des étuves à 20° C en hiver .

-Soit à température ambiante en été .(la climatisation assure une température d'environ 20°C) .

2.6.4-LECTURE

Le dénombrement en milieux solides se fait à l'aide d'un compteur de germes .

En milieu liquide , c'est à dire pour les bouillons Litsky et eau peptonée , on peut donner un nombre approximatif (PETRANSXIENE et LAPIED 1981) de la manière suivante :

-pour la dilution 1/10 de millilitre ou -1 : si le résultat est positif, on dira qu'il ya entre 10 et 100 microorganismes par millilitre .

-Pour la dilution 1/100 de ml ou -2 : Résultat positif : entre 100 et 1000 microorganismes par ml .

-1/1000 de ml ou -3 : résultat positif : entre 1000 et 10.000 microorganismes par ml ect...

-Si la dilution -4 n'est pas effectuée , le résultat de la dilution -3 lorsqu'il est positif doit être exprimé par : plus de 1000 microorganismes par ml (>1000 microorganismes par ml) .

2.7-METHODES D'IDENTIFICATION DES GERMES

Nous avons utilisés , des méthodes classiques , pour identifier les différents germes : utilisation de milieux selectifs ou bien utilisation de galeries biochimiques .

2.7.1-STREPTOCOQUES FECAUX

A l'aide d'une anse de platine , on prend une boucle du milieu Rothe positif , qu'on ensemence dans le milieu Litsky stérile . On incube ce milieu à 37°C . Après 48 heures , si le milieu Litsky est trouble , on confirme alors qu'il existe des Streptocoques fécaux , si par contre le milieu n'est pas trouble , on dira alors qu'il ya absence de Streptocoques fécaux (PETRANSXIENE et LAPIED 1981) .

2.7.2-STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Dans le milieu Baird Parker se développe trois ou quatre types de germes : Micrococques , Streptocoques , Staphylocoques (DELARRAS 1976 , DELARRAS 1977) . En général Staphylococcus aureus se présente en colonies brillantes de forme irrégulière avec un halo clair (MERCK 1980 , MARCHAL 1982) . La recherche du Staphylococcus aureus se fait en plusieurs étapes .

* La phase d'enrichissement :

Elle consiste à mettre 1 ml de lait dans 9 ml de milieu de Giolitti et Cantoni , puis on porte les tubes ensemencés à l'étuve à 37° C. Après 48 heures , si les tubes présentent un noircissement ou une couleur grisâtre , on passe à l'examen microscopique (STANIER 1966 , PETRANSXIENE et LAPIED 1981) .

* Examen microscopique

Il consiste à préparer un étalement sur lame , puis à colorer la préparation par la technique de Gram . S'il ya présence de cocci Gram positifs associés en grappes de raisins , on passe au troisième test .

* La recherche du mode respiratoire

Elle consiste à ensemencer quelques colonies bactériennes dans le milieu viande foie (VF) . Après incubation à 37° C pendant 48 heures , la culture se développe sur toute la profondeur du milieu , donc il est aéro-anaérobie .

* La recherche de la catalase

Staphylococcus aureus décompose l'eau oxygénée en eau et oxygène en produisant des bulles gazeuses . (PETRANSXIENE et LAPIED 1981) .

* La recherche de la coagulase

C'est le test le plus important .

On prélève 0,5 ml d'une culture de 24 heures à 37°C en bouillon coeur-cerveau (BHI) . On y ajoute 0,5 ml de plasma de lapin , puis on incube pendant 24 heures à 37°C . Une coagulation totale révèle la présence de Staphylococcus aureus . (PETRANSXIENE et LAPIED 1981 , HARVEY et GILMOUR 1985) .

2.7.3-LES INDOLOGENES

Pour confirmer l'existence des indologènes dans l'eau peptonée , on doit mettre quelques gouttes de réactif de Kovacs dans les tubes d'eau peptonée après leur incubation . L'apparition d'un anneau rouge montre la présence d'indologènes .

2.7.4-BACILLES GRAM NEGATIFS

Les colonies isolées sur milieu E.M.B ont des aspects différents : grandes ou petites , ovales , plates , bombées , etc... .

L'identification de ces espèces est réalisée à l'aide de galeries API 20E en suivant les recommandations du fournisseur (voir annexe IV) .



3 RESULTATS

nous avons fait des prélèvements de lait à partir des vaches au moment de la traite , puis au niveau des bidons à la fin de la traite , puis au niveau des cuves réfrigérantes lorsqu'elles existent , et enfin au niveau des citernes lorsqu'elles sont rendues à l'usine .

Lait de traite→lait stocké→lait réfrigéré→lait transporté
(vache) (bidon) (cuve) (citerne)

3.1-ANALYSE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES LAITS D'UNE E.A.C ET D'UNE FERME

Les résultats suivants ont été obtenus pour des laits prélevés au niveau d'une E A C et d'une ferme pendant le mois de Septembre 89.

3.1.1-LAITS PRELEVES DE L'ANIMAL

Les prélèvements sont effectués au moment de la traite .

Un exemple des résultats obtenus est donné dans le tableau n°8 a et n°8 b. Ces résultats montrent que les laits sont riches en germes. Ils contiennent en effet $2 \cdot 10^6$ germes totaux/ml à l'E.A.C et $2,7 \cdot 10^6$ germes totaux/ml à la ferme.

-pour le lait de la vache 1 .

Nous avons dénombré $1,4 \cdot 10^6$ Levures et Moisissures/ml mais pas d'indologènes ni de Streptocoques fécaux, mais il y a présence de bacilles Gram négatifs (Enterobacter et Proteus).

-pour le lait de la vache 2 .

Le lait contient $1,6 \cdot 10^6$ de Levures et Moisissures /ml . on y trouve des indologènes et des bacilles Gram négatifs (Proteus et Enterobacter) mais pas de Streptocoque fécaux.

3.1.2-LAITS PRELEVES DES BIDONS

Les bidons rassemblent les laits de plusieurs animaux , de la même ferme ou la même E.A.C.

Ces prélèvements sont effectués après la fin de la traite .

Le tableau N° 8 a et b montre un exemple des résultats obtenus : le nombre de germes totaux passe de $3,6.10^6$ germes/ml à $> 3.10^7$ germes/ml selon les lieux de collecte .

3.1.3-LAITS PRELEVES DES CUVES REFRIGERANTES

Les cuves rassemblent les laits de plusieurs bidons au niveau de chaque exploitation (E.A.C ou ferme) .

Un exemple des résultats de l'analyse des échantillons figure dans le tableau N°8 a et b .

La quantité de germes totaux varie de 5.10^6 germes/ml (ferme) à $> 3.10^7$ /ml (E.A.C) .

Parmi cette flore totale on a distingué $4,8.10^6$ de Levures et Moisissures /ml à la ferme et 10^7 germes/ml à l'E.A.C .

On a trouvé des indologènes , des Streptocoques fécaux et des bacilles Gram négatifs dans les deux cas .

TABLEAU N° 8

ANALYSE DU LAIT PRIS DANS UNE E.A.C ET DANS UNE FERME

a- à l'E.A.C.

PRELEVEMENTS GERMES	Vache 1	Bidon 1	Cuve 1
Germes totaux /ml	2.10^6	$>3.10^7$	$>3.10^7$
Levures et Moisissures /ml	$1,4.10^6$	$9,5.10^6$	10^7
Indologènes /ml	Absence	entre 10^2 et 10^3	entre 10^4 et 10^5
Streptocoques fécaux /ml	Absence	entre 10^3 et 10^4	entre 10^3 et 10^4
Bacilles Gram négatifs	<u>Enterobacter</u> <u>Proteus</u>	<u>Proteus</u> <u>Enterobacter</u> <u>E.coli</u>	<u>Proteus</u> <u>Enterobacter</u> <u>E.coli</u>

b- à la ferme

PRELEVEMENTS GERMES	Vache 2	Bidon 2	Cuve 2
Germes totaux/ml	$2,7.10^6$	$3,6.10^6$	$5,0.10^6$
Levures et Moisissures /ml	$1,6.10^6$	$2,9.10^6$	$4,8.10^6$
Indologènes /ml	entre 10^5 et 10^6	entre 10^5 et 10^6	entre 10^5 et 10^6
Streptocoques fécaux /ml	Absence	entre 10^4 et 10^5	entre 10^4 et 10^5
Bacilles Gram négatifs	<u>Proteus-</u> <u>Enterobacter</u>	<u>Proteus</u> <u>Enterobacter</u> <u>E.coli</u>	<u>Proteus</u> <u>Enterobacter</u> <u>E.coli</u> <u>Klebsiella</u> <u>shigella</u> <u>salmonella</u>

Les prélèvements et les analyses ont été faits en Septembre

89 .

3.2-ANALYSE QUALITATIVES DES LAITS DES DIFFERENTES FERMES, ET E.A.C et CITERNES

Nous avons prélevés des échantillons de lait d'une dizaine de vaches provenant de ferme et d'E.A.C .

Le tableau N° 9 regroupe les résultats obtenus.

Les Levures et Moisissures sont toujours bien représentées au niveau du lait de traite et bien sûr des bidons, des cuves et des citernes. Par contre la présence d'indologènes de Steptocoques fécaux et de bacilles Gram négatifs n'est pas toujours observée pour les laits des vaches et des bidons.

TABLEAU N° 9
ANALYSE DU LAIT PRIS DANS DIFFERENTES
FERMES ET E.A.C ET A L'USINE

GERMES	PRELEVEMENTS		NOMBRE TOTAL D'ECHANTILLONS	NOMBRE D'ECHANTILLONS CONTENANT LE GERME
GERMES TOTAUX	E. A. C	Vâche	10	10
	et	Bidon	10	10
	ferme	Cuve	02	02
	Usine	citerne	04	04
Levures et Moisissures	E. A. C	Vâche	10	10
	et	Bidon	10	10
	ferme	Cuve	02	02
	Usine	Citerne	04	04
Indologènes	E. A. C	Vâche	10	3
	et	Bidon	10	6
	ferme	Cuve	02	2
	Usine	Citerne	04	04
Streptocoques fécaux	E. A. C	Vâche	10	1
	et	Bidon	10	6
	ferme	Cuve	02	2
	Usine	Citerne	04	04
Bacilles Gram négatifs	E. A. C	Vâche	10	8
	et	Bidon	10	9
	ferme	Cuve	02	2
	Usine	Citerne	04	04

3.3-ANALYSE DES LAITS DURANT UNE TOURNEE DE LA CITERNE

La citerne est destinée à collecter le lait de mélange produits par les différentes fermes et E.A.C d'une ligne.

La durée de cette collecte est de cinq heures . Le lait est gardé à 20° C dans la citerne .

Des échantillons ont été prélevés de bidons ou de cuves réfrigérantes de différentes fermes et E.A.C., et de la citerne après la collecte .

Les résultats des analyses figurent dans le tableau N°10 . Les valeurs trouvées pour la flore totale s'échelonnent de 3.10^5 germes/ml pour les laits les moins riches en germes à $> 3.10^7$ germes/ml pour les laits les plus riches .

Parmi cette flore totale , une évolution parallèle est observée pour les Levures et Moisissures . Par contre pour les indologènes le nombre varie entre 10^2 et 10^6 germes/ml. Les Streptocoques fécaux sont absents dans certains laits d'.E.A.C alors que les Enterobacteries sont toujours présents (Escherichia Coli , Klebsiella , Enterobacter, Proteus et Shigella). l'échantillon prélevé dans l'E.A.C 4 contient le plus faible nombre de germes totaux, ceci reflète l'état des lieux : en effet dans cette E.A.C les règles d'hygiène sont bien respectées.

TABLEAU N° 10
ANALYSE DU LAIT DURANT UNE TOURNÉE DE LA CITERNE

PRELEVEMENTS GERMES	E. A. C 1	E. A. C 2	E. A. C 3	E. A. C 4	E. A. C 5	E. A. C 6	E. A. C 7	FERME A	FERME B	CITERNE
Germes totaux 10^5 /ml	114	75	12	3	150	48	25	> 300	> 300	> 300
Levures et Moisissures 10^5 /ml	100	39	5	2,1	48	46	22	> 300	> 300	> 300
Indologènes /ml	entre 10^3 et 10^4	entre 10^3 et 10^4	entre 10^3 et 10^4	entre 10^2 et 10^3	entre 10^3 et 10^4	entre 10^3 et 10^4	entre 10^4 et 10^5	entre 10^5 et 10^6	entre 10^4 et 10^5	entre 10^5 et 10^6
Streptocoques fécaux /ml	entre 10^4 et 10^5	00	00	00	entre 10^2 et 10^3	entre 10^2 et 10^3	00	entre 10^4 et 10^5	entre 10^4 et 10^5	entre 10^4 et 10^5
Bacilles Gram négatifs	-E. C.	-E. C. -kleb -Ente	-E. C.	Abs	-Prot -E. C.	-Prot -Shig	-Prot -Shig	-Prot -E. C. -Ente -Kleb	-E. C. -Ente	-Prot -E. C. -Ente -Kleb -Shig

Prot : Proteus

E. C. : Escherichia coli

Kleb : Klebsiella

Ente : Enterobacter

Shig : Shigella

Abs : Absence

-Les fermes A et B sont choisies au hasard , d'autres fermes et E.A.C appartiennent à cette ligne .

-Les prélèvements et les analyses ont été fait vers la fin du mois de Mars 89.

3.4-EVOLUTION DE LA FLORE DE LAIT AU COURS D'UNE ANNEE

Les échantillons sont prélevés des citernes dès qu'elles arrivent à l'usine.

Nous avons analysé au total 103 échantillons . Les prélèvements ont été effectués à partir des trois citernes.

Nous avons étudié , la qualité hygiénique de ces laits en mesurant l'évolution des germes totaux et des Coliformes .

Chaque point de la courbe représente la moyenne des valeurs obtenues en un mois pour les trois citernes.

3.4.1 EVOLUTION DES GERMES TOTAUX

Les résultats sont présentés dans la figure 4 , courbe a .

De Novembre à Mai , la flore totale reste à un niveau constant d'environ 10^7 germes/ml .

De Mai à Août , il ya augmentation de la flore totale pour atteindre un maximum de $2,3 \cdot 10^7$ germes/ml .

A partir de Septembre , on note une diminution de la quantité de germes totaux .

3.4.2-EVOLUTION DES COLIFORMES

Les résultats sont présentés dans la figure 4 . courbe b .

L'évolution des Coliformes est parallèle à celle des germes totaux . La teneur en Coliformes varie de $2,5 \cdot 10^5$ germes/ml en Novembre à $4,3 \cdot 10^5$ germes/ml en Mai , avant d'atteindre un maximum de $8 \cdot 10^6$ germes/ml en Août .

A partir de Septembre , on observe , une diminution de cette flore .

RMES / ML

Courbe a : Germes totaux
Courbe b : Coliformes

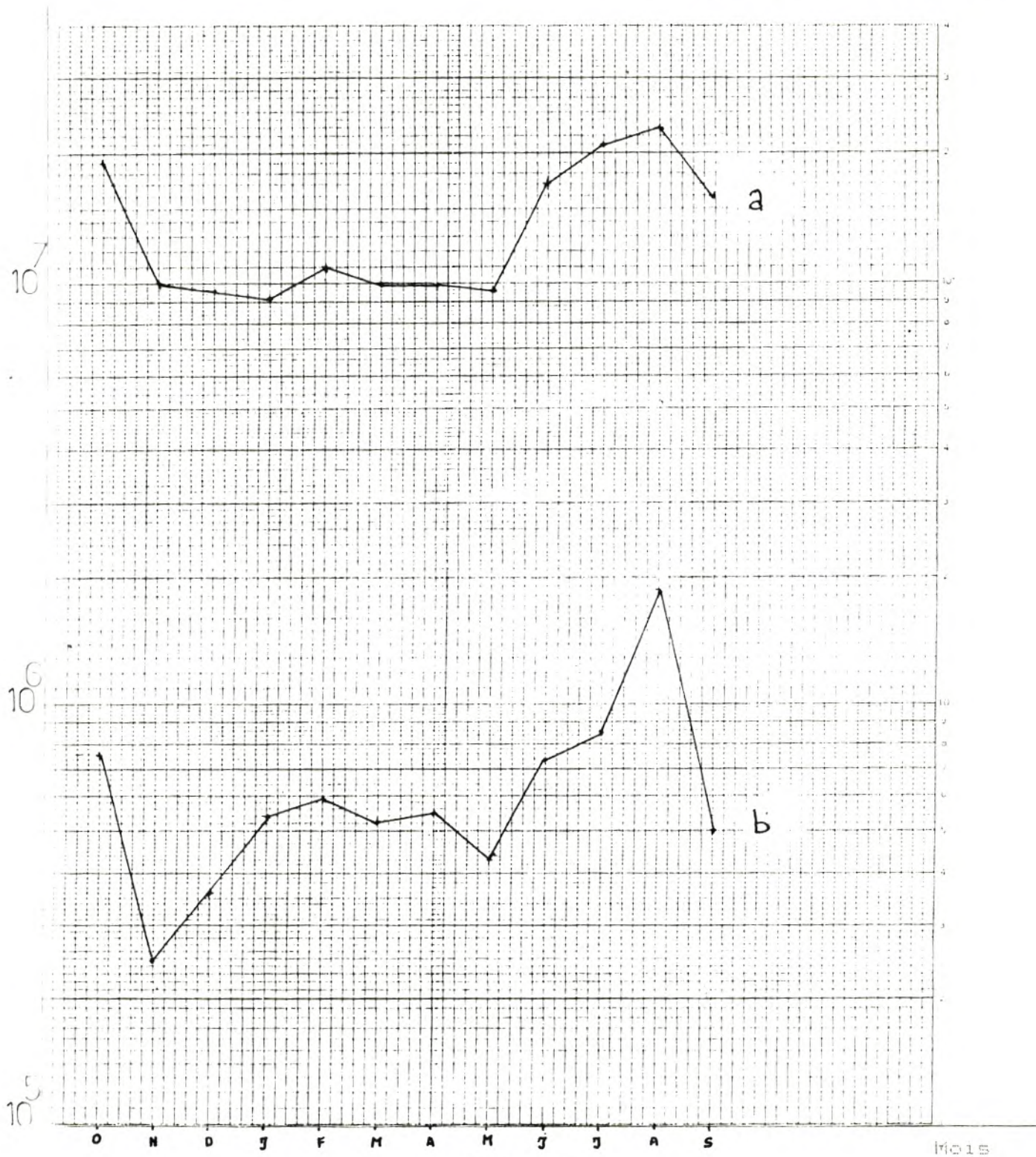


FIGURE N° 4

EVOLUTION DU TAUX DE GERMES TOTAUX ET DE COLIFORMES AU COURS D'UNE ANNEE

3.5-FREQUENCE DES GERMES TROUVES DANS LES LAITS COLLECTES A LA FERME , A L'E.A.C ET A L'USINE

Nous avons recherché , les bacilles Gram négatifs , Streptocoques fécaux, Staphylococcus aureus, les Levures, Moisissures et les indologènes dans 176 échantillons, provenant de l'usine (103 échantillons) des E A C (57 échantillons) et des fermes (16 échantillons).

Nous avons pu identifier plusieurs genres bactériens regroupant des bacilles à Gram négatif et des coques à Gram positif.

Ceci nous a permis d'évaluer le pourcentage d'échantillons contenant un germe particulier.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau n°11.

3.5.1-BACILLES A GRAM NEGATIF

Nous avons identifié les genres : Proteus, Escherichia, Enterobacter, klebsiella, Shigella, Salmonella, Pseudomonas et Citrobacter (voir tableau n°11a) Nous n'avons pas trouvés de Pseudomonas au niveau des fermes, alors qu'il est détecté au niveau des E.A.C et des citernes.

3.5.2-STREPTOCOQUES FECAUX ET STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Les Streptocoques fécaux sont en général plus fréquents que Staphylococcus aureus (tableau n°11 b).

En effet les Streptocoques fécaux sont retrouvés dans 80% des échantillons à l'usine , 40% dans les E A C et 54% dans les fermes.

Staphylococcus aureus est retrouvé dans 40% des cas à l'usine , 22% à l'E A C et 20% à la ferme.

3.5.3-LEVURES , MOISSURES ET INDOLOGENES

Ces flores sont très fréquentes dans tous les laits analysés (tableau n°11c).

Leurs fréquences sont voisines aussi bien à l'usine qu'à l'E A C et la ferme.

TABLEAU N° 11

FREQUENCE DES GERMES TROUVES DANS LES LAITS COLLECTES A
L'USINE A L'E.A.C. ET A LA FERME .

a- Bacilles Gram négatifs

GERMES	PRELEVEMENTS	NOMBRE D'ECHANTILLONS	POURCENTAGE D'ECHANTILLONS CONTENANT LE GERME
Proteus	Usine	103	86,56
	E. A. C.	57	72,04
	Ferme	16	59,25
Escherichia coli ssp	Usine	103	65,36
	E. A. C.	57	40,93
	Ferme	16	54,32
Enterobacter sp	Usine	103	64,03
	E. A. C.	57	63,85
	Ferme	16	59,25
Klebsiella sp	Usine	103	46,81
	E. A. C.	57	18,00
	Ferme	16	29,62
Shigella sp	Usine	103	30,90
	E. A. C.	57	19,64
	Ferme	16	14,80
Salmonella	Usine	103	14,12
	E. A. C.	57	08,18
	Ferme	16	4,93
Pseudomonas	Usine	103	8,83
	E. A. C.	57	8,18
	Ferme	16	00
Citrobacter	Usine	103	5,04
	E. A. C.	57	4,90
	Ferme	16	4,93

TABLEAU N° 11 (suite)

b- Staphylococcus aureus et Streptocoques fécaux

GERMES	PRELEVEMENTS	NOMBRE D'ECHANTILLONS	POURCENTAGE D'ECHANTILLONS CONTENANT LE GERME
Streptocoques fécaux	Usine	103	80,00
	E. A. C	57	39,29
	Ferme	16	54,32
Staphylococcus aureus	Usine	103	39,57
	E. A. C	57	22,10
	Ferme	16	19,75

c-Levures , Moisissures , et Indologènes

GERMES	PRELEVEMENTS	NOMBRE D'ECHANTILLONS	POURCENTAGE D'ECHANTILLONS CONTENANT LE GERME
Levures et Moisissures	Usine	103	95,00
	E. A. C	57	91,69
	Ferme	16	83,34
Indologènes	Usine	103	94,46
	E. A. C	57	88,41
	Ferme	16	83,94

l'identification complète des bacilles Gram négatifs révèle qu'il s'agit de :

- Proteus mirabilis
- Escherichia coli 1, E.coli 2 , E.adecarboxylata
E.vulneris .
- Enterobacter intermedium , Enterobacter agglomerans 1
Enterobacter agglomerans 3 et Enterobacter agglomerans 4
- Klebsiella pneumoniae , Klebsiella rhinoscleromatis
- Shigella sp 1 , Shigella sp 2 et Shigella sonnei
- Salmonella arizonae
- Citrobacter freundii

On a trouvé aussi dans deux échantillons de lait le genre Serratia .

4 DISCUSSION ET CONCLUSION

4.1-DISCUSSION

Les résultats des analyses effectuées montrent que les laits destinés à la consommation, sont de mauvaise qualité. Ceci est dû au manque d'hygiène tant au niveau des étables (mauvaise aération, murs non peints, sols non nettoyés), des animaux (mal ou non lavés) que du matériel de stockage et de conservation, comme les bidons et les cuves réfrigérantes (mal ou non lavés) avec le système de réfrigération qui n'est pas contrôlé. Tout ceci provoque une contamination du lait au cours de la traite ou pendant le stockage (tableau n°8 a et b).

Par conséquent, on peut dire que les contaminations du lait débutent dans les exploitations et se poursuivent dans les citernes (tableau n°9). Durant la tournée, plusieurs facteurs sont impliqués dans cette mauvaise qualité hygiénique du lait : mauvaise hygiène des citernes, mauvaise réfrigération, durée trop longue de la collecte et surtout mélange dans la citerne de lait de bonne qualité avec du lait de mauvaise qualité (par exemple E.A.C 3 et 4 et ferme A et B dans tableau n°10).

Pendant le transport, le facteur température joue un rôle important dans l'évolution de la flore : la croissance des microorganismes s'accroît durant les périodes les plus chaudes de l'année (figure n°3 courbes a et b). Ainsi au mois d'août, on trouve $2,3 \cdot 10^7$ germes totaux /ml. Ceci et à comparer aux résultats de FLUCKIGER (1981) cité par MAHIEU (1985 b), qui trouve $2,2 \cdot 10^5$ germes totaux /ml au mois d'août en France.

Les normes données par LE JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE FRANCAISE (1989) sont de $3 \cdot 10^5$ germes aérobies/ml pour des laits crus destinés à la pasteurisation (voir annexe III).

Nos valeurs se rapprochent plus des normes données pour la Tunisie et qui sont de 10^6 germes totaux /ml . pour un lait recolté et distribué dans de "bonnes conditions (KALLAL et al 1981) .

L'analyse du lait des exploitations ou le lait des citernes , nous révèle qu'il contient toujours des germes indésirables pour la qualité hygiénique et pour la qualité alimentaire : parmi les germes nocifs pouvant présenter des risque graves pour la santé des enfants , et surtout des nourrissons (PILET et al 1981 ,WALKER SMITH 1986 et RAMADE et al 1988), nous avons trouvé Staphylococcus aureus . Ce germe est à l'origine de diarrhées chez les enfants .

On trouve aussi très fréquemment des Streptocoques fécaux , indice de contamination fécale (tableau n°11) .

Parmi les bacilles Gram négatifs , nous avons trouvé des Coliformes : ces germes peuvent causer des troubles gastriques accompagnés de diarrhées et de vomissements (GRENIER et VILLOG cité par AZNI 1972) , en particulier , Escherichia coli, germe responsable de graves intoxications alimentaires (MOURGUES et al 1977 et MOCOUCOT 1979) .

Les genres Salmonella et Shigella sont assez fortement trouvés. Ces genres sont responsables de graves dysenteries. Et enfin nous avons détecté le genre Pseudomonas germes restant minoritaires .

4.2-CONCLUSION

Ce travail nous a permis d'étudier la qualité hygiénique du lait de vache produit dans la région de Sidi-Bel-Abbes .

Nous avons réalisé cette étude sur 176 échantillons collectés au cours d'une année .

L'analyse du lait des E.A.C. et des fermes confirme que la contamination se fait d'abord par les mamelles de vaches , par les mains des trayeurs , par la machine à traire , puis par les équipements de stockage et de conservation de lait (bidons et cuves réfrigérantes) .

Cette contamination se multiplie au cours de la tournée des citernes surtout durant les saisons chaudes .

En effet , le nombre de germes totaux augmente considérablement dans le lait des citernes , pendant les périodes chaudes jusqu'à atteindre 2.10^7 germes par millilitres , soit 20 fois plus qu'indiqué par les normes tunisiennes* et 200 plus que préconisé par les normes françaises .**

L'identification des microbes trouvés révèle que le lait de la région de Sidi-Bel-Abbes contient des germes qui peuvent être néfastes pour la santé du consommateur . Nous avons distingué des Streptocoques fécaux , Staphylococcus aureus , et des Coliformes , en particulier Escherichia coli et des salmonella .

Il est évident que des mesures d'hygiène draconiennes s'imposent pour remédier à cette mauvaise qualité du lait .

Parmi les mesures à prendre rapidement , il faut instaurer un contrôle rigoureux des systèmes de récoltes de conservation et de transport . L'utilisation des citernes à plusieurs compartiments est à recommander pour éviter le mélange des laits de bonne et de mauvaise qualité . Les opérations de nettoyages , à tous les niveaux doivent être conduites correctement et de préférence être automatisées .

Toutes ces opérations doivent être réalisées par des techniciens spécialisés qui doivent être formés par des services compétents. Leur mission sera de veiller à ce que les conditions d'hygiène soient respectées, aussi bien au niveau de la production (rôle de conseil au près des fermiers), qu'au niveau de la collecte, du stockage et de la transformation ou du traitement à l'usine. Ce personnel spécialisé devra aussi se charger du contrôle microbiologique systématique de lait.

Ces mesures conduiraient à une normalisation des productions laitières comme cela est le cas en Tunisie*, en France (** 10^5 germes aérobies/ml) et dans de nombreux autres pays.

Actuellement à l'usine de Sidi-Bel-Abbes, tout le lait récolté est pasteurisé avant d'être destiné à la fabrication de fromage. Ce lait n'est donc en principe pas destiné à la consommation directe. Cependant au niveau des centres de productions (essentiellement les fermes) ce lait cru est consommé par la population. Il est important de recommander au consommateur de bien faire bouillir le lait avant de le consommer.

Ce travail doit être poursuivi par une recherche spécifique des agents responsables de la typhoïde, diphtérie, cholera etc...

Ces germes doivent être recherchés systématiquement au cours des contrôles microbiologiques du lait afin de préserver la santé du consommateur.



ANNEXES

ANNEXE I

ABREVIATIONS UTILISEES

- A.F.N.O.R : Association Française de Normalisation
- A.P.I.20 E : Appareil et Procédé d'Identification pour 20
Entérobactéries
- B.H.I. : Brain-Heart-Infusion .
- C.N.E.R.N.A. : Centre National de coordination des Etudes et
de Recherche sur la Nutrition et sur
l'Alimentation
- C.N.R.S. : Centre National de Recherche Scientifique .
- D.L.A : Desoxycholate Lactose Agar .
- E.A.C. : Exploitations Agricoles Collectives .
- E.M.B. : Eosine-Méthylène Blue ou Bleu de Méthylène et
Eosine .
- F.I.L. : Fédération Internationale de Laiterie .
- OROLAIT : Office Régional Ouest du Lait et des
produits laitiers .
- P.D.A. : Potato-Dextrose-Agar .
- T.G.E. : Tryptone Glucose Extract Agar .
- V.F. : Viande - Foie .

ANNEXE II

MILIEUX DE CULTURES , SOLUTIONS ET REACTIFS

Baird Parker : Milieu de culture utilisé , pour l'isolement , et le dénombrement des staphylocoques coagulase positif , de Staphylococcus aureus en particulier.

Formule (en g/l d'eau distillée)

(BIOMERIEUX 1980 , ANONYME 1987, MARCHAL 1982)

-Peptone trypsique de caseine	10
-Extrait de viande de boeuf	4
-Extrait de levure	2
-Pyruvate de sodium	10
-Chlorure de lithium	5
-Glycocolle	12
-Agar	14
-pH	7,2

on ajoute au milieu , fondu puis ramené à 45-50° C, le jaune d'oeuf au téllurite de potassium (2 à 3 gouttes dans chaque tube) .

Ce milieu est Stérilisé à 121°c pendant 20 mn .

B.H.I. (Brain-Heart-Infusion) , ou coeur-cerveau .

Bouillon de culture utilisé pour la recherche de la staphylocoagulase .

Ce milieu est bien adapté à la croissance des microorganismes quel que soit leur mode respiratoire (aérobiose ou anaérobiose) .

Formule (en g/l d'eau distillée) (ANONYME 1987) .

-Protéose peptone	10
-Infusion de cervelle de veau	12,5
-Infusion de coeur de boeuf	5
-Chlorure de Sodium	5
-Phosphate disodique	2,5
-Glucose	2
-pH	7,4 ± 02

Stérilisé a 121° C pendant 20 mn

D.L.A : Désoxycholate lactose Agar , milieu de culture utilisé pour le dénombrement des Coliformes .

Formule (en g/l d'eau distillée) (BIOMERIEUX 1980) .

-Peptone	10
-Lactose	10
-Chlorure de sodium	5
-Citrates de sodium	2
-Desoxycholate de sodium	0,5
-Rouge neutre	0,033
-Agar	12,5
-pH	7,1 ± 0,1

L'autoclavage du DLA est déconseillé

E.M.B : Gélose lactosée-Saccharosée à l'Eosine et au Bleu de Méthylène utilisée pour l'isolement et le dénombrement des Entérobactéries .

Formule (g/l d'eau distillée) (BIOMERIEUX 1980 , ANONYME 1987)

-Peptone	10
-Phosphate dipotassique	2
-Lactose	5
-Saccharose	5
-Eosine	0,4
-Bleu de méthylène	0,065
-Agar	12
-pH	7,2 ± 0,2

Stérilisé à 121°C pendant 20 minutes

- Eau peptonée : Bouillon de culture pour la recherche des bactéries produisant l'indole .

Formule (en g/l d'eau distillée) (BIOMERIEUX 1980) .

- Peptone de caseine 10
 - Chlorure de sodium 5
 - pH 7,3 ± 0,2
- Stérilisé à 121°C pendant 20 minutes

- Extrait de Malt :Milieu destiné à l'isolement , au dénombrement et à la culture des Levures et Moisissures isolées de divers produits et tout particulièrement de produits laitiers .

Formule (en g/l d'eau distillée) (ANONYME 1987) .

- Extrait de Malt 30
 - Agar 12
 - pH 5,5 ± 0,2
- Stérilisé à 121°C pendant 20 minutes

- Giolitti et Cantoni : Milieu selectif d'enrichissement de Staphylococcus aureus

Formule (en g/l) (ANONYME 1987) .

- Tryptone 10
- Extrait de levure déshydraté 5
- Extrait de viande de boeuf déshydraté 5
- Glycocolle (glycine) 1,2
- chlorure se Sodium 5
- Chlorure de lithium 5
- Mannitol 20
- Pyruvate de sodium 3
- Eau 1000 ml
- pH 6,9 ± 0,1

Stérilisé à 121°C pendant 20 mn

-ROTHER : bouillon de culture utile pour la recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux (test présomptif) .
 Il existe en simple et en double concentration.
 Formule (en g/l d'eau distillé) (ANONYME 1987) .

	<u>Milieu simple</u> <u>concentration</u>	<u>Milieu double</u> <u>concentration</u>
-Hydrolysate tryptique de caseïne	12,6	25,2
-Peptone bactériologique	8	16
-Glucose	5	10
-Glucose de sodium	5	10
-Phosphate dipotassique	2,7	5,4
-Phosphate monopotassique	2,7	5,4
-Azide sodium	0,2	0,4
-pH	6,8 ± 0,2	

Stérilisé à 121°C pendant 20 minutes

- LITSKY : Bouillon de culture utilisé pour confirmer la présence des Streptocoques fécaux après utilisation du milieu ROTHER .

Formule (en g/l d'eau distillée) (BIOMERIEUX 1980) .

-Peptone de caseïne tryptique	20
-Glucose	5
-Chlorure de sodium	5
-Phosphate monopotassique	2,7
-Phosphate bipotassique	2,7
-Azide de sodium	0,3
-Ethyl violet	0,0005
-pH	6,8 à 7

Stérilisé à 121° c pendant 20 minutes

- P.D.A : Potato Dextrose Agar , gélose utilisée pour le dénombrement des Levures et Moisissures .

Formule (en g/l d'eau distillé) (BIOMERIEUX 1980) .

-Infusion de pomme de terre 4
-D (+) glucose 20
-Agar 13
-pH : 5,6 ± 0,1

Stérilisé à 121°C pendant 20 minutes

- T.G.E : Tryptone Glucose Extrat Agar : utilisé pour la détermination du nombre total de germes aérobies dans l'eau , le lait et les produits laitiers etc...

Formule (en g/l d'eau distillée) (BIOMERIEUX 1980) .

-Peptone de caseïne 5
-Extrait de viande 3
-D (+) glucose 1
-Agar 15
-pH 7,2

Stérilisé à 121°C pendant 20 minutes

- V.F : Viande Foie glucosé : le bouillon , Viande -Foie glucosé à 2 % est un milieu liquide qui permet la croissance de nombreuses bactéries aéro et anaérobies .

Formules (en g/l d'eau distillée) (ANONYME 1987) .

-Base Viande -Foie 29,5
-Glucose 2
-Chlorhydrate de cystéine 0,5
-pH 7,4 ± 0,2

Stérilisé à 121°C pendant 20 minutes

- RINGER (liquide) : est un milieu physiologique nécessaire pour la dilution des produits .

Formule (MARCHAL et al 1982)

-Chlorure de sodium	8,5	g
-Chlorure de potassium	0,25	g
-Bicarbonate de sodium	0,20	g
-Chlorure de calcium	0,30	g

Ajouter le chlorure de calcium seulement après dissolution des autres sels (pH = 7-7,4) .

Stérilisé par filtration , conservation limitée .

- Réactif de KOVACS: est utilisé pour la recherche des indologènes, le résultat est dit positif lorsqu'il y a présence d'un anneau rouge dans le bouillon d'eau peptonée.

Formule (BIOMERIEUX 1980 , MERCK 1986) .

-paradiméthylamino -benzaldéhyde	5	g
-alcool amylique	75	g
-Hcl pur	25	ml

Préparation : dissoudre l'aldéhyde dans l'alcool au bain-marie à 60 °c, refroidir et ajouter l'acide goutte à goutte en maintenant le récipient dans la glace .

Conserver à + 4°C en flacon ambré (bouchon en plastique) .

ANNEXE III

NORMES SANITAIRES ET QUALITATIVES DU LAIT EN FRANCE

Ces normes ont été fixées par arrêtés officiels parus dans le JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE FRANCAISE .

a) Arrêté du 6 Aout 1985 (MINISTERE DE L'AGRICULTURE 1985)
Le lait doit être exempt de microorganismes , ou toxines dangereux pour la santé publique , et satisfaire au critères suivants :

	Microorganismes aérobie à 30°C/ml	Coliformes fécaux par ml	Salmonella dans 1000ml	Streptocoque bêta ⁽¹⁾ et hémolytique dans 0,1 ml	Stabilité à l'ébullition
Au jour de conditionnement ⁽²⁾	$9 \cdot 10^4$	10^2	Absence	Absence	
A la date limite de consommation	$3 \cdot 10^5$	10^3	Absence	Absence	Stable

(1) : Sont retenus comme Streptocoques bêta hémolytiques ceux appartenant aux groupes A,B,C,G, et les Lancefield .

(2) : Du au jour de production (lait cru non conditionné en emballage individuel) .

b) Arrêté du 30 décembre 1988

cet arrêté concerne les laits cru destinés à la transformation en laits pasteurisés .

Il prévoyait des normes à atteindre en 1989 et 1990

	Germes aérobies mésophiles/ml	cellules somati- ques/ml
Auparavant il y avait	$5 \cdot 10^5$	$7,5 \cdot 10^5$
15 janvier 1989	$3 \cdot 10^5$ (1)	$5 \cdot 10^5$ (2)
1 avril 1990	10^5 (1)	$4 \cdot 10^5$ (2)

(1) : Moyenne constatée sur une période de deux mois avec au moins deux analyses par mois

(2) : Moyenne constatée sur une période de trois mois avec au moins une analyse par mois .

ANNEXE IV

IDENTIFICATION DES ENTEROBACTERIES (ANONYME 1988)

Mode opératoire

1 Préparation de la galerie

- réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- retirer la galerie de son emballage individuel et la déposer dans la boîte d'incubation.

2 Préparation de l'inoculum

- ouvrir une ampoule de **Suspension Medium** (API # 2011) ou utiliser un tube contenant 5 ml d'eau distillée stérile, sans additif.
- prélever à l'aide d'une pipette, une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

Inoculation de la galerie

- remplir tubes et cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne et avec la pipette ayant servi au prélèvement.
- remplir uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests.
- créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE en remplissant leur cupule d'**huile de paraffine**.
- refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18-24 heures.

4 Lecture de la galerie

- après 18-24 h à 35-37°C, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au **Tableau de Lecture**.
- noter sur la **fiche de résultats** toutes les réactions spontanées
- si le **glucose est positif** et/ ou si 3 tests ou plus sont positifs : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs
 - Test VP** : ajouter 1 goutte de réactifs **VP 1** et **VP 2**. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur ROSE FRANCHE ou ROUGE indique une réaction POSITIVE à noter sur la **fiche de résultats**
 - Test TDA** : ajouter 1 goutte de réactif **TDA**. Une couleur MARRON FONCE indique une réaction POSITIVE à noter sur la **fiche de résultats**.
 - Test IND** : ajouter 1 goutte de réactif **IND**. Attendre 2 minutes. Un ANNEAU ROUGE indique une réaction POSITIVE à noter sur la **fiche de résultats**.
 - Test OXYDASE** : ajouter 1 goutte de réactif **OX** dans l'un des tubes négatifs H₂S ou ONPG. Attendre 5 à 10 minutes. Une coloration VIOLET FONCE indique une réaction POSITIVE, à noter sur la **fiche de résultats**
 - Test NO₂** : ajouter 2 gouttes de réactifs **NIT 1** et **NIT 2** dans le tube GLU. Attendre 2 à 3

minutes. Une coloration ROUGE indique une réaction POSITIVE. Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) ; ajouter 2 à 3 mg de réactif **Zn** (API # 7038) dans la cupule GLU. Après 5 minutes, un tube resté JAUNE indique une réaction (N₂) POSITIVE à noter sur la **fiche de résultats**. Si la cupule est ROSE-ROUGE, la réaction est NEGATIVE, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zinc.

- Si le **glucose est négatif** et le nombre de tests positifs inférieur ou égal à 2 : ne pas ajouter les réactifs.
 - inoculer 2 **API OF Medium** (API # 5011) pour vérifier le métabolisme du glucose.
 - ensemencer un milieu de **Mac Conkey**
 - vérifier la mobilité. Pour les bactéries fermentatives inoculer 1 **API M Medium** (API # 5012)
 - incuber 24 h de plus.
 - rajouter les réactifs comme indiqué plus haut.
 - noter les réactions de la galerie et les résultats des tests complémentaires sur la **Fiche de résultats** en se référant au **Tableau de Lecture**.

5. Identification

- avec le **TABLEAU D'IDENTIFICATION** : comparer les réactions notées sur la **fiche de résultats** avec celles du tableau en faisant glisser la fiche sur le tableau, puisque les dimensions sont identiques pour faciliter cette comparaison visuelle
- avec le **Catalogue Analytique** ou la disquette **APILAB** : il faut coder l'ensemble des réactions obtenues en un PROFIL NUMERIQUE. Sur la **fiche de résultats**, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2, ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie **API 20 €** comportant 20 tests, **en additionnant** à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondant à des réactions POSITIVES, **on obtient** 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21^e test est affecté de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

Par ailleurs dans certains cas, le profil à 7 chiffres étant insuffisamment discriminatif, il faut réaliser les tests complémentaires :

- réduction des nitrates en nitrites (NO₂)
- réduction des nitrates en azote (N₂)
- mobilité (MOB)
- culture sur gélose de Mac Conkey (McC)
- oxydation du glucose (OF-O)
- fermentation du glucose (OF-F)

Les réactions correspondantes sont codées selon le même principe, ce qui donne un profil numérique à 9 chiffres

TESTS	SUBSTRATS	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
			NEGATIF	POSITIF
ONPG	ortho-nitro-phenyl-galactoside	beta-galactosidase	incolore	jaune (1)
ADH	arginine	arginine dihydrolase	jaune	rouge/ orangé (2)
LDC	lysine	lysine décarboxylase	jaune	orangé
ODC	ornithine	ornithine décarboxylase	jaune	rouge/ orangé (2)
CIT	citrate de sodium	utilisation du citrate	vert pâle/ jaune	bleu-vert/ vert (3)
H ₂ S	thiosulfate de sodium	production d'H ₂ S	incolore/ grisâtre	dépôt noir / fin lise
URE	urée	uréase	jaune	rouge/ orangé
TDA	tryptophane	tryptophane desaminase	TDA / immédiat	
			jaune	marron foncé
IND	tryptophane	production d'indole	IND / 2 mn maxi	
			jaune	anneau rouge
VP	pyruvate de sodium	production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	rosé-rouge
GEL	gélatine de Kohn	gelatinase	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	glucose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
MAN	mannitol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
INO	inositol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
SOR	sorbitol	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
RHA	rhamnose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
SAC	saccharose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
MEL	melibiose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
AMY	amygdaline	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
ARA	arabinose	fermentation/ oxydation (4)	bleu/ bleu-vert	Jaune
OX	tube H ₂ S ou ONPG	cytochrome-oxydase	OX / 5-10 mn	
			incolore	anneau violet
NO ₃ -NO ₂	tube GLU	production de NO ₂	NIT 1 + NIT 2 / 2-3 mn	
			jaune	rouge
		réduction au stade N ₂	Zn	
			rouge	jaune
MOB	(API M) (microscope)	mobilité	immobile	mobile
MAC	milieu de MacConkey	culture sur	absence	présence
OF	glucose (API OF)	fermentation : sous huile oxydation : à l'air	vert vert	jaune jaune
CAT		possession d'une catalase	H₂O₂ / 1-2 mn	
			pas de bulles	bulles

(1) Une très légère couleur jaune est également positive.

(2) Une couleur orange apparaissant APRÈS 24 H d'incubation doit être considérée négative.

(3) lecture dans la cupule (zone aérobie)

TABLEAU D'IDENTIFICATION
 Pourcentage des réactions positives après 48 heures à 35-37°C

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	G/L	PIV	LIAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO2	N2	MOB	McC	OF/O	OF/F
<i>Escherichia coli</i> 1	95	2	77	70	0	3	1	0	94	0	0	100	99	2	90	87	41	67	12	83	0	100	0	82	100	100	100
<i>Escherichia coli</i> 2	47	8	45	30	0	1	1	0	95	0	0	97	92	1	42	35	1	34	7	92	0	98	0	1	100	100	100
<i>Escherichia adecarboxylata</i>	100	0	0	0	0	0	15	0	95	0	30	100	100	0	0	100	55	100	99	100	0	100	0	100	100	100	100
<i>Escherichia hermannii</i>	100	0	6	100	5	0	0	0	100	0	0	100	100	0	0	97	44	0	97	100	0	100	0	100	100	100	100
<i>Escherichia vulneris</i>	100	64	42	0	0	0	1	0	0	0	0	100	100	0	1	95	7	78	78	100	0	100	0	100	100	100	100
<i>Shigella</i> sp1	50	0	0	0	0	0	0	0	44	0	0	99	3	0	29	32	0	0	0	26	0	100	0	0	100	100	100
<i>Shigella</i> sp2	7	1	0	5	0	0	0	0	32	0	0	99	97	0	52	3	2	21	0	75	0	100	0	0	100	100	100
<i>Shigella sonnei</i>	96	0	0	97	0	0	0	0	0	0	0	100	99	0	1	75	0	0	0	97	0	100	0	0	100	100	100
<i>Edwardsiella tarda</i>	0	0	100	100	0	94	0	0	100	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	1	0	100	0	98	100	100	100
<i>Edwardsiella hoshinae</i>	0	0	100	100	0	94	0	0	100	0	0	100	100	0	0	0	100	0	0	75	0	100	0	98	100	100	100
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	31	0	100	31	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	100	100	100
<i>Salmonella cholerae</i> suis	0	22	97	97	4	65	0	0	0	0	0	100	99	0	85	95	0	20	0	0	0	100	0	100	100	100	100
<i>Salmonella typhi</i>	0	2	99	0	0	8	0	0	0	0	0	100	99	0	100	0	0	94	0	0	0	100	0	100	100	100	100
<i>Salmonella</i> spp	3	69	96	95	75	85	0	0	3	0	0	100	98	33	93	93	2	78	1	94	0	100	0	94	100	100	100
<i>Salmonella para</i> A	0	0	0	100	0	5	0	0	0	0	0	100	99	0	99	99	0	96	0	99	0	100	0	94	100	100	100
<i>Salmonella typhisuis</i>	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	5	0	27	0	94	0	100	0	94	100	100	100
<i>Salmonella gallinarum</i>	0	0	92	0	0	8	0	0	0	0	0	100	99	0	0	57	0	0	0	99	0	100	0	0	100	100	100
<i>Salmonella pullorum</i>	0	0	91	100	0	38	0	0	0	0	0	100	99	0	11	97	0	5	0	61	0	100	0	0	100	100	100
<i>Salmonella arizonae</i>	98	48	96	97	50	96	0	0	0	0	0	100	99	0	99	96	0	64	0	99	0	100	0	100	100	100	100
<i>Citrobacter freundii</i>	93	22	0	32	62	65	3	0	6	0	0	100	98	10	91	84	66	66	50	96	0	98	0	95	100	100	100
<i>Citrobacter diversus/ amalonat</i>	97	50	0	93	87	0	2	0	92	0	0	100	99	2	92	94	22	9	96	95	0	100	0	92	100	100	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	99	1	74	0	95	0	63	0	0	92	1	99	99	96	99	97	99	99	99	99	0	100	0	0	100	100	100
<i>Klebsiella ozaenae</i>	90	11	32	1	36	0	6	0	0	0	0	97	92	61	44	66	12	83	90	67	0	92	0	0	100	100	100
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	96	99	83	64	39	39	18	92	1	0	100	0	0	100	100	100
<i>Klebsiella oxytoca</i> 1	99	0	86	0	84	0	60	0	100	91	1	99	99	96	99	96	99	96	99	96	0	100	0	0	100	100	100
<i>Klebsiella oxytoca</i> 2	100	0	67	100	99	0	99	0	99	50	0	99	99	99	83	99	99	99	99	99	0	100	0	0	100	100	100
<i>Enterobacter aerogenes</i>	99	0	98	99	86	0	2	0	0	91	3	99	99	92	99	98	96	99	99	99	0	100	0	97	100	100	100
<i>Enterobacter amnigenus</i>	100	95	0	100	99	0	50	0	0	99	0	100	100	0	46	96	64	100	89	100	0	100	0	89	100	100	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	99	87	1	96	94	0	1	0	0	94	1	100	99	18	97	85	97	96	99	99	0	100	0	94	100	100	100
<i>Enterobacter gergoviae</i>	100	0	26	100	85	0	98	0	0	97	0	100	98	12	0	100	98	100	99	100	0	100	0	100	100	100	100
<i>Enterobacter intermedium</i>	100	0	0	93	95	0	0	0	0	100	0	100	95	0	100	100	46	95	95	95	0	100	0	100	100	100	100
<i>Enterobacter sakazakii</i>	100	98	0	85	85	0	1	0	1	85	1	100	100	72	0	99	99	99	99	99	0	100	0	94	100	100	100
<i>Enterobacter agglomerans</i> 1	98	1	0	1	8	0	1	2	1	8	2	99	97	90	8	95	99	6	67	50	0	85	0	89	100	100	100
<i>Enterobacter agglomerans</i> 2	99	1	0	1	61	0	2	20	99	15	8	97	99	23	64	93	46	92	93	95	0	85	0	89	100	100	100
<i>Enterobacter agglomerans</i> 3	88	15	0	15	91	0	3	8	1	32	5	99	99	25	41	96	75	96	96	96	0	85	0	89	100	100	100
<i>Enterobacter agglomerans</i> 4	94	4	0	0	6	0	1	6	1	48	1	99	96	5	9	60	90	9	88	78	0	85	0	89	100	100	100
<i>Erwinia amylo / rubrifac</i>	11	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	99	63	0	67	0	98	2	0	82	0	85	0	89	100	100	100
<i>Hafnia alvei</i>	71	1	100	97	13	0	4	0	0	15	0	99	95	0	0	71	0	4	11	90	0	100	0	93	100	100	100
<i>Rahnella aquatilis</i>	100	0	0	0	66	0	0	4	0	100	0	100	100	0	96	96	100	88	96	92	0	100	0	100	100	100	100
<i>Cedecea</i> spp	100	86	0	14	86	0	0	0	0	100	0	100	100	71	29	14	29	43	100	30	0	99	0	85	100	100	100
<i>Ewingella americana</i>	90	0	0	0	99	0	0	0	0	99	0	100	100	0	0	5	0	0	90	1	0	100	0	60	100	100	100
<i>Serratia liquefaciens</i>	98	0	87	99	85	0	5	0	0	52	0	100	99	75	98	16	99	75	99	98	0	100	0	93	100	100	100
<i>Serratia marcescens</i>	94	2	98	95	97	0	28	0	1	60	0	100	99	71	91	0	98	68	97	19	0	95	0	98	100	100	100
<i>Serratia odorifera</i> 1	95	0	97	84	87	0	0	0	99	40	0	100	99	99	99	99	100	99	99	95	0	99	0	99	100	100	100
<i>Serratia odorifera</i> 2	95	0	97	2	87	0	0	0	99	65	0	100	99	99	99	99	0	99	99	95	0	99	0	94	100	100	100
<i>Serratia plymuthica</i>	99	0	1	0	57	0	0	0	0	74	0	100	92	92	52	1	100	87	87	98	0	99	0	95	100	100	100

Kluyvera spp	92	0	77	90	93	0	0	0	83	0	0	100	92	0	41	95	66	87	92	90	0	95	0	97	100	100	100
Proteus mirabilis	1	1	1	98	57	83	99	98	2	3	13	96	1	0	0	0	1	1	1	1	0	93	0	95	100	100	100
Proteus penneri	0	0	0	0	1	15	100	100	0	0	5	100	0	0	0	0	100	0	1	0	0	99	0	85	100	100	100
Providencia spp	0	0	0	0	31	83	98	99	94	0	12	97	1	1	0	4	89	0	65	1	0	100	0	94	100	100	100
Providencia alcalifaciens	0	0	0	98	0	0	99	91	97	0	3	97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88	0	97	100	100	100
Providencia rettgeri	0	0	0	0	94	0	0	100	99	0	0	99	2	2	0	0	8	0	0	2	0	100	0	96	100	100	100
Providencia stuartii	1	1	0	0	70	0	98	99	90	0	0	99	82	78	2	42	34	0	11	1	0	98	0	94	100	100	100
Tatumella ptyseos	1	0	0	0	89	0	30	90	97	0	0	99	0	84	0	0	16	0	0	3	0	100	0	87	100	100	100
Yersinia enterocolitica	0	0	0	0	10	0	0	72	0	5	0	99	0	0	0	0	80	27	9	1	0	90	0	0	100	100	100
Yersinia fredericksonii	81	0	0	90	0	0	93	0	66	1	0	99	99	25	98	1	100	1	92	69	0	98	0	0	100	100	100
Yersinia intermedia	95	0	0	100	0	0	98	0	99	1	0	100	99	11	95	100	100	0	97	57	0	98	0	0	100	100	100
Yersinia kristensenii	95	0	0	100	0	0	97	0	97	2	0	100	99	63	95	99	99	100	98	52	0	98	0	0	100	100	100
Yersinia pestis	87	0	0	87	0	0	100	0	99	0	0	99	99	62	99	0	0	0	99	87	0	98	0	0	100	100	100
Yersinia pseudotuberculosis	68	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	99	97	0	71	0	0	0	11	0	0	47	0	0	100	100	100
Yersinia ruckeri	77	0	0	0	13	0	96	0	0	0	0	98	97	0	0	77	0	70	22	29	0	95	0	0	100	100	100
Aeromonas hydrophila	73	0	93	95	0	0	0	0	0	1	0	83	95	0	3	0	0	0	0	0	0	50	0	0	100	100	100
Aeromonas salmonicida	96	95	50	0	50	0	0	0	85	66	14	98	96	0	6	10	82	5	61	61	99	98	0	95	99	99	99
Plesiomonas shigelloides	5	84	23	0	0	0	0	0	0	5	19	99	93	0	5	0	7	0	0	0	100	98	0	0	99	100	100
Vibrio alginolyticus	95	95	100	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	100	0	0	0	0	0	0	100	99	0	95	99	99	99
Vibrio cholerae	0	0	97	62	60	0	2	0	100	10	15	100	100	0	0	0	100	0	5	2	100	47	0	97	99	94	94
Vibrio fluvialis	94	1	94	96	62	0	0	0	100	40	17	98	98	0	0	0	94	0	5	0	100	96	0	99	96	99	99
Vibrio metschnikovii	99	90	0	0	15	0	0	0	75	0	10	100	100	0	5	5	99	0	50	99	100	100	0	50	99	99	99
Vibrio mimicus	20	85	88	0	30	0	0	0	50	63	110	100	100	30	30	5	100	0	0	0	0	0	0	99	99	99	99
Vibrio parahaemolyticus	99	1	85	90	65	0	0	0	90	3	15	99	95	0	0	0	0	0	1	0	100	95	0	95	95	99	99
Vibrio vulnificus	0	0	100	89	63	0	8	0	100	5	13	100	96	0	0	3	1	0	12	36	100	63	0	98	98	99	99
Pasteurella aerogenes	100	0	68	90	81	0	0	0	99	18	100	100	36	0	0	0	0	0	90	1	99	54	0	99	99	99	99
Pasteurella multocida	70	0	0	95	0	0	95	0	0	0	0	99	0	90	0	10	99	0	0	80	85	100	0	0	100	100	100
Pasteurella spp	4	0	0	12	0	0	0	0	88	0	0	29	74	0	68	0	77	0	0	0	81	52	0	0	2	19	19
Chromobacterium violaceum	39	0	0	0	0	0	19	0	6	7	3	13	0	0	0	0	3	0	0	1	89	59	0	0	9	25	25
Pseudomonas aeruginosa	0	98	0	0	59	0	0	0	19	0	12	96	0	0	0	0	11	0	0	0	95	75	0	95	99	99	99
Pseudomonas fluoresc. / putida	0	87	0	0	92	0	35	0	0	2	15	57	0	0	0	0	1	8	0	13	97	12	56	86	100	98	0
Pseudomonas cepacia	0	79	0	0	68	0	3	0	0	18	17	41	0	0	0	2	0	19	0	11	97	26	0	86	96	93	0
Pseudomonas maltophilia	58	0	32	16	72	0	1	0	0	4	16	65	3	1	1	0	11	0	24	14	90	40	0	67	88	97	0
Pseudomonas pseudomallei	60	0	48	0	76	0	0	0	0	0	19	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	26	0	88	91	49	0
Pseudomonas paucimobilis	0	72	0	0	18	0	0	0	0	1	11	95	79	75	79	0	72	0	64	18	100	0	92	95	100	100	0
Pseudomonas putrefaciens	75	0	0	0	35	0	5	0	0	31	7	5	0	0	0	2	18	0	3	5	50	0	0	40	0	85	0
Pseudomonas sp	0	0	0	80	83	90	0	0	0	6	13	6	0	0	0	0	9	0	0	0	100	96	0	93	96	9	0
CDC group V E-1	1	4	0	0	54	0	2	0	0	18	13	7	0	0	0	1	0	4	0	8	98	48	35	62	85	49	0
CDC group E-2	86	59	0	0	94	0	0	0	0	43	3	86	0	13	0	16	4	16	2	78	0	30	0	63	91	94	0
Acinetobacter calco. var. anitrat	0	0	0	0	87	0	0	0	0	60	5	45	0	15	0	0	0	3	0	81	0	7	0	96	99	99	0
Acinetobacter calco. var. lwoffii	0	0	0	0	54	0	0	0	0	14	2	87	0	0	0	0	1	88	0	79	0	3	0	0	90	98	0
Moraxella spp	0	0	0	0	7	0	2	0	0	11	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	70	0	0	0
Flavobacterium meningosepticum	0	0	0	0	5	0	11	0	0	3	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	9	0	0	23	0	0
Flavobacterium odoratum	70	0	0	0	18	0	0	0	81	0	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	6	0	0	48	93	6
Flavobacterium multivorum	0	0	0	0	43	0	36	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	84	0	0
CDC group II B	96	0	0	0	30	0	92	0	0	75	0	46	0	0	0	0	25	0	7	17	96	0	0	15	84	96	0
CDC group II F	20	0	0	0	12	0	92	0	77	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	20	0	0	57	90	10
CDC group II J	0	0	0	0	8	0	0	0	71	0	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	0	0	2	0	0
Bordetella/ Alcalig. spp	0	0	0	0	2	0	95	0	50	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
Achromobacter spp	0	0	0	0	60	0	59	2	0	28	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95	62	0	72	90	0	0
	5	0	0	0	57	0	31	1	0	6	1	0	1	1	1	10	3	0	4	0	100	42	60	80	99	47	0

Legende :

0-19 %

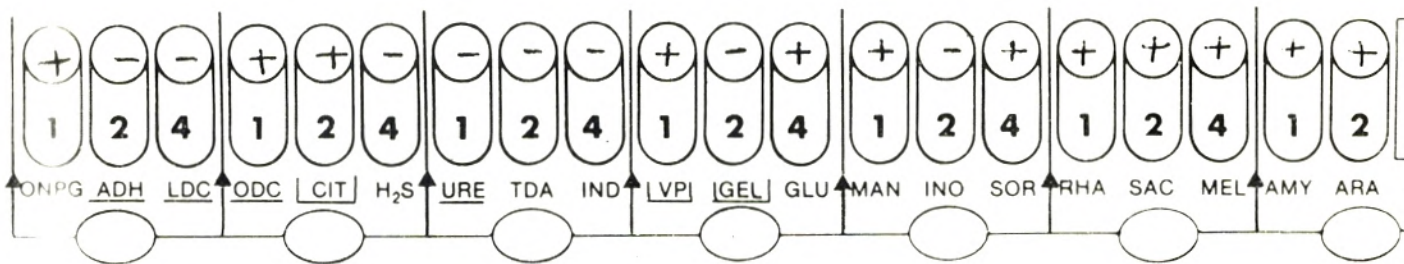
20-79 % positifs

80-100% de résultats positifs

80-100% de résultats positifs

EXEMPLES D'IDENTIFICATION

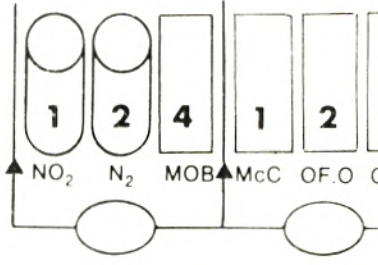
exemple



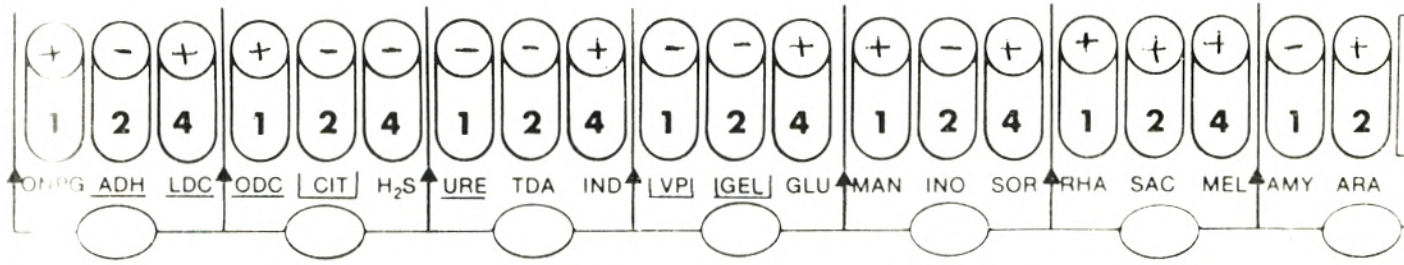
Oapi 20 €

Identification : *Enterobacter Intermedium*

REF.: *citerne* Patient:
 Date: *11/04/89* Origine/Source: *ligne un.*
 Dr: Service/Dept:



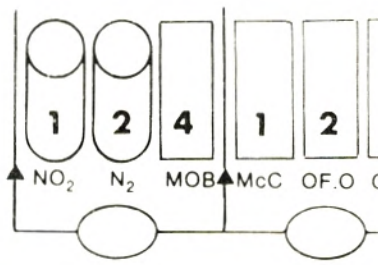
exemple



Oapi 20 €

Identification : *E. coli 1.*

REF.: *E. 23* Patient:
 Date: *29/10/88* Origine/Source: *Ligne trois*
 Dr: Service/Dept:



BOURDIER J.F et LUQUET F.M (1981) .
Dictionnaire laitier 183 p .
2^{ème} ed tech et doc LAVOISIER , PARIS .

BOURDON J.L et MARCHAL N (1973) .
Technique bactériologique . 335 P .
Ed DOIN PARIS .

CHATELIN Y.M et RICHARD J (1981) .
Etude de quelques cas de contaminations microbiennes
importantes du lait à la ferme .
Le lait . 61 PP 80-94 .

C.N.E.R.N.A. (1981) .
Recommandations pour l'amélioration de la qualité
bactériologique du lait au niveau des laiteries .
La technique laitière . 955 . 39-44 .

DARBRE G (1982) .
Nutrition et santé alimentaire . 105 p .
Ed DELTA et SPES .

DELARRAS c (1976) .
Identification des micrococcacees isolés d'une
chaîne de production de poudre de lait .
Revue Laitière Française . 341 . 229-235 .

DELARRAS C (1971) .
Caractéristiques biochimiques comparés des
micrococcacees provenant des produits laitiers et
carnés .
Revue laitière Française . 355,P.1 .

KALLAL Z , FARHAT A et BEJI M (1981) .

La qualité du lait cru destiné à la consommation humaine directe .

Opération effectuée en Tunisie par la commission nationale de contrôle alimentaire . 29-30 .

I.N.N.T.A. TUNIS .

MAHIEU H (1976) .

I.T.E.B , Document 704 . 1-6 .

Ed TECHNIPEL . PARIS .

MAHIEU H (1985 a) .

Modification du lait après récolte .

In lait et produits laitiers : vache , chèvre , brebis
Tome 1 de la mamelle à la laiterie .

Coord LUQUET F.M.

Tech et doc LAVOISIER . PARIS .

MAHIEU H (1985 b) .

Collecte du lait .

In laits et produits laitiers : vache , chèvre , brebis .
Tome 1 de la mamelle à la laiterie .

Cood LUQUET F.M .

Tech et doc LAVOISIER . PARIS .

MARCHAL M , BOURDON J.L et RICHARD CL (1982) .

Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimiques des bactéries . 482 P .

Ed. DOIN .

MARCK E (1980) .

Manuel de microbiologie . 445 P .

DARMASTADT .

MERCK (1986) .

Manuel de microbiologie .
Produits chimiques, réactifs .

MINISTRE DE L'AGRICULTURE (1985) .

Arrêté du 06 Août 1985 .

Normes sanitaires et qualitatives .

Journal Officiel de la République Française . P 9973 .

MINISTRE DE LA SANTE PUBLIQUE .

Hygiène du lait et des produits laitiers .

Instruction technique N° 5 . Direction de l'action
sanitaire . 1-8 . ALGER .

MOCQUOT G (1979) .

Occurent and role of microorganismes in cheese .

Journal of Dairy Research 46. 127-131 .

MOURGUES R , VASSAL L , AUCLAIR J et MOCQUOT G (1977).

Origine et développement des Coliformes dans les
fromages à pâtes molles .

Le lait N° 563-564 . PP 131-149 .

PETRANSIENE D et LAPIED L (1981) .

La qualité bactériologique du lait et des produits
laitiers . 230 p .

2^{ème} ed tech et doc LAVOISIER . PARIS .

PILET C , BOURDON J.L , THOMAS B , MARCHAL M et
BALBASTRE C (1981) .

Bactériologie médicale et vétérinaire . 430 P .

2^{ème} ed DOIN . PARIS .