



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée

Intitulé

**Evaluation des contaminations microbiennes de quelques
marques des laits infantiles, dénombrement des espèces
Cronobacter sp. et *Salmonella* sp.**

Présenté par:

BENCHENOUF Achwaq.

BAHRI Rima.

Devant le jury:

Président: Mr. BENSOUILAH Taiqyedine

Encadrant: Mr. MERIBAI Abdelmalek

Examineur: Mr. SADRATI Nouari

M.C.B. Univ. de BBA.

M.C.B. Univ. de BBA.

M.A.A. Univ. de BBA.

Année universitaire: 2019/2020.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Allah le clément et le miséricordieux de nous avoir aidé durant toute notre scolarité et sur lequel nous comptons tous pour atteindre notre but inchaa Allah.

A NOTRE DIRECTEUR DE MEMOIRE

Nos remerciements vont à notre encadrant le Dr. MERIBAI Abdelmalek , d'avoir proposé et diriger le sujet, pour avoir encadré et suivi notre travail avec sa rigueur scientifique, ses conseils et pour ces amples connaissances, dont nous avons eu la chance de profiter tout au long de réalisation de ce modeste travail, Veuillez accepter, Docteur, l'expression de nos sincères remerciements et notre profonde reconnaissance. Au président du jury Dr. BENSUILAH Taiqyedine vous nous faites l'honneur d'accepter avec une très grande amabilité de présider le jury de mémoire, Nous adressons nos plus vifs remerciements à l'examineur Dr: SADRATI Nouari, qui nous a fait L'honneur d'examiner notre travail. Aux enseignants On tient à adresser nos vifs remerciements et sincères gratitudes aux enseignants de la Faculté de SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE en général et ceux du département de BIOLOGIE en particulier, pour l'aide qu'ils nous ont apporté durant toute notre formation. Nous sommes particulièrement reconnaissantes aux ingénieurs de laboratoire et plus particulièrement : Monsieur Makhoukh, Mr Khalil, Mme Wahiba, Mme Wassima. Nos remerciements s'adressent également à toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail Merci à tous et à toutes.

DEDICACE

Je remercie, tout d'abord Allah le tout, puissant de m'avoir aidé à achever ce modeste travail.

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce modeste travail.

Toute ma gratitude va premièrement à mes parents le rayon de soleil auquel je m'accroche tous les jours pour leurs soutiens tout au long dès mes études

وقل رب ارحمهما كما ربياني صغيرا

Je remercie, à mes sœurs, à mes frères et à toute ma famille.

Merci pour tout:

A toutes les familles BENCHENOUF et CHENOUF.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de les citer

Ainsi qu'à tous mes amis et mes camarades de ma section, pour notre amitié et tous les bons moments passés, vos meilleurs conseils et la bonne assistance.

Achwaq

DEDICACE

Je remercie, tout d'abord Allah le tout, puissant de m'avoir aidé à achever ce modeste travail.

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce modeste travail.

Toute ma gratitude va premièrement à mes parents le rayon de soleil auquel je m'accroche tous les jours pour leurs soutiens tout au long dès mes études

وقل رب ارحمهما كما ربياني صغيرا

Je remercie, à mes sœurs, à mes frères et à toute ma famille.

Merci pour tout:

A toutes les familles BAHRI et DAFFAFE.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de les citer

Ainsi qu'à tous mes amis et mes camarades de ma section, pour notre amitié et tous les bons moments passés, vos meilleurs conseils et la bonne assistance.

Rima

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Synthèse bibliographique.....	4
Chapitre I: Notions sur la poudre du lait.....	4
I.1. Généralité sur les laits.....	4
I.1.1. Définition du lait.....	4
I.1.2. Compositions du lait.....	4
I.1.3. Propriétés du lait.....	4
I.1.3.1. Propriétés organoleptiques du lait.....	4
I.1.3.1.1. La couleur.....	4
I.1.3.1.2. L'odeur.....	4
I.1.3.1.3. La saveur.....	4
I.1.3.1.4. La viscosité.....	4
I.1.3.2. Propriétés physico-chimiques du lait.....	4
I.4. Microbiologie du lait.....	5
I.1.4.1. Flore originelle.....	5
I.1.4.2. Flore de contamination.....	5
I.1.5. Types de lait.....	5
I.2. Généralités sur la poudre du lait infantile.....	5
I.2.1. Définition du lait infantile.....	5
I.2.2. Classification du lait infantile.....	5
I.2.2.1. Les préparations pour nourrissons (ou préparations de 1er âge).....	5
I.2.2.2. Les laits de suite (ou laits de 2ème âge).....	5
I.2.2.3. Les laits de croissance.....	6
I.2.3. Composition du lait infantile.....	6
I.2.4. Propriétés du lait en poudre infantile (PIF).....	6
I.2.4.1. Propriétés organoleptiques.....	6

I.2.4.2. Propriétés physico- chimiques.....	6
I.2.4.2.1. La taille.....	6
I.2.4.2.2. Densité.....	6
I.2.4.2.3. Fluidité.....	7
I.2.4.2.4. Mouillabilité.....	7
I.2.4.2.5. Solubilité.....	7
I.2.4.2.6. Viscosité.....	7
I.2.4.2.7. Stabilité à la chaleur.....	7
I.2.4.2.8. Propriétés moussantes et émulsifiantes.....	7
I.2.4.3. Propriétés microbiologiques.....	7
I.2.4.3.1. Les bactéries d’altération.....	7
I.2.4.3.2. Les bactéries pathogènes.....	8
Chapitre II: Contaminations des laits infantiles par coliformes.....	9
II.1. Transmission des salmonelles et surveillance.....	9
II.1.1. Historique.....	9
II.1.2. Taxonomie.....	9
II.1.2.1. Classification.....	9
II.1.3. Sources de <i>Salmonella</i> sp.....	9
II.1.4. Les caractères de <i>Salmonella</i> sp.....	10
II.1.4.1. Les caractères bactériologiques.....	10
II.1.4.2. Les caractères biochimiques.....	10
II.1.5. Pouvoir pathogène.....	10
II.1.6. Epidémiologie.....	11
II.1.7. Méthodes de recherche et de dénombrement des <i>Salmonella</i> dans les aliments.....	11
II.1.7.1. Méthode de routine ou méthode AFNOR NF 08.052.....	11
II.1.7.2. Méthode horizontale/J.O.R.A. N°44/2017.....	11
II.2. Transmissions et surveillance des espèces <i>Cronobacter</i> sp.....	12
II.2.1. Historique.....	12
II.2.2. Taxonomie.....	12
II.2.2.1. Données anciens.....	12
II.2.2.2. Données récentes.....	12
II.2.2.3. Classification.....	13
II.2.3. Ecologie.....	13

II.2.3.1. Prélèvements cliniques.....	13
II.2.3.2. L'environnement naturel.....	13
II.2.3.3. L'environnement industriel.....	13
II.2.4. Les caractères de <i>C. sakazakii</i>	13
II.2.4.1. Les caractères bactériologiques.....	13
II.2.4.2. Les caractères biochimiques.....	14
II.2.5. Mode de transmission.....	14
II.2.6. Pouvoir pathogène.....	14
II.2.6.1. les facteurs de virulences.....	15
II.2.7. Epidémiologie.....	15
II.2.8. Méthodes de recherche et de dénombrement dans les aliments.....	15
II.2.8.1. Méthode ISO/TS 22964.....	15
II.2.8.2. Méthode FDA (2002).....	16
Partie expérimentale	17
Chapitre I: Matériel et méthodes	17
I.1. Matériel.....	17
I.1.1. Objectif de l'étude.....	17
I.1.2. Lieu de l'étude.....	17
I.1.3. Matériel lourd et léger.....	17
I.1.4. Origine des échantillons.....	17
I.2. Méthodes.....	19
I.2.1. Analyses physico-chimiques.....	20
I.2.1.1. Appréciation du goût et de l'odeur.....	20
I.2.1.2. Détermination de la densité (g/cm ³).....	20
I.2.1.3. Détermination de pH.....	20
I.2.1.4. Détermination de l'Acidité titrable en degré Dornic (°D).....	21
I.2.1.5. Détermination de la viscosité (mPa.s).....	21
I.2.1.6. Détermination de la stabilité.....	22
I.2.1.7. Détermination de la conductivité électrique (µs/cm).....	22
I.2.1.8. Dosage de l'eau et des solides totaux (extrait sec total).....	22
I.2.2. Analyses microbiologiques.....	23
I.2.2.1. Préparation des dilutions.....	23
I.2.2.2. Les germes recherchés pour cette denrée et leurs dénombrements.....	23

I.2.2.2.1. Les bactéries témoins de contamination fécale.....	23
I.2.2.2.1.1. Recherche et dénombrement de FTAM.....	23
I.2.2.2.1.2. Recherche et dénombrement Les coliformes totaux et fécaux...24	
I.2.2.2.1.2.1 Teste de Kovacs (<i>E. coli</i>).....	26
I.2.2.2.1.3. Recherche et dénombrement des spores sulfito-réductrices.....	26
I.2.2.2.1.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.....	27
I.2.2.2.2. Flore pathogène.....	28
I.2.2.2.2.1. Recherche et dénombrement <i>Staphylococcus aureus</i>	28
I.2.2.2.2.2. Recherche et dénombrement de <i>Salmonella</i> spp.....	29
A. Méthode de routine (AFNOR NF 08.052).....	30
B. Méthode horizontale/J.O.R.A. N°44/2017.....	32
I.2.2.2.2.3. Recherche et dénombrement présomptif des espèces	
<i>Cronobacter</i> sp.....	33
Chapitre II: Résultats et discussion.....	36
II.1 Résultats.....	36
II.1.1. Résultats des analyses physico-chimiques de «Poudre de Lait infantile».....	36
II.1.1.1. Goût et odeur.....	36
II.1.1.2. Densité.....	36
II.1.1.3. pH.....	37
II.1.1.4. Acidité titrable.....	37
II.1.1.5. Viscosité.....	37
II.1.1.6. Stabilité.....	38
II.1.1.7. Conductivité électrique.....	38
II.1.1.8. Taux de l'eau et des solides totaux.....	38
II.1.2. Résultats des analyses microbiologiques de «Poudre de Lait Infantile».....	39
II.1.2.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile.....	40
II.1.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	40
II.1.2.3. Recherche et dénombrement des spores sulfito-réductrices.....	41
II.1.2.4. Recherche et dénombrement des Sréptocoques fécaux (SF).....	41
II.1.2.5. Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	41
II.1.2.6. Recherche et dénombrement des <i>Salmonella</i> sp.....	41
II.1.2.7. Recherche et dénombrement de <i>Cronobacter</i> sp.....	42
II.2. Discussion.....	43
II.2.1. Discussion des analyses physico-chimiques.....	43

Table des matières

II.2.2. Discussion analyses microbiologique.....	46
Conclusion.....	53
Références bibliographiques.....	54
Annexes	

المخلص

الهدف من الدراسة هو استكشاف الاستقرار والامتثال للمعايير، خلال فترة التخزين/التسويق، لستة عينات من العلامات التجارية المختلفة لمسحوق حليب الأطفال المستورد، من العمر الأول والثاني، والتي تم جمعها من صيدليات مختلفة بولاية برج بوعريبيج، شمال شرق الجزائر، خلال الفترة الممتدة من فبراير إلى مارس 2020. بعد تقييم الصفات الفيزيائية الكيميائية (8 اختبارات) وإحصاء الأنواع الميكروبيولوجية. اعطت نتائج الاختبارات الفيزيوكيميائية متوسط القيم التالية: pH: (6.58)، الحموضة القابلة للمعايرة (D°): (18.3)، الكثافة (g/cm³): (1.03)، اللزوجة (mPa.s): (02.6)، الناقلية (μs/cm): (1884.5)، إجمالي المستخلص الجاف (g/l): (82.87). كانت جميع العينات ذات جودة فيزيوكيميائية مقبولة وفقاً للمعايير الوطنية، وخالية من الملوثات البكتيرية، وغياب للاجناس السامة: *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Salmonella spp.* و *Cronobacter spp.* تم تسجيل وجود القولونيات لعينتين E1 و E5، بمعدلات $10^4 \times 16.7$ (UFC/g) و $10^3 \times 39$ (UFC/g)، على التوالي. يبدو أن مجمل العينات مستقرة وذات جودة فيزيائية كيميائية وميكروبيولوجية مطابقة للمعايير الوطنية، ومع ذلك، فإن استكشاف جودة واستقرار هذه المادة الغذائية، يتطلب التعمق باجراء عدد اكبر من الاختبارات البيوكيميائية والميكروبيولوجية لعدد كبير من العينات والعلامات.

الكلمات المفتاحية: مسحوق حليب الأطفال، التحاليل الميكروبيولوجية، الاختبارات الفيزيوكيميائية، المواصفات، الاستقرار.

Résumé

L'objectif d'étude est l'exploration de la stabilité et la conformité aux normes nationales, durant la période de conservation/commercialisation pour six échantillons, de différentes marques du lait infantile en poudre (premier et deuxième âge), collectés de différentes officines, dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, Nord-Est d'Algérie, durant la période Février-Mars 2020. Par évaluation des qualités physicochimiques (8tests) et dénombrement des flores et espèces microbiologiques. Résultats des tests physicochimiques ont donné les valeurs moyennes suivantes: pH(6,58) acidité titrable(18,3°D), densité(1,03g/cm³), Viscosité(02,6 mPa.s), conductivité(1884,5 µs/cm), et extrait sec totale(82,87g/l). L'ensemble des échantillons étaient d'une qualité conforme aux normes nationales, exempts des flores indicatrices des contaminations récentes et anciennes, absence des espèces toxigènes: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp.et des *Cronobacter* sp. Deux échantillons E1 et E5 ont marqué la présence des coliformes totaux, avec des taux 16.7×10^4 et 39×10^3 UFC/g. L'effectif des échantillons, semble stable et d'une qualité physicochimique et microbiologique conformes aux normes. Cependant, l'exploration de qualité et de la stabilité de cette denrée alimentaire, en poudre, mérite d'être approfondie par un nombre élevé d'échantillons, de marques et de tests Biochimiques et Microbiologiques.

Mots clés: Lait infantile, Poudre, Analyses microbiologiques, Analyses physicochimiques, Normes, Stabilité.

Abstract

Study aimed the stability exploration and compliance with national standards, during the storage/ marketing period for six different infant powder milk brands samples, collected during February-March 2020 period from different pharmacies in Bordj Bou Arreridj district North-Eastern of Algeria. Study was carried out by evaluation of physicochemical quality (8tests) and CFU/g counting microbiological flora and species By different culture media, enrichment broths and selective agar use. Physicochemical test results gave the following average values: pH(6,58), treatable acidity(18,3°D), density(1,03 g/cm³), Viscosity(02,6 mPa.s), conductivity(1884,5 µs/cm), and total dry extract(82,87g/l). Microbiological analysis, samples were in accordance with national standards quality, free of indicative of recent and old contamination flora, absence of pathogenic/ toxinogenic species: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. and *Cronobacter* sp. However, two samples E₁ and E₅ marked the presence of total coliforms, with low levels 16.7×10⁴ and 39×10³CFU/g, located within the standards respectively. All powder milk samples studied, seem stable with physicochemical and microbiological quality in accordance with standards. However, quality and stability exploration of this powder foodstuff deserves to be deepened by a high number Biochemical and Microbiological tests, samples, brands.

Key words: Infant Powder Milk, Microbiological Analysis, Physicochemical, Standards, Stability.

Liste des figures

Figure 01: Représente les différents types du lait.....	Annexe 01
Figure 02: Méthode de (routine) recherche de <i>Salmonella</i> sp. (AFNOR NF 08.052).	Annexe 01
Figure 03: Méthode horizontale pour la recherche et de dénombrement de <i>Salmonella</i> sp. (J.O.R.A. N°44/2017) (ISO 6579: 2002).....	Annexe 01
Figure 04: Méthode de recherche et de dénombrement de <i>Cronobacter</i> sp. ISO/TS 22964.....	Annexe 01
Figure 05: Méthode de recherche et de dénombrement de <i>Cronobacter</i> sp. FDA/2002.....	Annexe 01
Figure 06: Diagramme illustre les différentes étapes expérimentales.....	19
Figure 07: Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.....	Annexe 02
Figure 08: Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile sur PCA.....	24
Figure 09: Protocole de recherche et de dénombrement des coliformes sur gélose VRBG.....	25
Figure 10: Protocole de recherche des spores sulfito- réductrices.....	27
Figure 11: Protocole de recherche des streptocoques fécaux.....	28
Figure 12: Protocole de recherche et de dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	29
Figure 13: Protocole de recherche et de dénombrement de <i>Salmonella</i> sp. (AFNOR NF 08.052).....	31
Figure 14: Protocole de recherche et de dénombrement de <i>Salmonella</i> sp. (J.O.R.A. N°44/2017)	33
Figure 15: Protocole de recherche et de dénombrement de <i>Cronobacter</i> sp. (ISO/TS 22964).....	35
Figure 16: Histogramme représentatif des variations de la densité.....	36
Figure 17: Histogramme représentatif des variations du pH.....	37
Figure 18: Histogramme représentatif des variations de l'acidité.....	37
Figure 19: Histogramme représentatif des variations de la viscosité.....	38
Figure 20: Histogramme représentatif des variations de la conductivité.....	38
Figure 21: Histogramme représentatif des variations de l'EST.....	39
Figure 22: Histogramme représentatif des variations de coliformes totaux.....	40
Figure 23: Deux photos illustres les résultats de recherche des coliformes totaux 37°C pour l'E 01 et 05.....	Annexe 02

Liste des tableaux

Tableau 01: Composition moyenne du lait entier.....	Annexe 01
Tableau 02: Composition des formules infantiles, lait humain et lait de vache.....	Annexe 01
Tableau 03: Caractéristiques biochimiques de <i>Salmonella</i> sp.....	Annexe 01
Tableau 04: Flambées de salmonellose au cours de la période 1985-2005 liées à des préparations pour nourrissons en poudre (PIF).....	Annexe 01
Tableau 05: Principaux caractéristiques biochimiques de <i>Cronobacter</i> spp.....	14
Tableau 06: De synthèse-Les épidémies à <i>C. sakazakii</i> à travers le monde.....	Annexe 01
Tableau 07: Tableau illustrant les échantillons et leurs caractéristiques.....	18
Tableau 08: Résultats des analyses physico- chimiques.....	36
Tableau 09: Résultats du contrôle de la qualité microbiologique.....	39
Tableau 10: Illustre les normes utilisées pour l'interprétation des résultats.....	40
Tableau 11: Illustre les résultats de tests de Kovacs (<i>E. coli</i>) avec témoin.....	41
Tableau 12: Illustre les résultats de recherche des spores sulfito-réductrices.....	Annexe 02
Tableau 13: Estimation visuelle des troubles (de croissance bactérienne) sur deux bouillons sélectifs pour Salmonelles: SFB, R-V.....	41
Tableau 14: Estimation visuelle des troubles (de croissance bactérienne) sur les trois bouillons sélectifs pour Salmonelles: SFB, BVM et BMK.....	42

Liste des abréviations

(-): Absence.

(+ + +): croissance très élevée.

(+ +): croissance élevée.

(+): Croissance modérée.

(00):Aucune croissance,

±: Plus ou moins.

°C: Degré Celsius.

°D: degré Dornic.

µs/cm: microsiemens/centimètre.

µs: microsiemens.

AFNOR- NF: Association Française de Normalisation/ Norme Française.

AFSSA: l'Agence Française de sécurité sanitaire des aliments.

ANSES: Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du travail <https://www.anses.fr/fr>.

API 20^E: Appareils et procédés d'identification destinée pour les Entérobactéries.

API 32: Analytical Profile Index.

AT: Acidité titrable.

BLVBRP: Bilié Lactosé au Vert Brillant et au Rouge de Phénol.

BMK: Bouillon Muller Kaufman.

BVM: Bouillon au Vert de Malachite et au chlorure de magnésium.

C. sakazakii: *Cronobacter sakazakii*.

C: Coliformes.

Ca: Calcium.

CE: Communauté Européenne.

CF: Coliformes fécaux.

cm³: centimètre cube.

CT: Coliformes totaux.

D: densité du produit en g/cm³.

DA: Dinar Algérien.

Dr.: Docteur.

E. coli: *Escherichia coli*.

E. sakazakii: *Enterobacter sakazakii*.

E.S: Extrait sec.

E: échantillon.

Liste des abréviations

EE: Enrichissement pour Entérobactéries.

EP: Eau Peptonée.

EPEI: Eau peptonée exempte d'indole.

EPS: Exopolysaccharide.

ESIA: *Enterobacter sakazakii* isolation agar.

EST: Extrait Sec Total.

FDA: Food and Drug Administration.

FIL: Fédération Internationale de Laiterie.

FTAM: Flore Aérobie Mésophile Totale.

g/cm³: gramme/centimètre cube.

g/l: gramme/litre.

GC: Giolitti et Contoni.

HCl: Chlorure d'hydrogène

ISO/ TS: Organisation Internationale de Normalisation/ Spécification Technique.

J.O.R.A.: Journal officiel de république algérienne.

Kcal: kilo cal.

L: Litre.

LPS: Lipopolysaccharides.

M: moyenne.

m²: masse².

mg: Milligramme.

ml: masse¹.

ml: Millilitre.

mLST: Laurylsulfate- tryptose- MUG(Mossel) (MUG: 4- Méthylumbelliféryle- β- D-glucuronide).

mm: Millimètre.

mn: minutes.

Moyen: Moyenne.

mPa.s: milli Pascal.seconde.

ms: milisiemens

N.N: Norme Nationale.

NaOH: Hydroxyde de sodium

ND: non déterminé.

NTS: Les salmonelloses non typhiques.

Liste des abréviations

OMS: Organisation mondiale de la santé.

PCA: Plate Count Agar.

PIF: Powdered Infant Formula.

R-V: Rappaport Vassiliadis.

S. aureus: *Staphylococcus aureus*.

S. bongori: *Salmonella bongori*.

S. enterica: *Salmonella enterica*.

S. paratyphi: *Salmonella paratyphi*.

S. typhi: *Salmonella typhi*.

S/C: Simple Concentration.

S: Second.

SF: Streptocoques fécaux,

SFB: Bouillon sélénite-cystéine.

SM: Solution mère.

sp.: Espèces.

spp.: Plusieurs espèces.

SSR: Spores sulfito-réductrices.

TDA: Tryptophane désaminase.

TS: Spécification Technique.

TSA: Trypticase Soy Agar(Gélose Trypticase de Soja).

V/V: Volume par Volume.

V: le volume en ml correspond à la chute de la burette (volume de la solution de NaOH utilisé).

VF: Viande Foie.

VP: Voges Proskauer.

VRBG: Gélose Biliée au cristal Violet et au Rouge neutre.

Introduction

Les laits et préparations en poudre destinées aux nourrissons, sont obtenus à partir de laits d'espèce bovine (Fredot, 2006), d'autres espèces, ou d'un mélange de ces laits et/ou d'autres ingrédients dont il a été démontré qu'ils conviennent à l'alimentation des nourrissons (Goulet et *al.*, 2012). La transformation du lait cru en poudre, augmente sa durée de vie et permet de conserver sa valeur nutritive et ses caractéristiques sensorielles pour de longues périodes, même à température ambiante (Amariglio, 1986; Pal et *al.*, 2016). Ces laits infantiles, doivent être composés de protéines, de glucides, de lipides, de vitamines, de sels minéraux et d'oligo-éléments, et d'additifs alimentaires autorisés à l'exemple de certains pré-biotiques (Cariolis, 2014). La fabrication et la conservation des laits infantiles est soumise à une réglementation stricte, définissant leur composition, les quantités nécessaires au bon développement du nourrisson (Goulet et *al.*, 2012; J.O.R.A. N°: 49/ 2012). Cette composition, tend à se rapprocher au plus près du lait maternel et des besoins du nourrisson avec un rapport quantité/qualité conforme au stade de lactation et aux normes requises (Kent, 2015). Les opérations du contrôle de qualité physicochimique, visent à l'obtention d'un produit laitier stable, sans défauts organoleptiques et/ou rhéologiques (Gasmalla et *al.*, 2013; Soceanu et *al.*, 2015). De même, les analyses de contrôle microbiologique, garantissent, un produit sain, exempt de risques bactériologiques (Kent et *al.*, 2015) et/ou toxicologiques (Keck, 2009; Tahoun et Abdelfetah, 2015; Abdelkhalek et *al.*, 2016). Par ailleurs, les laits infantiles en poudre, malgré leur faible teneur en eau (Aw de 3% à 4%), recèlent des flores indicatrices de contamination fécale récentes à l'exemple la flore totale aérobie, des entérobactéries (coliformes), et d'autres résultantes des pollutions fécales anciennes, comme les endospores des bactéries sulfite-réductrices, les streptocoques fécaux (Cho et *al.*, 2019). En plus, des espèces bactériennes pathogènes et/ou toxigènes (Kent et *al.*, 2015); parmi celles-ci, les plus redoutables: *Escherichia coli*, *Cronobacter sakazakii* et *Staphylococcus aureus*, doivent être absents dans ces denrées (Pal et *al.*, 2016). En outre, les bacilles formant des endospores sont des contaminants majeurs, dans les industries de transformation du lait (Haughton et *al.*, 2010; Heyndrickx, 2011). La présence, en nombre élevé, des endospores bactériennes, réduit la valeur des laits infantiles, et considérée, comme indice d'absence de bonnes pratiques de fabrication et présomption des contaminations fécales anciennes (Sadiq et *al.*, 2016; Amrani, 2017). A cet égard, des intoxications alimentaires ont été rapportées dans la littérature scientifique, à travers le monde, où les laits infantiles en poudre, étaient des vecteurs potentiels, les endospores notamment celles des espèces *Bacillus* spp., surtout certaines

Introduction

souches *Bacillus cereus* étaient fortement impliquées: Germany (Wiebe, 1999), l'Inde (Bendi et al., 2005), Egypte (Sadek et al., 2006; 2015), Brazil (Rezende-Lago et al., 2007), Korea (Hwang et al., 2008), Australia (Eglezos et al., 2010; Thompson, 2010), Irlande (Haughton et al., 2010), Italy (Di Pinto et al., 2013) et Malysia (Tong, 2015). Selon Becker et al., (1994), un taux de 54% des laits et formules infantiles étaient contaminés par des spores des *Bacillus cereus* sur un effectif de 261 échantillons fabriqués dans 17 pays. De l'avis de certains auteurs, les endospores aérobies des espèces *Bacillus* sp., peuvent échappé à tout processus industriel, traitement thermique ou hygiénique par rayonnement, visant leurs élimination (Scurrah et al., 2006; Stoeckel et al., 2013; 2016; Rossi et al., 2018). De même, Ronimus et al., (2006), ont démontré que les endospores bactériennes, peuvent survivent dans la poudre du lait pour une période dépassant quatre-vingt-dix années. Les espèces *Cronobacter* sp., sont les plus surveillé, dans les laits et formules en poudre (Fakruddin et al., 2013; Pal et al., 2019), notamment ceux conçus pour les prématurés et les nourrissons hypotrophes. De même, certaines formules épaissies, peuvent présenter des risques accrus, en fonction des ingrédients et additifs, qui les composent, du mode d'incorporation de ceux-ci lors de la fabrication (Proudy, 2009). A ce titre, les espèces *Cronobacter* sp. sont à l'origine des infections associées à des contaminations des préparations infantiles (Proudy, 2009; Henry et Fouladkhah 2019). Responsables de plusieurs épidémies à travers le monde: France 2004 (Anonyme, 2005); Inde 2007 (Ray et al., 2007); Espagne 2007 (Conde et al., 2007); Mexique 2015 (Jackson et al., 2015); USA 2017 (Bowen et al., 2017); Australie 2018 (Mc Mullan et al., 2018). En outre, les espèces de *Salmonella* sont des pathogènes intestinaux (Dupont, 2007), présentes naturellement dans le tractus digestif d'homme et des animaux, qui ont statut leur réservoir principal; elles peuvent, suite à des contaminations fécales, survivre dans l'environnement et les aliments pendant plusieurs mois (Korsak et al., 2004). Des travaux scientifiques ont montré que les espèces *Salmonella* sp., peuvent survivre, pour de longues périodes dans la poudre du lait (Marth, 1969; Dhiaf et al., 2004; Brouard et al., 2005). Plusieurs épidémies, rapportées à l'échelle mondiale (Da Silva et al., 2018) et/ ou régionale, ou des sérotypes *Salmonella* sp. étaient impliquées, dont les laits infantiles en poudre étaient les vecteurs: *Salmonella* sérotype *Virchow* lactose positif (Usera et al., 1996), *Salmonella enterica* sérotype *Anatum* (Threfall et al., 1998), *Salmonella enterica* sérotype *London* (Park et al., 2004), *Salmonella enterica* sérotype *Agona* (Brouard et al., 2005). Bien que les laits infantiles soient commercialisés dans des emballages étanches, hygiéniques et très innovés, la stabilité de ces produits, lors de conservation, de transport, de commercialisation, constituent un défi pour les firmes activant en technologie laitière et les organismes chargés de contrôle

Introduction

de qualité et d'hygiène (Dhiaf et *al.*, 2004; Brouard et *al.*, 2005). Par leur composition biochimique, riche en protéines, lipides, sucres, leur pH au voisinage de neutralité, les rend très vulnérables aux attaques d'enzymes microbiens, ces laits sont des milieux de culture idéales pour nombreuses espèces eucaryotes et procaryotes. De même, leurs richesses en composés oxydables; vitamines, lipides et des probiotiques, peuvent se transformer sous l'influence de la lumière, de l'oxygène et de la température (Luquet, 1990), d'où l'intérêt d'explorer leur stabilité par différents tests (Aman et *al.*, 2016). En Algérie, les laits et formules infantiles en poudre, sont exclusivement d'importation. Dans ce contexte précis, se focalise l'objectif de l'étude, qui se veut une contribution partielle, à l'exploration de la stabilité physico-chimique par réalisation de sept tests: (Stabilité, Densité, pH, Acidité titrable, Viscosité, Conductivité, Extrait Sec Total). L'évaluation de qualité et conformité microbiologique, par dénombrement des Flores aérobies, coliformes, Streptocoques D et les endospores des procaryotes sulfite-réducteurs et recherche des espèces microbiennes pathogènes et/ou toxigènes: (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Cronobacter* sp. et *Staphylococcus aureus*), pour un effectif de six échantillons (quatre marques) du lait en poudre, collectés de différentes officines, au chef-lieu de la wilaya de Bordj Bou Arreridj Nord- Est d'Algérie, durant la période Février- Mars 2020. Les résultats seront confrontés aux différentes normes nationales en vigueur et les normes de la littérature scientifique.

I.1. Généralités sur les laits

I.1.1. Définition de lait

Le lait est la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (*Codex Alimentarius*, 1999). Selon le Congrès international pour la répression des fraudes alimentaires tenu à Genève 1909: «Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum» (Boudier et *al.*, 1981).

I.1.2. Compositions du lait

Franworth et Mainville, (2010) évoquent que, le lait est reconnu comme étant un aliment complet et bon pour la santé. Etant source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes. Cependant, Les laits restent les seuls aliments naturels complets.

Tableau 01: Composition moyenne du lait entier Annexe 01 (Fredot, 2006).

I.1.3. Propriétés du lait

I.1.3.1. Propriétés organoleptiques du lait

I.1.3.1.1. La couleur

Le lait est un liquide blanc mat, opaque dû à des micelles de caséinates ou parfois bleuté ou jaunâtre du fait de béta- carotène ou de la lactoflavine contenus dans la matière grasse.

I.1.3.1.2. L'odeur

Elle est toujours faible et variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice.

I.1.3.1.3. La saveur

Elle est douceâtre, faiblement sucrée, en raison de sa richesse en lactose dont le pouvoir sucrant est inférieur à celui du saccharose (Amariglio, 1986).

I.1.3.1.4. La viscosité

La viscosité du lait reconstitué à partir de lait poudres est généralement mesurée par une méthode alignée avec l'application dans laquelle la poudre est destinée à l'emploi (Kajal et *al.*, 2012).

I.1.3.2. Propriétés physico- chimiques du lait

-L'acidité du lait est due principalement à la présence de protéines (notamment la caséine et la lactalbumine), et d'acides organiques, tel que l'acide lactique (Amiot et *al.*, 2002).

-Les valeurs du pH représentent l'état de fraîcheur du lait et plus particulièrement sa stabilité, du fait que c'est le pH qui influence la solubilité des protéines, c'est-à-dire, l'atteinte du point isoélectrique (Amiot et *al.*, 2002).

-La densité du lait à 15°C de 1.028 à 1.035 pour une moyenne de 1.032 (Amiot et *al.*, 2002).

I.1.4. Microbiologie du lait

I.1.4.1. Flore originelle: Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants (Guiraud, 2003).

I.1.4.2. Flore de contamination: Elle est composée d'une flore d'altération, qui cause des défauts sensoriels ou qui réduire la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002).

I.1.5. Types de lait

Les principaux types du lait selon le ministère de l'économie de l'industrie et de l'emploi (2009).

Figure 01: Représente les différents types du lait (Annexe 01).

I.2. Généralités sur la poudre du lait infantile

I.2.1. Définition du lait infantile

Les formules infantiles sont alors l'unique alternative au lait maternel. Ces préparations doivent se conformer à un cadre législatif fixant la fourchette de concentration pour les protéines, les glucides, les lipides, les vitamines et les oligo-éléments selon la directive 2006/141/CE de la Commission européenne du 22 décembre 2006 concernant les préparations pour nourrissons et les préparations de suite, et modifiant la directive 1999/21/CE (Commission européenne, 2006) (Proudy, 2009).

Ont connu des évolutions considérables en terme de composition et de bénéfices fonctionnels, pour se rapprocher le plus possible du lait maternel, avec un minimum d'une trentaine d'ingrédients entrant dans leur formulation (Proudy, 2009).

I.2.2. Classification du lait infantile

Selon Proudy, (2009). On distingue actuellement trois catégories de « laits » infantiles:

I.2.2.1. Les préparations pour nourrissons (ou préparations de 1er âge)

Destinées à la période d'alimentation exclusivement lactée, à défaut d'allaitement maternel, c'est-à-dire jusqu'à l'âge de 4 ou 6 mois.

I.2.2.2. Les laits de suite (ou laits de 2ème âge)

Destinés à la période de transition correspondant à l'introduction progressive d'une alimentation diversifiée, au plus tôt à partir de l'âge de 4 mois mais en général vers 6 mois.

I.2.2.3. Les laits de croissance

Formulés pour les bébés âgés d'au moins 9 à 12 mois et pour la deuxième année de vie.

I.2.3. Composition de lait infantile

Le lait infantile, c'est d'abord du lait de vache (dans l'immense majorité des cas). Un lait qui convient à un animal ayant un système digestif très différent de l'homme, c'est pourquoi, sous sa forme brute, il n'est pas adapté au bébé humain et doit être transformé pour se rapprocher le plus possible du lait maternel (Pubert, 2012).

Tableau 02: Composition des formules infantiles, lait humain et lait de vache (Annexe 01) (Bocquet et *al.*, 2002).

I.2.4. Propriétés du lait en poudre infantile (PIF)

Les paramètres importants de qualité pour le lait en poudre sont: les propriétés organoleptiques, physico- chimiques, ainsi que la qualité microbiologique (Deeb et *al.*, 2010).

I.2.4.1. Propriétés organoleptiques

-Le goût du lait en poudre de bonne qualité, devrait être similaire à celui du lait frais une fois reconstitué.

-La saveur est propre, douce et agréable et peut donner une perception légèrement cuite ou chauffée.

-La couleur du lait écrémé en poudre doit être uniforme et montrer l'absence totale de taches étrangères, de particules brûlées et de brunissement. Le produit doit avoir une couleur blanc crème ou jaune clair (varie avec la couleur de la graisse) (Kalyankar et *al.*, 2016).

-Le lait en poudre dégageait une odeur agréable et doit être franche (Kelly et Patrick, 2016).

I.2.4.2. Propriétés physico- chimiques

I.2.4.2.1. La taille

La taille des particules est une propriété physique importante et peut être liée à son apparence, à sa reconstitution et à ses caractéristiques d'écoulement. La différence de taille des particules peut conduire à une stratification de la poudre avec les solides les plus concentrés au sommet, ce qui affectera la reconstitution du produit sec (Kalyankar et *al.*, 2016).

I.2.4.2.2. Densité

La densité apparente est une propriété ayant une grande importance pour des raisons économiques et fonctionnelles. Une densité apparente élevée est souhaitable pour réduire les coûts d'expédition et d'emballage (Kalyankar et *al.*, 2016).

I.2.4.2.3. Fluidité

C'est la capacité d'une poudre à couler librement sans formation de grumeaux ou d'agrégats (Kalyankar et *al.*, 2016). La Fluidité est un attribut important dans le domaine du transport, d'emballage et de la manutention (Deeb et *al.*, 2010).

I.2.4.2.4. Mouillabilité

L'aptitude du lait à pénétrer facilement dans l'eau. La poudre doit être capable de surmonter la tension superficielle entre elle-même et l'eau (Deeb et *al.*, 2010).

I.2.4.2.5. Solubilité

C'est une condition d'une bonne qualité de la poudre, et également nécessaire pour l'élimination ultérieure de matériau non dissous (Deeb et *al.*, 2010).

I.2.4.2.6. Viscosité

Le contrôle de la viscosité est important dans les produits secs. La viscosité du lait reconstitué à partir de la poudre (Kajal et *al.*, 2012).

I.2.4.2.7. Stabilité à la chaleur

La stabilité thermique du lait reconstitué est affectée par les mêmes facteurs que le lait frais (pH, l'activité des ions calcium, concentrations de caséines et protéines de lactosérum), il est de bonne qualité résiste au chauffage à 140 °C pendant au moins 15 minutes mais la stabilité est variable (Kelly et Patrick, 2016).

I.2.4.2.8. Propriétés moussantes et émulsifiantes

La poudre offre de bonnes capacités émulsifiantes et moussantes. Les phospholipides de la membrane des globules gras du lait sont dispersés dans une phase aqueuse contenant des protéines de lait, du lactose, des sels et des minéraux (Olga, 2013).

I.2.4.3. Propriétés microbiologiques

Il n'y a aucun doute que les laits pour nourrissons sont généralement considérés comme produit de bonne qualité microbiologique, sans risque d'altération, mais plusieurs facteurs peuvent contribuer à modifier ses propriétés qui réduisent sa durée de conservation et donc sa valeur commerciale (Rajput et *al.*, 2009).

I.2.4.3.1. Les bactéries d'altération

La microflore dépend du nombre et du type de bactéries présentes dans le lait cru, la température de préchauffage et les conditions de fonctionnement de l'évaporateur. Un grand nombre de microorganismes dans le lait cru peut se retrouver dans la poudre (Deeb et *al.*, 2010).

I.2.4.3.2. Les bactéries pathogènes

Elles ont un intérêt majeur, et comprennent des salmonelles, *Bacillus*, *Staphylococcus* et *Escherichia coli*. Alors que ces organismes ne se développent pas dans la poudre, ils restent nombreux pour de longues périodes et peuvent se développer lorsque la poudre est reconstituée et conservée à température favorable (Deeb et *al.*, 2010). Les principaux groupes:

- a) Microcoques.
- b) Streptocoques thermo- résistants.
- c) Corynebactéries.
- d) Les spores bactériennes
- e) Des contaminants divers, éventuellement non thermorésistants, qui peuvent provenir d'une contamination atmosphérique ou d'un contact direct (Kherbouche, 2014).

II.1. Transmission des salmonelles et surveillance

II.1.1. Historique

Salmonella a été identifiée pour la première fois en 1885. Elle a été nommée d'après l'un des deux hommes qui l'ont découverte, Daniel Elmer Salmon (l'autre était Theobald Smith). Ils ont d'abord trouvé *Salmonella* chez des porcs atteints d'une maladie appelée choléra du porc. À l'époque, ils ont nommé l'organisme «Hog-cholerabacillus». Aujourd'hui, nous appelons ce même organisme *Salmonella cholera-suis*. Il n'a obtenu le nom de *Salmonella* qu'en 1900, lorsque le scientifique français Joseph Léon Lignières a suggéré d'appeler l'ensemble du groupe porcine *Salmonella* en l'honneur du saumon (Brands et al., 2006). D'après l'Organisation Mondiale de la Santé, 420 000 personnes dont 125 000 enfants meurent chaque année d'infections alimentaires (ANSES, 2011; OMS, 2015).

Pour l'Europe, le nombre de décès s'élève à 260 personnes pour l'année 2014 (Guinet, 2018). Les maladies diarrhéiques sont responsables de plus de la moitié des décès. En France, les salmonelles expliquent à peu-près 50% des infections alimentaires (Guinet, 2018). Les lait en poudre (du 1^{er} âge) sont les principaux vecteurs des salmonelles (EFSA, 2004; Brouard et al., 2005; Jourdan et al., 2008; Keck, 2009; Da Silva et al., 2018). Les coûts pour les prises en charges des salmonelloses sont de l'ordre de plusieurs dizaines de millions d'euros. Ces couts s'élèvent lorsque les contaminations sont industrielles (Brouard et al., 2005; Guinet, 2018).

II.1.2. Taxonomie

Le genre *Salmonella*, qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, doit son nom au docteur Vétérinaire Salmon, bactériologiste américain du 19e siècle. Il soit divisé en deux espèces distinctes: *S. enterica* et *S. bongori*. La première espèce est elle-même subdivisée en 6 sous-espèces: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* et *indica* (Korsak et al., 2004).

II.1.2.1. Classification

Selon Menad, (2010), *Salmonella* classé comme suit:

- Classe: Gammaproteobacteria.
- Ordre: Entérobactériales.
- Famille: *Enterobacteriaceae*.
- Genre: *Salmonella*.

II.1.3. Sources de *Salmonella* sp.

Humain: La transmission de *Salmonella* de personne à personne est bien reconnue et la transmission secondaire de *Salmonella* lors d'épidémies a été démontrée, le transport dans les fèces (Gilbert et al., 2010).

Animal: *Salmonella* peut être trouvée chez les mammifères, les poissons, les reptiles, les amphibiens, les insectes et les oiseaux. La plupart des colonisations par *Salmonella* chez les animaux ne produisent aucun signe clinique (Gilbert et al., 2010).

Aliments: les viandes rouges et blanches, les produits à base de viande, les laits, le fromage et les œufs sont considérés comme les principales sources alimentaires de salmonellose humaine (Gilbert et al., 2010).

Environnement: Les salmonelles présentes dans les effluents d'eaux usées ou les excréments d'animaux peuvent contaminer les pâturages, le sol et l'eau. Ils peuvent rester viables pendant des mois dans le sol (Gilbert et al., 2010).

II.1.4. Les caractères de *Salmonella* sp.

II.1.4.1. Les caractères bactériologiques

Selon Korsak et al., (2004), les *Salmonella* sont:

-Des bacilles à coloration Gram-négative, non sporulants, aéro- anaérobies, la plupart du temps doués d'une mobilité propre grâce à des flagelles péritriches (à l'exception de *Salmonella Gallinarum*).

-Des bâtonnets varient entre 2 et 5 µm de longueur sur 0,7 à 1,5 µm de largeur.

Selon Brands et al., (2006), les *Salmonella* peuvent se multiplier:

-À température 37°C, mais a la capacité de croître à une large gamme de températures de 6 à 46°C.

-À pH de 4,1 à 9 qui est légèrement basique à fortement acide. La croissance optimale se produit à un pH de 6,5 à 7,5.

II.1.4.2. Les caractères biochimiques

Les principales caractéristiques biochimiques de *Salmonella* sp. sont résumés dans le tableau 03.

Tableau 03: Caractéristiques biochimiques de *Salmonella* sp. (Annexe 01) (Korsak et al., 2004).

II.1.5. Pouvoir pathogène

Les salmonelloses recouvrent deux principaux types d'infections: d'une part, la fièvre typhoïde et les fièvres paratyphoïdes et d'autre part les salmonelloses non typhiques (ou non typhoïdiques) (Aubry et Gaüzère, 2018).

-La fièvre typhoïde: est due à *S. enteritica*, sérovar *S. typhi*. Elle est devenue rare dans les pays industrialisés du fait des progrès de l'hygiène et de l'amélioration des conditions d'approvisionnement en eau potable.

-Les fièvres paratyphoïdes: sont dues à *S. paratyphi A, B et C*.

-Les salmonelloses non typhiques (NTS): improprement dites mineures, sont responsables d'infections sporadiques ou épidémiques, le plus souvent en raison de la contamination des aliments ou du portage asymptomatique. Ce sont les bactéries le plus souvent en cause dans les toxi-infections d'origine alimentaire. Elles entraînent des gastroentérites, des formes invasives étant observées chez les malades à risques, en particulier les malades immunodéprimés.

II.1.6. Epidémiologie

Malgré les efforts de lutte contre les salmonelles dans les produits à base au lait en poudre, au cours de la période de 20 ans de 1985 à 2005, il y a eu au moins 6 foyers d'infection à *Salmonella* chez les nourrissons liés à la consommation de PIF (Cahill et *al.*, 2008).

Tableau 04: Flambées de salmonellose au cours de la période 1985-2005 liées à des préparations pour nourrissons en poudre (PIF) (Annexe 01) (Cahill et *al.*, 2008).

II.1.7. Méthodes de recherche et de dénombrement des *Salmonella* dans les aliments:

Il existe plusieurs méthodes standard publiées utilisant des combinaisons de milieux de culture telles que la méthode dit de routine ou AFNOR NF 08.052 (Joffin et Joffin, 1999). La méthode horizontale ISO actuelle, ISO 6579: 2002 (mise à jour en 2007) pour la détection de *Salmonella*, y compris *Salmonella Typhi* et *Salmonella Paratyphi*, applicables aux produits destinés à la consommation humaine et à l'alimentation des animaux et aux échantillons environnementaux dans le domaine de la production et de la manipulation des aliments (Andrews W., 1997; Odumeru et León-Velarde, 2012). Des méthodes standards similaires ont été publiées ailleurs, notamment dans le FDA Bacteriological Analytical Manual (Barakat, 2012).

II.1.7.1. Méthode de routine ou méthode AFNOR NF 08.052 (Joffin et Joffin, 1999)

La présente norme susmentionnée, décrit une méthode de routine pour la recherche et dénombrement des Salmonelles dans tous les produits destinés à l'alimentation humaine et animale.

Figure 02: Méthode de (routine) recherche de *Salmonella* sp. (AFNOR NF 08.052) (Annexe 01).

II.1.7.2. Méthode horizontale pour la recherche de *Salmonella* sp. (J.O.R.A. N°44/ 2017) (ISO 6579: 2002)

La présente méthode a pour objet de fixer une technique horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.

Figure 03: Méthode horizontale pour la recherche et de dénombrement de *Salmonella* sp. (J.O.R.A. N°44/ 2017) (ISO 6579: 2002) (Annexe 01).

II.2. Transmissions et surveillance des espèces *Cronobacter* sp.

II.2.1. Historique

Les espèces du genre *Cronobacter* « *Enterobacter sakazakii* » sont considérées comme des pathogènes émergents opportunistes car elles ont été impliquées dans des épidémies d'infections néonatales graves (Proudy, 2009). *Cronobacter* sp. a été isolé des préparations lactées pour nourrissons en poudre par de nombreux enquêteurs. De plus, il y a eu de nombreux rappels de préparations pour nourrissons contaminées par *Enterobacter sakazakii* aux États-Unis. En novembre 2002, un rappel national de plus de 1,5 million des boîtes de préparations en poudre pour nourrissons contaminées par *E. sakazakii* ont été signalées. Le 12 avril 2002, la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis a lancé une alerte aux professionnels de la santé américains concernant le risque associé aux infections à *E. sakazakii* chez les nouveau-nés nourris avec des préparations pour nourrissons en poudre à base de lait (Amalaradjou et al., 2009).

II.2.2. Taxonomie

II.2.2.1. Données anciens

Les espèces de *Cronobacter* spp. étaient à l'origine appelées *Enterobacter cloacae* à pigments jaunes. En 1980, il a été reclassé comme nouvelle espèce, *Enterobacter sakazakii* (Qiongqiong et al., 2013).

II.2.2.2. Données récentes

En 2007, le genre *Cronobacter* a été créé pour accueillir les biogroupes d'*E. sakazakii*, avec *C. sakazakii* comme espèce type. Le genre a été nommé pour Cronos, le Titan du mythe grec, qui a dévoré ses enfants à leur naissance. *E. sakazakii* a été classé comme un nouveau genre, *Cronobacter* dans les *Enterobacteriaceae*.

En 2007: Quatre premières espèces nommées étaient *C. sakazakii* (comprenant deux sous-espèces), *C. turicensis*, *C. muytjensii* et *C. dublinensis* (comprenant trois sous-espèces) plus une espèce sans nom appelée génomospécies *Cronobacter* I.

En 2008: La taxonomie a été révisée pour inclure une cinquième espèce nommée *C. malonaticus*, qui en 2007 avait été considérée comme une sous-espèce de *C. sakazakii*.

En 2012: Génomospécies *Cronobacter* I a été officiellement renommée *C. universalis*, et une septième espèce a été décrite appelée *C. condimenti* (Amer et Mekky, 2019).

Trois d'entre eux, à savoir *C. sakazakii*, *C. malonaticus* et *C. turicensis*, sont des agents pathogènes opportunistes humains et les autres n'ont été associés à des maladies humaines que récemment (Pall et al., 2019).

II.2.2.3. Classification

Selon Shareef, (2012), *Enterobacter sakazakii* classé comme suit:

- Groupe: Proteobacteria.
- Phylum: Gamma Proteobacteria.
- Classe: Enterobacteriales.
- Famille: *Enterobacteriaceae*.
- Genre: *Enterobacter*.
- Espèce: *Enterobacter sakazakii*.

II.2.3. Ecologie

Proudy, (2009) rappelle que *Cronobacter* spp. est ubiquiste, Les isolats proviennent à partir de:

II.2.3.1. Prélèvements cliniques

Entre autres, le liquide céphalo-rachidien, le sang, la moelle osseuse, les yeux, les oreilles, les plaies cutanées, les voies respiratoires, les crachats, le tube digestif, l'appendice, l'urine et les selles.

II.2.3.2. L'environnement naturel

Le sol, l'eau, les végétaux et des animaux (les rongeurs et les insectes).

II.2.3.3. L'environnement industriel

Notamment les industries alimentaires sont un réservoir important pour les *Cronobacter* spp. Les aliments en poudre pour bébés, en particulier les préparations en poudres, sont mis en cause et surveillés dans de nombreux pays.

II.2.4. Les caractères de *C. sakazakii*

II.2.4.1. Les caractères bactériologiques

Selon Proudy, (2009) les *Cronobacter* spp. sont:

- Des bacilles mobiles de 1 à 3 mm de longueur, anaérobies facultatifs, à Gram négatif, péritriches, caractérisés par la production d'un pigment jaune.
- Possèdent une résistance substantielle aux pH acides.
- Résistent au stress osmotique et à la dessiccation, comparativement aux autres entérobactéries.
- Les espèces de ce genre peuvent croître à des températures comprises entre 6 et 47°C avec une température de croissance optimale de 39°C (Fakruddin et al., 2013).

II.2.4.2. Les caractères biochimiques

Les *Cronobacter* spp. caractérisés par oxydase négative et catalase positive, la production d'une α -glucosidase, d'une Tween 80 estérase et d'une déoxyribonucléase extracellulaire ainsi que par l'absence de fermentation du sorbitol et l'absence d'activité phosphoamidase, et par la Fermentation de lactose, notamment dans le lait, pour produire du L- et du D-lactate (Proudy, 2009).

Les principales caractéristiques biochimiques de *Cronobacter* spp. résumés dans le tableau ci- dessous:

Tableau 05: Principaux caractéristiques biochimiques de *Cronobacter* spp. (Proudy, 2009).

ARA	CEL	RAF	SAC	SOR	ADH	CIT	H ₂ S	LDC	MR	4-NP- α - Glc	ODC	VP
+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+

Note: **ADO:** Adonitol, **ARA:** Arabinose, **CEL:** Cellobiose, **RAF:** Raffinose, **SAC:** Saccharose, **SOR:** Sorbitol, **ADH:** Arginine Dihydrolase, **CIT:** utilisation du milieu citrate de Simmons comme seule source de carbone, **H₂S:** production de sulfure d'Hydrogène, **LDC:** Lysine Décarboxylase, **MR:** test au Rouge de Méthyle, **4-NP- α -Glc:** métabolisme du 4- nitrophényl- α -D-glucopyranoside, **ODC:** Ornithine Décarboxylase, **VP:** épreuve aux réactifs de Voges-Proskauer.

II.2.5. Mode de transmission

Les sources de *C. sakazakii* et de ses véhicules de transmission ne sont pas toujours claires. Bien que l'organisme ait été détecté dans plusieurs sources alimentaires, une forte association n'a été trouvée qu'avec le PIF (Préparations pour nourrissons en poudre). Une contamination intrinsèque et extrinsèque du PIF avec *C. sakazakii* peut se produire. La contamination intrinsèque résulte de l'introduction de l'organisme dans le PIF à un certain stade du processus de fabrication. En revanche, une contamination extrinsèque peut résulter de l'utilisation d'ustensiles contaminés, tels que des mélangeurs et des cuillères; dans la préparation du PIF (Fakruddin et al., 2013).

II.2.6. Pouvoir pathogène

Cronobacter spp. est l'agent d'infections rares mais sévères touchant particulièrement les très jeunes enfants, les personnes âgées et les sujets immunodéprimés, ces infections étant beaucoup plus souvent identifiées chez les prématurés que chez les adultes. Les personnes les plus à risques sont les nourrissons de moins de 4-5 semaines. Cette bactérie a été associée à de nombreuses pathologies graves potentiellement létales, incluant des méningites, septicémies, entérocolites nécrosantes, spécialement chez le prématuré et le nouveau-né hypotrophe (Leclercq, 2006).

II.2.6.1. les facteurs de virulences

A/Toxines

Plusieurs types de toxines font partie de leurs facteurs de virulence, notamment des lipopolysaccharides (LPS), endotoxines communes aux bactéries à Gram négatif, des entérotoxines thermolabiles ou thermostables et des cytotoxines (Proudy, 2009).

B/Flagelles

La mobilité bactérienne est impliquée dans la virulence des germes pathogènes par sa contribution à l'adhésion, puis à l'invasion des surfaces d'un support ou des tissus d'un hôte (Proudy, 2009).

C/Pili et fimbriae

Les pili ont un rôle dans la conjugaison bactérienne (pili sexuels ou pili F) et que les fimbriae sont impliquées dans l'attachement des bactéries aux cellules eucaryotes (Proudy, 2009).

D/Biofilms

Les biofilms sont des communautés structurées de microorganismes fréquemment incluses au sein d'une matrice muqueuse constituée de substances polymères extracellulaires (EPS: exopolysaccharide). Ces polymères fournissent aux cellules une protection en concentrant les nutriments, en séquestrant les métaux et les toxines, en parant à la dessiccation et en offrant une résistance accrue aux biocides (Proudy, 2009).

II.2.7. Epidémiologie

Plusieurs foyers dans différentes parties du monde ont été enregistrés au cours de différentes décennies. Le taux de mortalité élevé (40-80%), la gravité de l'infection chez les nourrissons, ainsi que la rareté des informations sur l'écologie et la pathogénicité de cet organisme ont justifié cet examen des caractéristiques cliniques et microbiologiques de ce pathogène putatif d'origine alimentaire (Erkekoğlu et al., 2009).

Tableau 06: De synthèse- Les épidémies à *C. sakazakii* à travers le monde (Annexe 01).

II.2.8. Méthodes de recherche et de dénombrement dans les aliments

II.2.8.1. Méthode ISO/TS 22964

L'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) et la Fédération Internationale de Laiterie (FIL) ont récemment adopté conjointement une spécification technique (ISO/TS 22964), citée comme méthode retenue par la FIL (RM 210), définissant une méthode de détection d'*E. sakazakii* dans les préparations en poudre pour nourrissons. Cette méthode a été adoptée comme méthode de référence dans le règlement européen concernant les critères microbiologiques (règlement (CE) N°2073/2005) (Leclercq, 2006).

Figure 04: Méthode de recherche et de dénombrement de *Cronobacter* sp. ISO/ TS 22964 (Annexe 01) (Proudy, 2009).

II.2.8.2. Méthode FDA (2002)

Une méthode d'isolement/dénombrement est recommandée par la FDA depuis 2002. Une méthode pour la détection d'*E. sakazakii* a été récemment développée. Cette méthode est applicable à la détection d'*E. sakazakii*, après enrichissement, dans des aliments suivants: préparations pour nourrissons en poudre, ingrédients laitiers et de soja en poudre (Leclercq, 2006).

Figure 05: Méthode de recherche et de dénombrement de *Cronobacter* sp. FDA/ 2002 (Annexe 01) (Proudy, 2009).

I.1. Matériel

I.1.1. Objectif de l'étude

Le lait en poudre est un produit très riche en éléments nutritifs qui peuvent favoriser la croissance de divers micro-organismes surtout dans le cas où l'hygiène et les conditions de fabrication, ainsi que celles du conditionnement ne sont pas respectées, c'est pour cette raison qu'on réalise des analyses de contrôle de la qualité de la poudre du lait avant la reconstitution. Dans cette partie on s'intéresse à la réalisation des analyses physico-chimiques témoin (8tests) de la bonne qualité et de la valeur nutritive. Puis l'évaluation de la qualité microbiologique. D'une manière spécifique il s'agira de rechercher et de dénombrer des espèces bactériennes pour un effectif de 6 échantillons, de différentes marques de lait infantile.

I.1.2. Lieu de l'étude

L'intégralité de cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie ainsi qu'au laboratoire de chimie, de la faculté SNV- STU relevant de l'université de Bordj Bou Arreridj, durant la période Février- Mars de l'année 2019/ 2020. Cette étude a nécessité le recours au matériel et aux méthodes analytiques indiquées ci- après.

I.1.3. Matériel lourd et léger

- Le matériel et l'appareillage utilisés dans la présente étude sont cités dans l'annexe 02.
- Les milieux de culture ainsi que leurs compositions sont décrits dans l'annexe 02.
- Les réactifs et additifs des milieux présents dans l'annexe 02.

I.1.4. Origine des échantillons

L'ensemble des échantillons ont été collectés durant la période allant de Février 2020 au Mars 2020. Ces derniers, achetés de différentes officines situées au centre de la wilaya de Bordj Bou Arreridj de Nord- Est algérien. Notre étude expérimentale s'est porté sur 06 échantillons de poudre de laits infantiles 1ère âge et 2^{ème} âge (tableau 07).

Tableau 07: Tableau illustrant les échantillons et leurs caractéristiques.

Etiquetage Echantillon	Poids (g)	L'âge	Prix (DA)	Date de fabrication	Date de péremption	Date d'ouverture	Type d'emballage	Défauts visuels
 E1	400g	1er âge	370.00	28/10/ 2018	29/04/ 2020	29/02/ 2020	Etanche	Abs
 E2	400g	2ème âge	670.00	02/10/ 2018	02/10/ 2021	01/03/ 2020	Etanche	Abs
 E3	400g	2ème âge	650.00	07/10/ 2019	08/04/ 2021	01/03/ 2020	Etanche	Abs
 E4	400g	2ème âge	620.00	07/01/ 2019	07/01/ 2021	01/03/ 2020	Etanche	Abs
 E5	900g	2ème âge	1230.0 0	03/08/ 2019	04/08/ 2021	26/02/ 2020	Etanche	Abs
 E6	400g	1er âge	530.00	28/12/ 2018	29/06/ 2020	03/10/ 2019	Etanche	Abs

Abs : Absent, **DA**: Dinar Algérien, **g**: Gramme, **E**: Echantillon.

I.2. Méthodes:

La méthodologie du travail adoptée dans cette étude est récapitulée dans la figure 06:

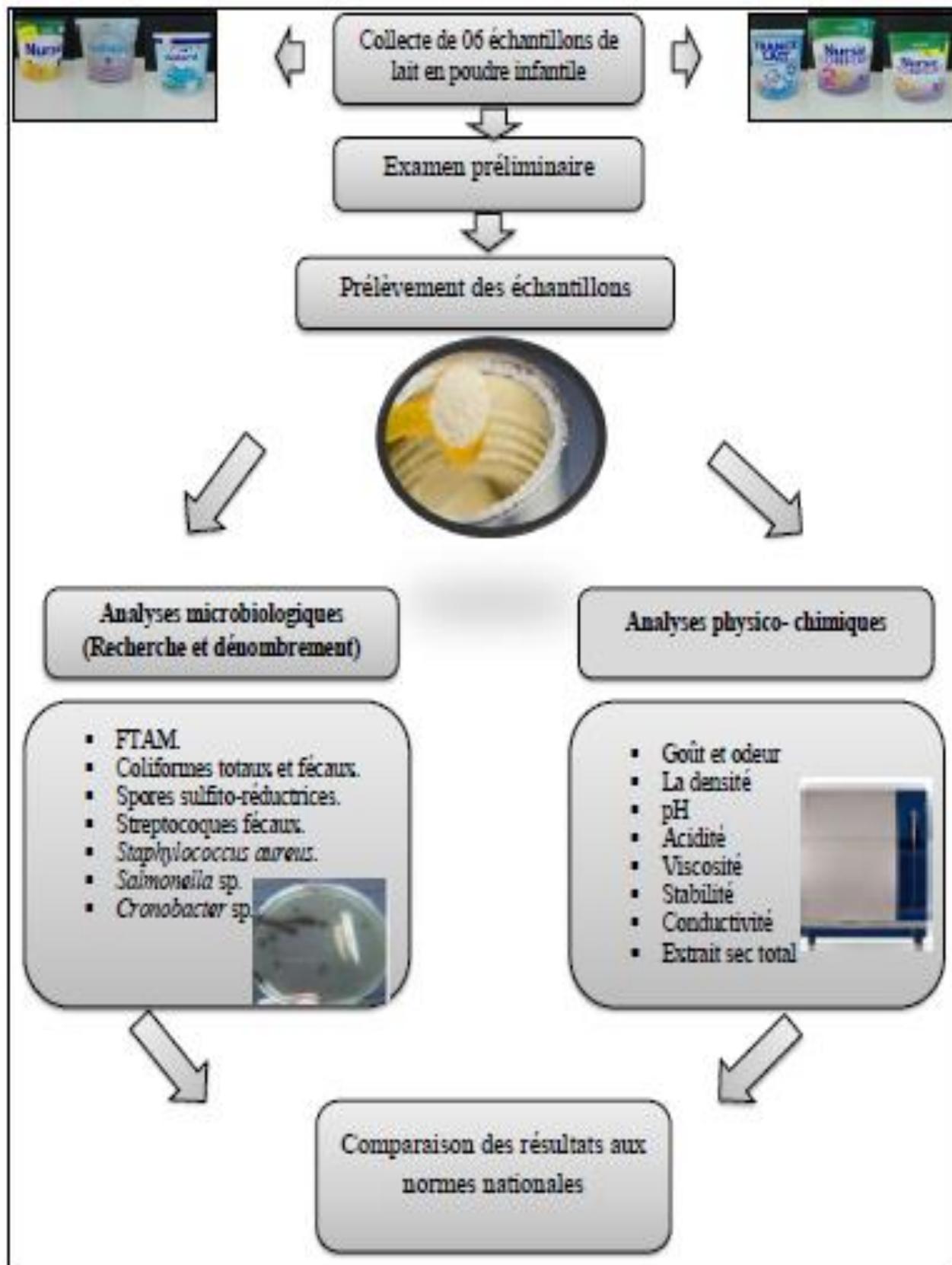


Figure 06: Diagramme illustre les différentes étapes expérimentales.

I.2.1. Analyses physico- chimiques

Objectif

La réalisation des tests physico- chimiques, permettre de vérifier la stabilité du produit, de déceler des probables défauts, des modifications invisibles ayant entachées le produit, de contribuer à la protection du consommateur. Les analyses physico-chimiques ont été effectuées pour les 06 échantillons de la poudre du lait infantile, Il s'agit essentiellement de:

I.2.1.1. Appréciation du goût et de l'odeur

Avec un test olfactif et gustatif, en goûtant une quantité de l'échantillon.

Expression des résultats: Le goût et l'odeur doivent être normaux (Vierling, 2003).

I.2.1.2. Détermination de la densité (g/cm³)

Définition: La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau.

Principe: L'analyse consiste à immerger dans 250 ml de lait un lactodensimètre qui donne directement la densité du lait à 20°C.

Mode opératoire

-Rincer l'éprouvette avec du lait à analyser.

-Verser le lait reconstitué dans l'éprouvette; tenue inclinée afin d'éviter la formation de la mousse ou des bulles d'air.

-L'introduction de lactodensimètre dans l'éprouvette pleine de lait qui doit provoquer un débordement de liquide. Ce débordement est nécessaire, il débarrasse la surface du lait des traces de mousse qui gênaient la lecture.

-Plonger doucement le lactodensimètre dans le lait en le maintenant dans l'axe de l'éprouvette et en le retenant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre.

-Attendre 30 secondes à une minute avant d'effectuer la lecture de la graduation (Pointurier, 2003).

Lecture du résultat: Après stabilisation du lactodensimètre, lire la graduation apparente au niveau supérieur de la tige. La densité est calculée selon la formule suivante (Majdi, 2008):

$$D= 1 \times (L \times 10^3)$$

D: densité du produit en g/cm³.

L: valeur indiquée sur la tige.

I.2.1.3. Détermination de pH

Définition: La valeur du pH a une importance exceptionnelle par l'abondance des indications quelle donne sur la richesse du lait en certains de ces constituants, sur son état de fraîcheur ou sur sa stabilité.

Principe: L'évolution de l'acidité ou de l'alcalinité d'un lait ou encore l'activité métabolique des micro-organismes dans le lait se fait par la mesure directe de son pH à 20°C.

Mode opératoire

- Etalonner le pH mètre à l'aide des deux solutions tampons HCl à pH 4 et NaOH à pH 7.
- Plonger l'électrode dans l'eau distillée et lire la valeur du pH.
- Introduire l'électrode dans le bécher contenant la poudre du lait reconstitué à analyser dont la température doit être 20°C.
- A chaque détermination du pH, retirer l'électrode, rincer avec l'eau distillée et sécher.

Lecture du résultat: la valeur indiquée sur le pH mètre (Inolab) (Christensen et *al.*, 1991).

I.2.1.4. Détermination de l'Acidité titrable en degré Dornic (°D)

Définition: On entend par acidité titrable du lait, celle exprimée conventionnellement en gramme d'acide lactique par litre du lait.

Principe: Titrage de l'acidité par une solution alcaline en présence de phénolphtaléine.

Mode opératoire

- Introduire dans un Bécher 10 ml d'échantillon à analyser, auxquels on ajoute 2 à 3 gouttes de l'indicateur coloré.
- Titrer avec la solution NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose.

Lecture:

$$AT = V \times 10 (D^\circ)$$

AT: Acidité titrable.

V: le volume en ml correspond à la chute de la burette (volume de la solution de NaOH utilisé) (Luquet, 1985).

I.2.1.5. Détermination de la viscosité (mPa.s)

Définition: Les mesures de viscosité étaient réalisées par détermination directe des tensions de cisaillement, pour des gradients de vitesse définis, à l'aide d'un viscosimètre rotatif.

Principe: La viscosité est mesurée en milli Pascal par seconde, en utilisant le viscosimètre.

Mode opératoire

- Remplir le seau de viscosimètre par 400 ml de lait reconstitué.
- Fixer le rotor au viscosimètre.
- Plonger le rotor dans le seau.
- Allumer le viscosimètre et attendre jusqu'à stabilisation de l'aiguille.
- Lire le résultat.

I.2.1.6. Détermination de la stabilité

Test à l'alcool: Il consiste à mélanger dans un tube, le lait reconstitué et l'alcool éthylique à 80 % et à examiner la présence ou l'absence d'une floculation. Le test est dit négatif si on ne constate aucune floculation pendant au moins une minute.

Mode opératoire

- Introduire 2 ml du lait à examiner dans un tube à essai.
- Ajouter un même volume égal d'alcool éthylique puis, fermer le tube.
- Tourner le tube deux à trois fois sans agitation.

Expression du résultat

- Si le mélange s'écoule le long des parois sans laisser de traces, alors le lait est stable.
- Si le mélange laisse des grumeaux le long des parois du tube, alors le lait n'est pas stable (Thieulin et Vuillaume, 1967).

I.2.1.7. Détermination de la conductivité électrique ($\mu\text{s}/\text{cm}$)

Définition: La conductivité électrique, est la propriété d'un échantillon à transmettre le courant électrique. Elle se mesure en milli ou en microsiemens par centimètre (ms ou $\mu\text{s}/\text{cm}$). Cette propriété est majoritairement, due aux ions (essentiellement chlorures, phosphates, citrates, carbonates et bicarbonates de potassium, sodium, calcium et magnésium). Ainsi, tout changement de concentration en ions, dans le lait, reflètera une modification de la conductivité électrique de celui-ci.

Principe: Les électrodes sont dégraissées, avant toute séance de mesure, à l'aide d'un détergent usuel (ex: liquide vaisselle), afin d'éviter tout encrassement ou dépôt de graisse qui pourrait fausser les mesures.

Mode opératoire

Après introduction de l'électrode, dans un volume de lait de 50 ml, préalablement chauffée à 20°C. On procède, par la suite, à l'enregistrement de la valeur affichée par le conductimètre. Après chaque mesure, on rince l'électrode (Mabrook et Petty, 2003).

I.2.1.8. Dosage de l'eau et des solides totaux (extrait sec total)

Définition: Les solides totaux sont définis comme étant le résidu d'un aliment restant après élimination de l'eau, dans des conditions expérimentales données.

$$\% \text{H}_2\text{O} + \% \text{S.T} = 100\%$$

Méthode thermogravimétrique: La méthode thermogravimétrique est la méthode de référence pour la détermination de l'eau ou des solides totaux dans les aliments. L'analyse nécessite l'emploi d'une étuve ventilée ou d'un four à vide (100 à 105 °C).

Principe de la méthode

- On pèse l'échantillon.
- On élimine l'eau par chauffage, jusqu'à ce que la masse de l'échantillon demeure constante.
- On pèse l'échantillon sec, c'est-à-dire les solides totaux (AFNOR, 1995).

$$\% \text{ S.T} = \text{Masse (S.T.)} / \text{Masse (échantillon)} \times 100$$

$$\% \text{ H}_2\text{O} = 100 - \% \text{ S.T}$$

I.2.2. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques (préparation des solutions mères, réalisation des dilutions, modes d'ensemencement, temps et température d'incubation) ont été effectuées selon le protocole préconisé par les experts de l'Institut Pasteur d'Algérie (Lebres et Mouffok, 1999). Ainsi que sur les dispositions microbiologiques indiquées dans le Journal Officiel de la République Algérienne (J.O.R.A. N°44/2014). Avec, parfois, de légères modifications dans les protocoles en fonction de la disposition de produits ainsi que diverses conditions de travail.

I.2.2.1. Préparation des dilutions

Introduire et diluer aseptiquement 25 g de l'échantillon Lait infantile qui constitue l'unité d'analyse dans un flacon stérile, contenant au préalable 225 ml de dilution EP (Eau Peptonée), qui va permettre de revitaliser les micro-organismes présents. Afin d'obtenir une solution mère (SM) à la dilution 10^{-1} par rapport au produit de départ. Par la suite 1ml de la solution mère a été prélevé aseptiquement à l'aide d'une micropipette avec des embouts stérile et introduit dans un tube à essai contenant 09 ml d'eau peptonée stérile. On obtient ainsi la dilution 10^{-2} et on répète la même procédure jusqu'à la cinquième dilution.

Figure 07: Préparation de la solution mère et des dilutions décimales (Annexe 02).

I.2.2.2. Les germes recherchés pour cette denrée et leurs dénombrements

Notre analyse microbiologique se base sur le dénombrement des groupes microbiens recherchés dans le lait infantile et qui sont:

- Les bactéries témoins de contamination fécale: Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM), les coliformes totaux et fécaux, les spores sulfite- réductrices et les Streptocoques fécaux.
- Flore pathogène: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. et *Cronobacter* sp.

I.2.2.2.1. Les bactéries témoins de contamination fécale

I.2.2.2.1.1. Recherche et dénombrement de FTAM

But: Le dénombrement de ces germes reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et la qualité de lait infantile dans le contrôle microbiologique.

Mode opératoire

-A partir de dilution 10^{-2} et 10^{-3} préparer lors de l'échantillonnage citer plus haut, prendre aseptiquement 1 ml de chaque dilution et le mettre dans une boîte de Petri vide préparée à cet usage.

-Compléter ensuite avec environ 15ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 46°C . Faire ensuite des mouvements circulaires et de va- et- vient en forme de «∞» pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose et Laisser solidifier sur paillasse. La boîte sera incubée à 30°C pendant 72h.

- Il est indispensable d'employer des pipettes stériles et changées pour chaque dilution.

Incubation: Les boîtes ont été incubées couvercle en bas à 30°C pendant 72h avec:

-Première lecture à 24 heures.

-Deuxième lecture à 48 heures.

-Troisième lecture à 72 heures.

Dénombrement: Il s'agit de compter toute les colonies ayant poussé sur les boîtes tenant compte des facteurs suivants:

-Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonie.

-Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

-Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

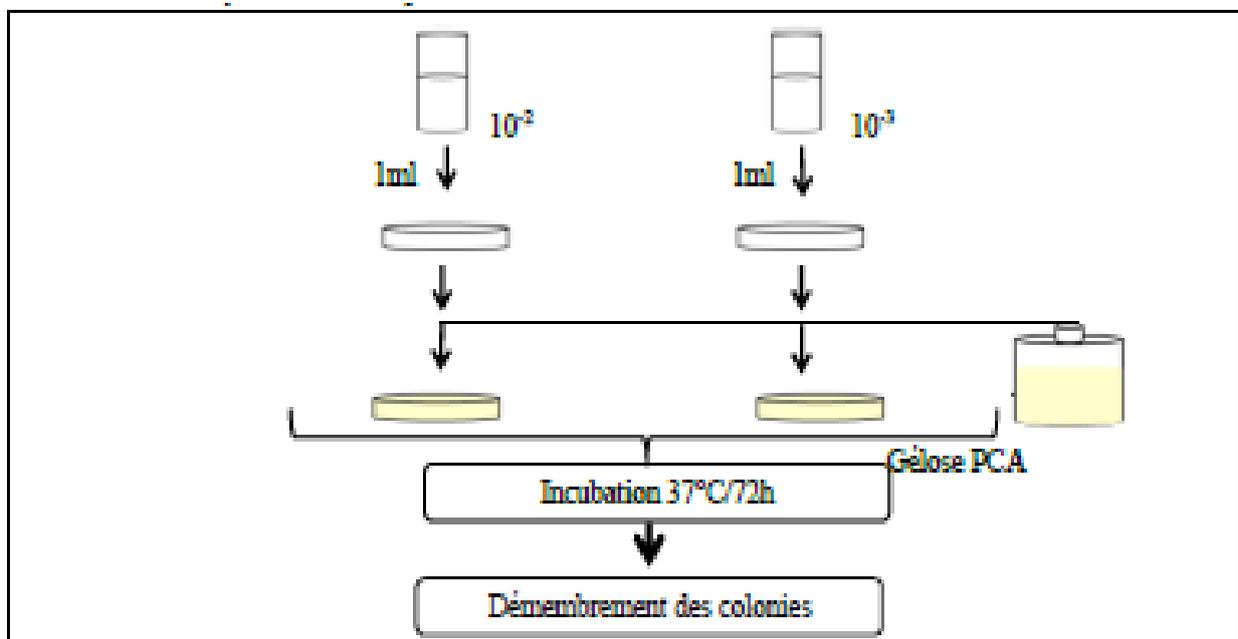


Figure 08: Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile sur PCA.

I.2.2.1.2. Recherche et dénombrement Les coliformes totaux et fécaux

But: Le dénombrement des coliformes permet la mise en évidence d'une population fécale et donc la possibilité d'une contamination par l'entérobactérie pathogène.

Mode opératoire

Pour les 04 premiers échantillons:

- Pris des boites de Petri vide préparées à cet usage et numérotée pour chaque dilution.
- A partir des dilutions décimales (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) porter aseptiquement 1 ml dans les boites de pétri.
- Verser ensuite avec environ 15ml de gélose VRBG fondue puis refroidie a 45°C .
- Faire ensuite des mouvements circulaire et va et vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélange a la gélose utilisé et laisser solidifier sur paillasse.

Pour les 02 derniers échantillons:

- Pris des boites de Petri couler préalablement par 15 ml de la gélose VRBG et numérotée pour chaque dilution.
- A partir des dilutions décimales (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) porter aseptiquement 1 ml dans les boites de Petri.
- Etaler à l'aide d'un râteau sur la surface de la gélose. Puis, laisser sécher. Cette opération doit être effectuée en double pour chaque dilution car: La première série de boites sera réservée à la recherche des coliformes totaux et la deuxième série de boites sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.

Incubation: Les boites seront incubée couvercle en bas pendant 24heures à 48 heures à:

- 37°C pour les boites de coliformes totaux.
- 44°C pour les boites de coliformes fécaux.

Dénombrement

- Ne dénombrer que les boites contenant entre 30 et 300 colonie.
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.
- Il est impossible de trouver plus de coliformes fécaux que des coliformes totaux.

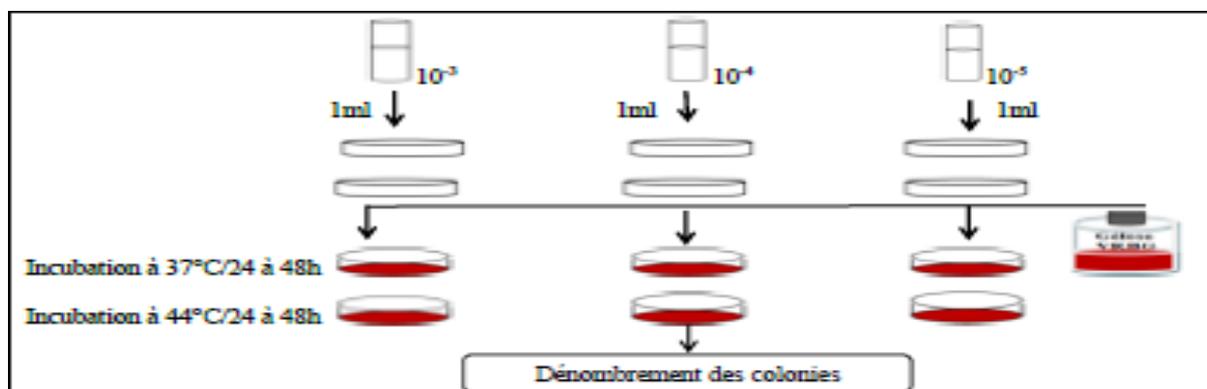


Figure 09: Protocole de recherche et de dénombrement des coliformes sur gélose VRBG.

I.2.2.2.1.2.1. Teste de Kovacs (*E. coli*)

Pour les boîtes de coliformes fécaux positive:

- Sélectionner une colonie typique de chaque boîte de coliformes fécaux.
- Ensemencer aseptique dans un tube à essais contenant 9 ml de l'eau peptonée exempte d'indole (EPEI) stérile. --Incuber à 44°C pendant 24h. Après l'incubation, ajouter quelques gouttes de réactif de Kovacs à la surface de la suspension avec un peu d'agitation.

Lecteur: Apparition d'un halo rouge à la surface: Présence d'*E. coli*.

I.2.2.2.1.3. Recherche et dénombrement des spores sulfito- réductrices

But: Les anaérobies sulfito- réductrices ou (leurs spores), bactéries commensales de l'intestin ou saprophytes du sol, sont dénombrées afin de rechercher une contamination fécale.

Mode opératoire

Les tubes contenant la solution mère (10^{-1}) et la dilution 10^{-2} seront soumis:

- D'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 mn au bain Marie.
- Puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet (choc thermique), pour éliminer les formes végétatives.
- Les tubes de dilution (10^{-1} et 10^{-2}) compléter par la gélose de viande foie VF (avec les deux réactifs sulfites de sodium et alun de fer) volume par volume.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 mn.

Incubation: Les tubes ont été incubées à 30°C pendant 72h avec:

- Première lecture à 24 heures.
- Deuxième lecture à 48 heures
- Troisième lecture à 72 heures.

Dénombrement

- Les spores se développent sous forme de grosses colonies noires.
- Chaque colonie noire est issue d'une spore.
- On détermine le nombre de spores dans le produit.

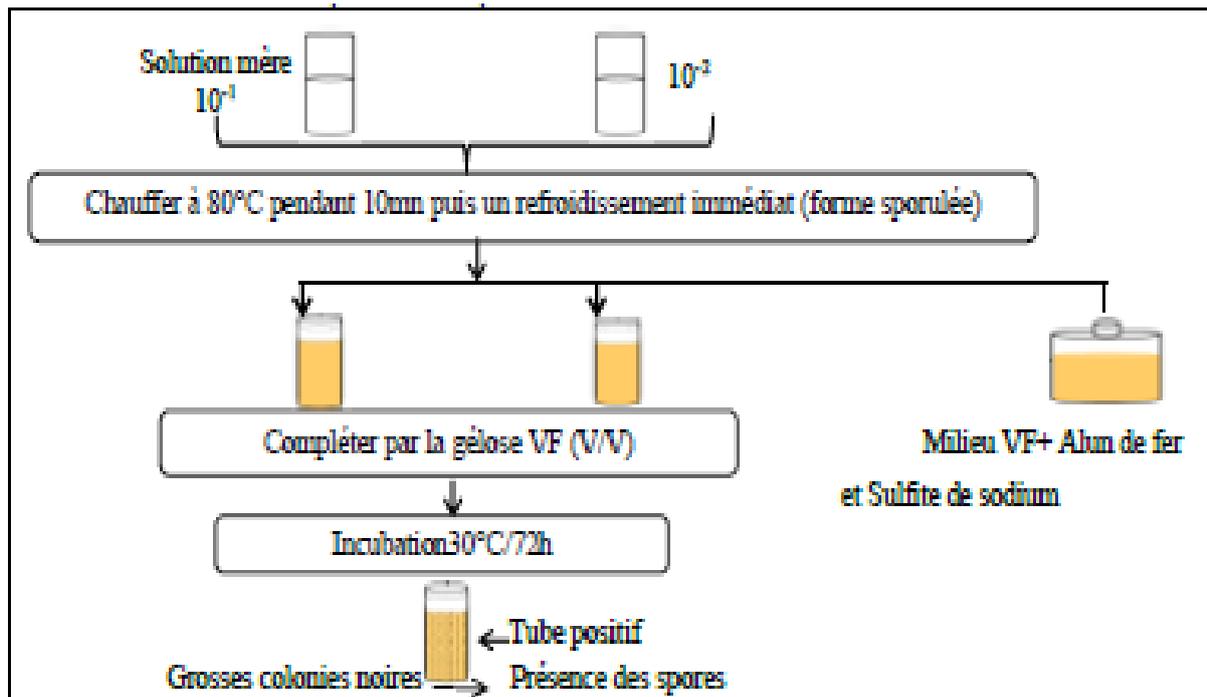


Figure 10: Protocole de recherche des spores sulfito- réductrices.

1.2.2.2.1.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux (Entérocoque de groupe D selon la classification de Lancefield)

But: Les entérocoques sont des témoins de contamination fécale animale ancienne.

Mode opératoire

Dans le lait et les produits laitiers, les streptocoques du groupe D (classification de Lancefield) sont recherchés et dénombrés en milieu liquide par la technique NPP (Nombre le Plus Probable). La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutivement à savoir:

- Test de présomption: Se fait sur milieu de Rothe S/C.
- Test de confirmation: Se fait sur milieu Eva Lytski.

a. Test de présomption

Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe S/C à raison de trois tubes par dilution. A partir des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} , porter aseptiquement 1ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée comme l'indique la figure 11. Bien mélanger l'inoculum dans le milieu.

Incubation: Elle se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture: Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien.

Remarque: Aucun dénombrement ne se fait à ce stade, les tubes positifs feront l'objet d'un repiquage.

b. Test de confirmation

Chaque tube de Rothe trouvé positif lors du test de présomption fera l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans un tube contenant le milieu Eva Lytski. Bien mélanger l'inoculum dans le milieu.

Incubation: Elle se fait à 37°C, pendant 24 h.

Lecture: Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois un trouble et une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube. La lecture finale du nombre de streptocoques fécaux s'effectue par le NPP selon la table de Mac Grady (Annexe 02), en tenant compte des tubes Eva Lytski positifs.

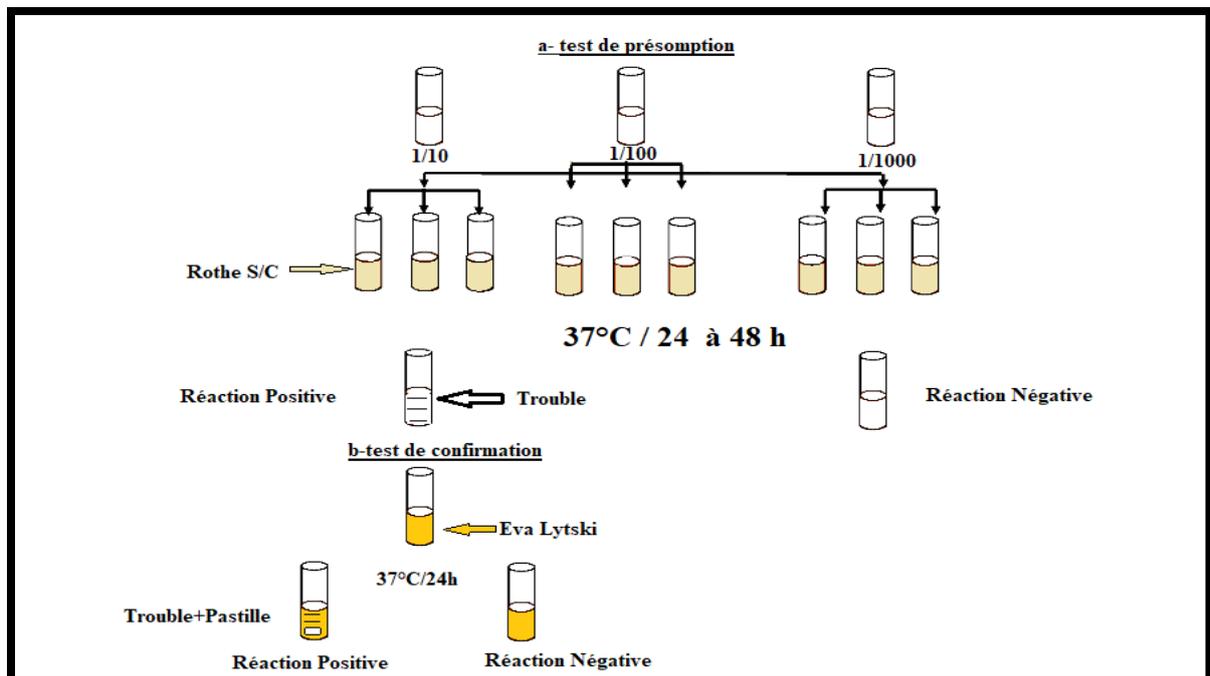


Figure 11: Protocole de recherche des streptocoques fécaux.

I.2.2.2.2. Flore pathogène

I.2.2.2.2.1. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

But: *Staphylococcus aureus* est une bactérie à l'origine de nombreuses infections ou intoxications alimentaires.

Mode opératoire

a. Enrichissement sélectif

On ensemence aseptiquement 1ml de la dilution 10^{-2} et 10^{-3} dans un tube contenant 9ml de milieu Giolitti Cantonii (GC). Incubation à 37°C pendant 24 h.

Lecteur: Les tubes ayant viré au noir sont considérés comme positif.

b. Ensemencement

0.1ml du contenu du tube positif ayant noirci est étaler sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose Chapman. Incubation à 30°C pendant 24h.

Lecteur: La présence des colonies de taille moyenne lisse, brillant, pigmentées en jaune et pourvues d'une catalase et d'une coagulase indique la possibilité de présence de *Staphylococcus aureus*.

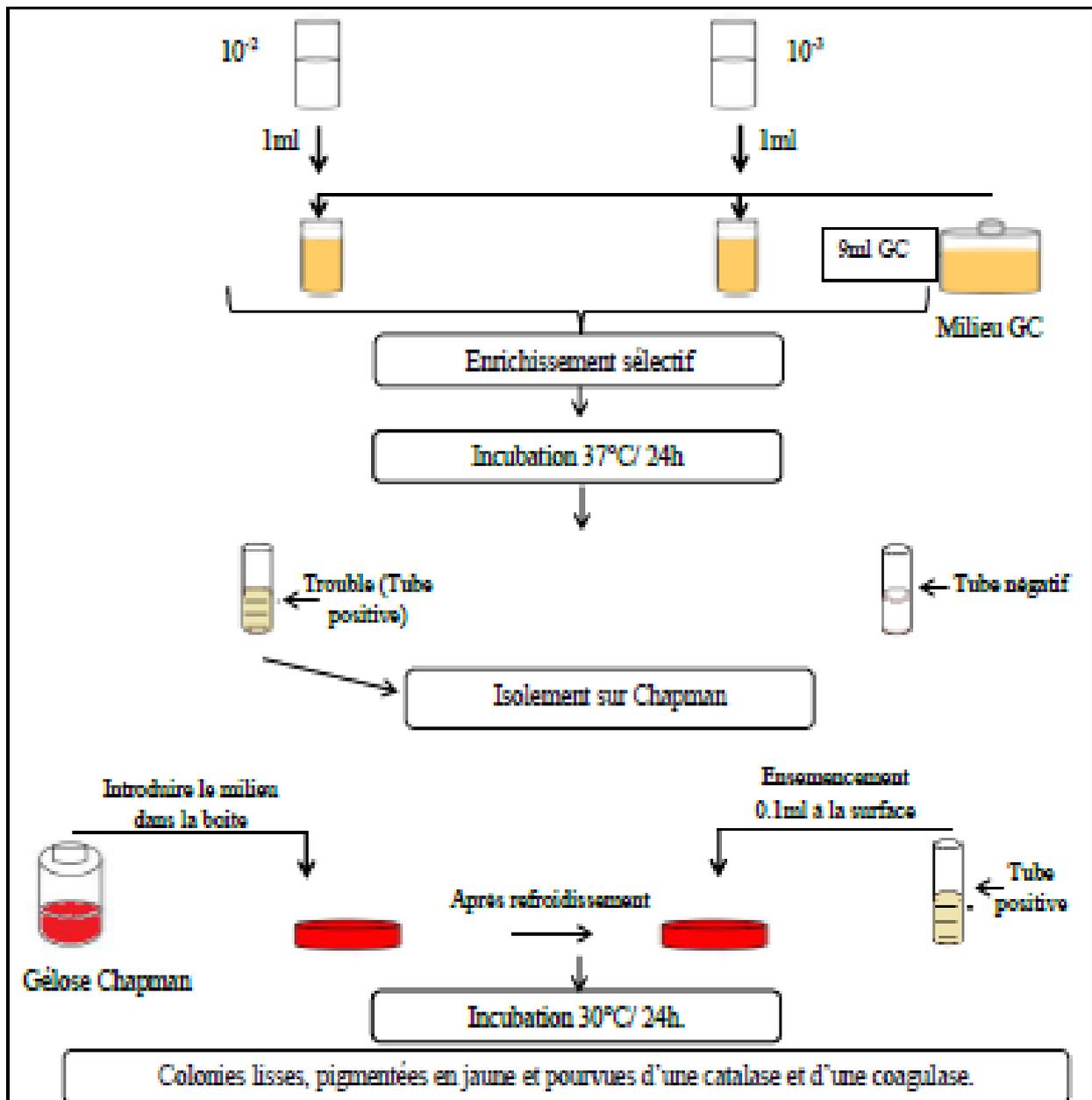


Figure 12: Protocole de recherche et de dénombrement des *Staphylococcus aureus*.

I.2.2.2.2. Recherche et dénombrement de *Salmonella* spp.

But: Bactérie pouvant être à l'origine de toxi- infection alimentaire très grave, elles sont présentes dans le tube digestif des animaux et de l'homme.

Mode opératoire

A. Méthode de routine (AFNOR NF 08.052)

a. Pré-enrichissement non sélectif

Prélever 25g de la poudre du lait dans un flacon stérile contenant 225ml d'eau peptonée (10⁻¹). Broyer cette suspension dans un agitateur. Incubation à 37°C pendant 18 h.

b. Enrichissement en milieux sélectifs liquides

L'enrichissement doit s'effectuer sur deux milieux sélectifs différents à savoir:

-Le milieu de Rappaport Vassiliadis (R-V) réparti à raison de 10 ml par tube.

-Le milieu de Sélénite- cystéiné (SFB) réparti à raison de 100 ml par flacon.

L'enrichissement proprement dit, se fait donc à partir du milieu de pré-enrichissement de la façon suivant:

-0.1 ml en double pour les tubes R-V.

-10 ml en double pour les flacons de SFB.

Incubation

-Le premier tube de R-V sera incubé à 37°C pendant 24h.

-Le deuxième tube de R-V sera incubé à 42°C pendant 24h.

-Le premier flacon de SFB sera incubé à 37°C pendant 24h.

-Le deuxième flacon de SFB sera incubé à 42°C pendant 24h.

c. Isolement

Chaque tube et chaque flacon fera l'objet d'un isolement sur deux milieux gélosés différents à savoir:

-Le milieu gélosé Hektoen.

-Le milieu gélosé bilié lactosé au vert brillant et au rouge de phénol (BLVBRP).

Incubation: Toutes les boîtes ainsiensemencées seront incubées à 37°C pendant 24h.

Lecture des boîtes et identification

Les *Salmonella* se présentent de la façon suivant:

-Colonies roses entourées d'une zone rouge sur gélose BLVBRP.

-Colonies le plus souvent gris bleu à centre noir sur gélose Hektoen.

d. Identification morphologique et biochimiques des souches *Salmonella* sp.

Des colonies caractéristiques et distinctes feront l'objet d'une identification morphologique et biochimique qui se déroule comme suit:

-Etat frais (bacilles, mobilité).

-Coloration de Gram (bacilles Gram négatifs).

Les souches suspectées, ayant comme appartenance à la *salmonella* sp. répondant aux caractéristiques susmentionnées, sont identifiées par des galeries API 20^E.

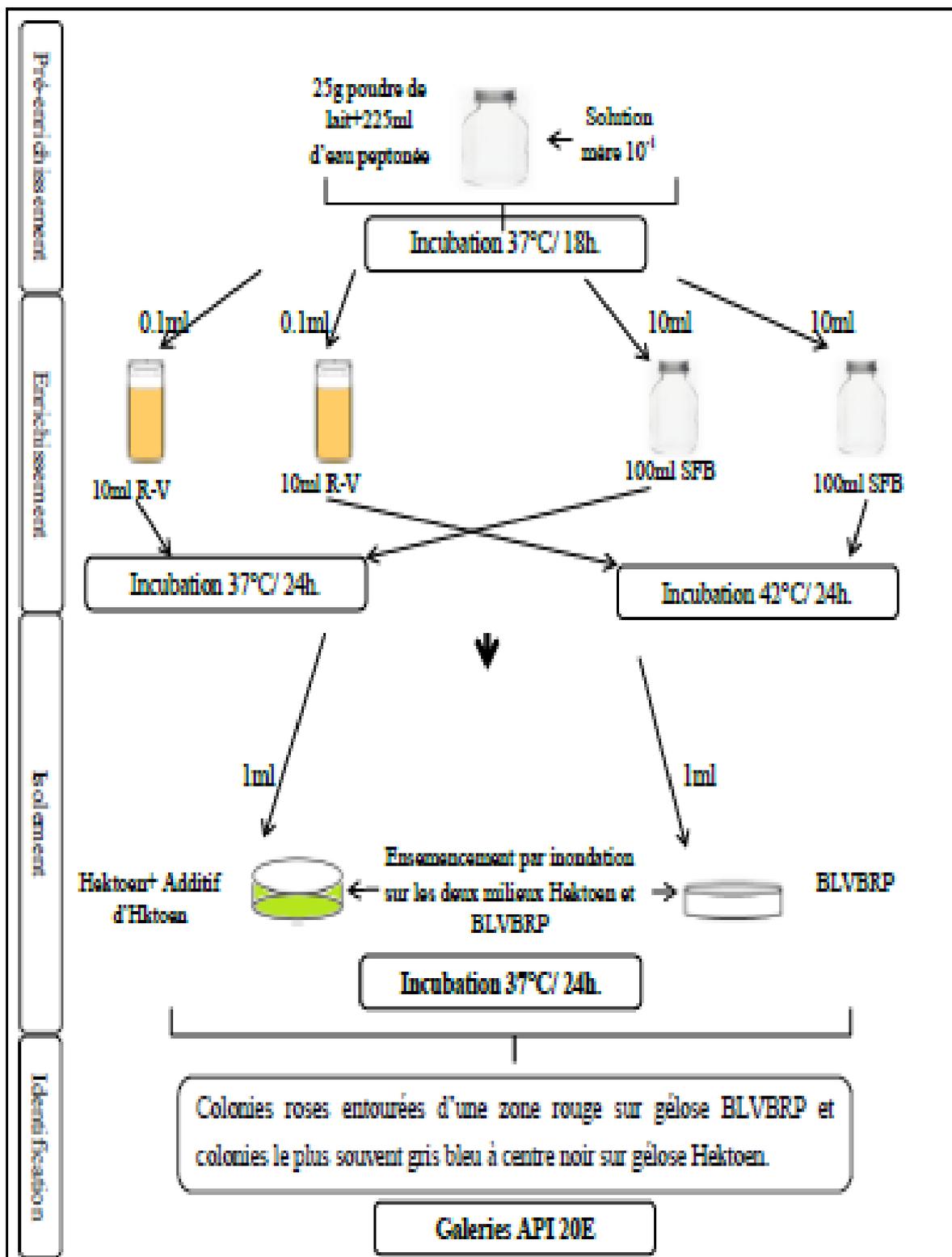


Figure 13: Protocole de recherche et de dénombrement de *Salmonella* sp. (AFNOR NF 08.052).

**B. Méthode horizontale pour la recherche de *Salmonella* sp. (J.O.R.A. N°44/2017)
(ISO 6579/ 2002)**

a. Pré-enrichissement non sélectif

Prélever 25g de la poudre du lait dans un flacon stérile contenant 225ml d'eau peptonée (10^{-1}). Broyer cette suspension dans un agitateur. Incubation à $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$.

b. Enrichissement sélectifs sur trois bouillons sélectifs

Ensemencement de 1 ml de cultures obtenues dans 03 bouillons sélectifs:

-10 ml de SFB (Bouillon au sélénite-cystine), puis incubation pendant 24 heures à 43 °C (J.O.R.A. N°44/ 2017).

-10 ml de BVM (Bouillon au Vert de Malachite et au chlorure de magnésium), puis incubation pendant 24 heures à 43 °C (J.O.R.A. N°44/ 2017).

-10 ml de BMK (Bouillon Muller Kaufman), puis incubation pendant 24 heures à 43 °C (J.O.R.A. N°44/ 2017).

Lecteur: La lecture s'est faite par évaluation visuelle des troubles de croissance, contre un tube témoin négatif.

c. Isolement

A partir des cultures obtenues (tubes positifs), ensemencement par inondation environ 1 ml du milieu sélectif solide Hektoen (avec l'additif), puis incubation à 41 °C pendant 24 heures (J.O.R.A. N°44/ 2017).

Lecteur: Apparition des colonies lisses et de couleurs bleues-verdâtres ou grises-bleues au centre noire.

d. Identification biochimiques des souches *Salmonella* sp.

Les souches suspectées, ayant comme appartenance à la *salmonella* sp. répondant aux caractéristiques susmentionnées, sont identifiées par des galeries API 20^E.

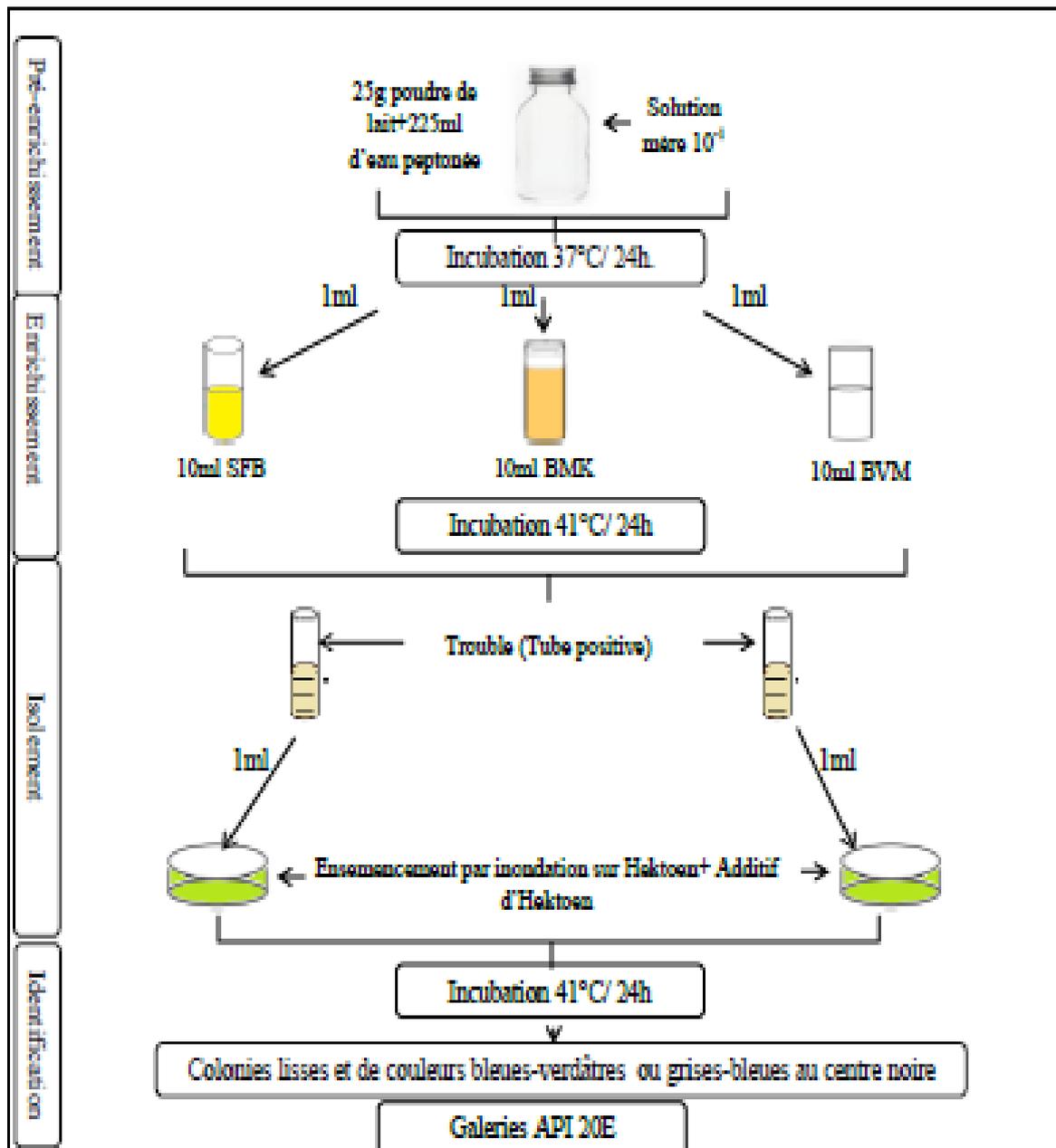


Figure 14: Protocole de recherche et de dénombrement de *Salmonella* sp. (J.O.R.A. N°44/2017) (ISO 6579/2002).

I.2.2.2.3. Recherche et dénombrement présomptif des espèces *Cronobacter* sp.

But: bactéries considérées comme des pathogènes émergents opportunistes très graves car elles ont été impliquées dans des épidémies d'infections néonatales graves.

Méthode de recherche et de dénombrement ISO/ TS 22964 (Proudy, 2009)

L'Organisation internationale de normalisation (ISO, 2006 ISO/TS 22964) a élaboré des protocoles techniques standard pour l'isolement et la détection des espèces de *Cronobacter* sp. à partir des laits infantiles en poudre:

a. Préparation de l'échantillon (Pré-enrichissement)

Prise d'essai de 10g du produit testé (lait en poudre), à diluer (10^{-1}) dans 90 ml d'eau peptonée. Incubation à 37°C pendant 18±2h.

b. Enrichissement sélectif

Transfert de 1 ml de la culture en eau peptonée dans un tube à essai contenant 10 ml de mLST (10^{-2}). Incubation à 44°C pendant 24 ±2h.

c. Isolement sélectif

Étalement à l'aide d'un ose calibré, de 10 µl de culture en mLST sur le milieu ESIA. Incubation à 44°C pendant 24 ±2h.

Lecture: Colonies typiques (bleues sur milieu chromogène ESIA) considéré comme *Cronobacter* spp.

d. Conformation

Conformation par détection d'un pigment jaune: sélection de trois colonies typiques de boîte ESIA et isolement chacune d'elle sur TSA. Incubation à 25°C pendant 48± 4h.

Conformation par caractérisation biochimique: sélection d'une colonie jaune par boîte TSA et caractérisation sur galerie biochimique (ex: API 20E, API 32 ou Biolog).

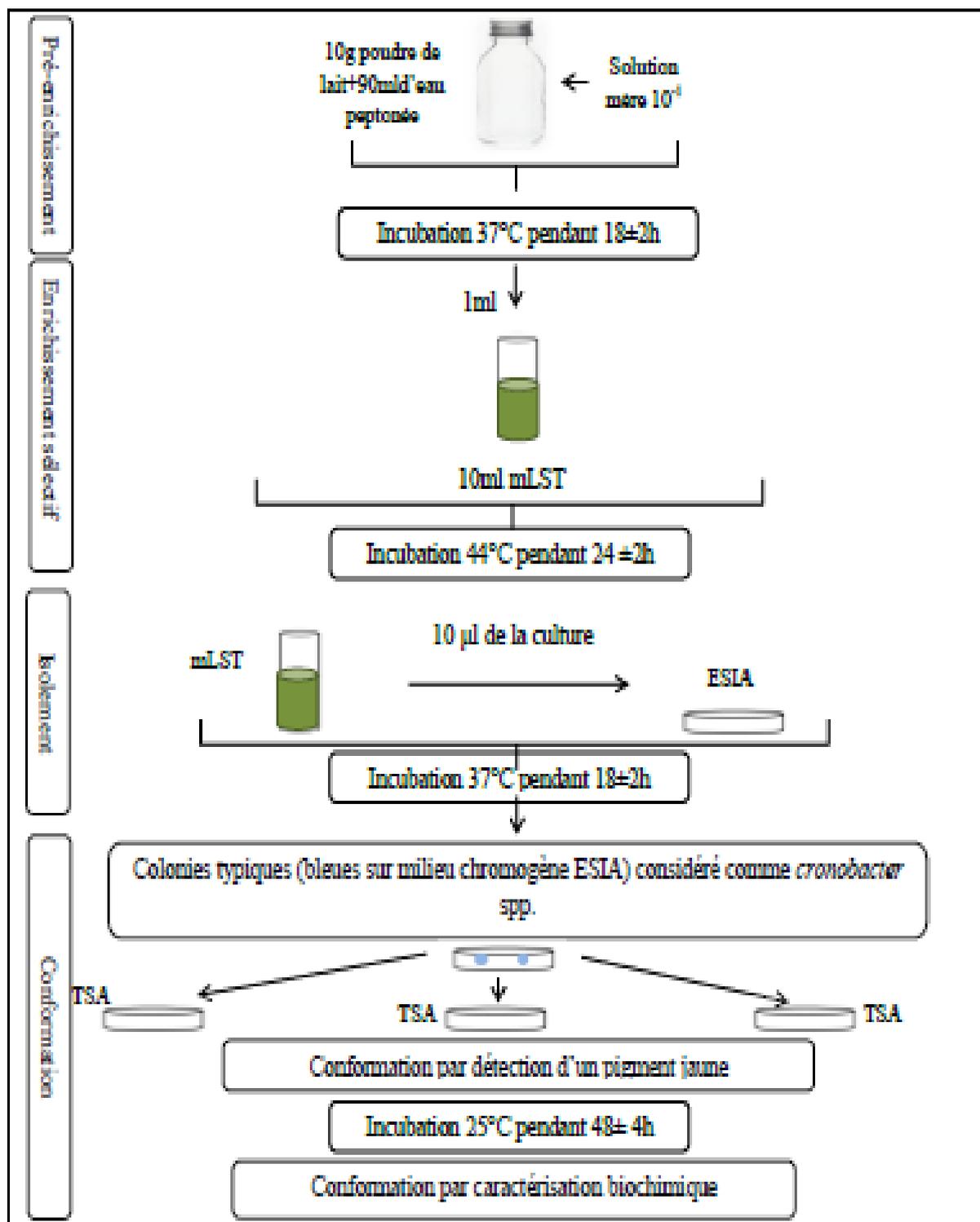


Figure 15: Protocole de recherche et de dénombrement de *Cronobacter* sp. (ISO/ TS 22964) (Proudy, 2009).

II.1 Résultats

II.1.1 Résultats obtenues des analyses physico-chimiques de «Poudre de Lait infantile»

Les résultats des analyses physicochimiques, effectués sur les 06 échantillons de la poudre du lait infantile sont représentés dans le tableau 08:

Tableau 08: Résultats des analyses physico- chimiques.

Ech*	Goût/ Odeur	Densité g/cm ³	pH	Acidité (°D)	Viscosité m Pa.s	Stabilité	Conductivité µs/cm	EST g/l
E1	Normal	1,03	6,66	17,62	2,5	+	1827	87
E2	Normal	1,02	6,42	18,5	2,8	+	1788	79
E3	Normal	1,04	6,75	18	2,9	+	1794	80
E4	Normal	1,03	6,52	19,2	2,6	+	1547	80,16
E5	Normal	1,05	6,81	17,8	2,5	+	2610	86
E6	Normal	1,02	6,32	18,7	2,7	+	1741	85
M	Normal	1,03	6,58	18,30	2,6	+	1884,5	82,86
N.N	ND	1,030/ 1,034	6,6/ 6,8	15/18	ND	ND	ND	ND

E: échantillon, Ech: échantillon, pH: potentiel d'Hydrogène, °D: degré Dornic, g/cm³: gramme/centimètre cube, mPa.s: mili pascal, S: Second, EST: Extrait Sec Total, g/l: gramme/litre, µs/cm: microsiemens/centimètre, (+): positif, M: moyenne, N.N: Norme Nationale.

II.1.1.1. Goût et odeur

Odeur peu accentuée, saveur légèrement sucrée.

II.1.1.2. Densité

Les 06 échantillons analysés de la poudre du lait présentent des valeurs de densité entre: 1,02 g/cm³ et 1,05 g/cm³ avec une moyenne de 1,03 g/cm³ (figure 16).

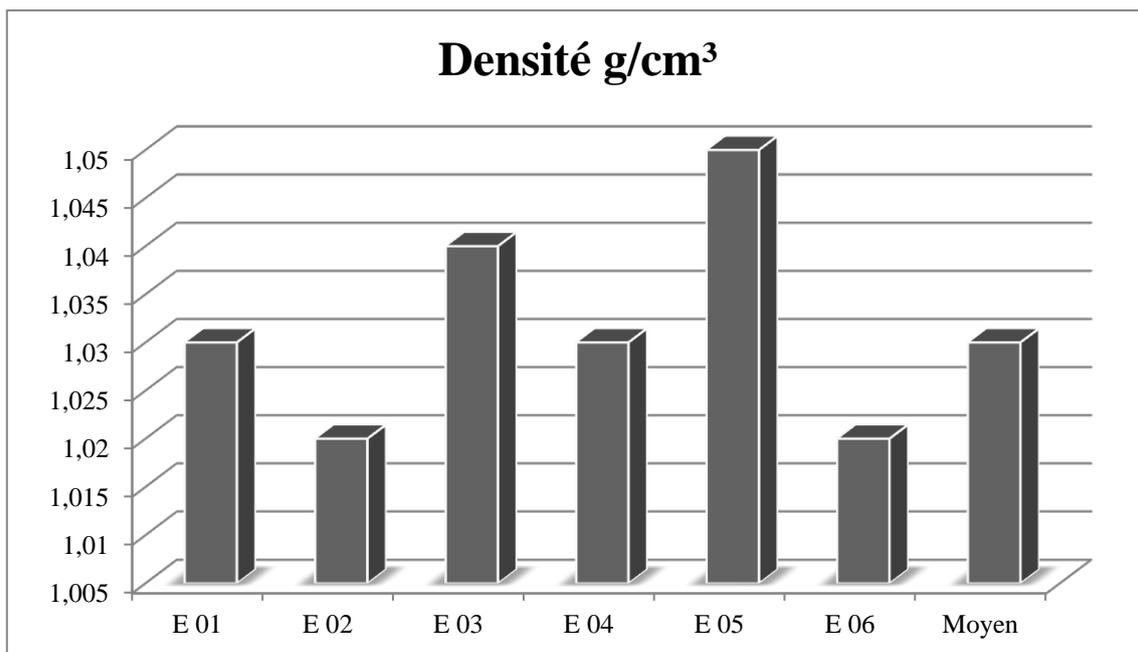


Figure 16: Histogramme représentatif des variations de la densité.

II.1.1.3. pH

Les résultats obtenus montrent que les 06 échantillons analysés de la poudre du lait ont un pH légèrement acide. Le pH est compris entre: 6,32 (min) et 6,81 (max) avec une moyenne de 6,58 (figure 17).

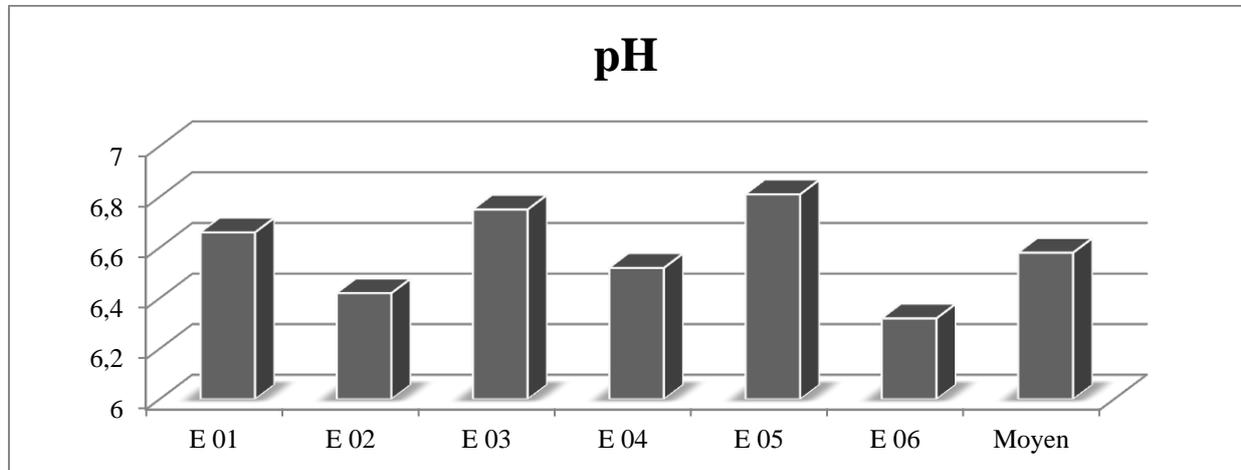


Figure 17: Histogramme représentatif des variations du pH.

II.1.1.4. Acidité titrable

Les 06 échantillons analysés de la poudre du lait présentent une acidité en degré Dornic cerné entre 17,62 °D et 19,2 °D avec une moyenne de 18,30°D (figure 18).

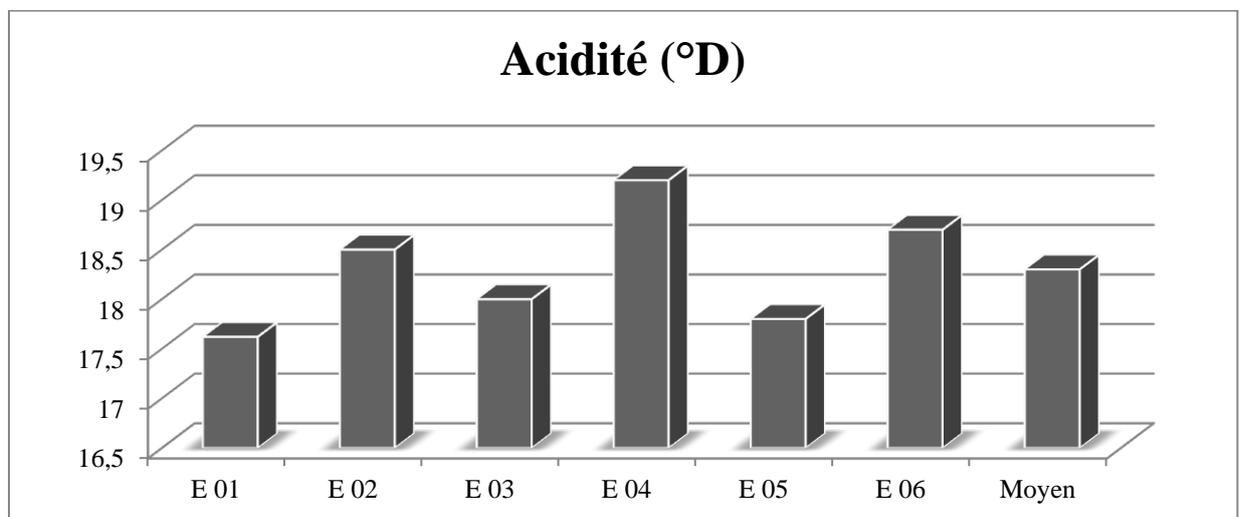


Figure 18: Histogramme représentatif des variations de l'acidité.

II.1.1.5. Viscosité

La viscosité des 06 échantillons analysés est comprise entre: 2,5 mPa.s et 2,9 mPa.s avec une moyenne de 2,6 mPa.s (figure 19).

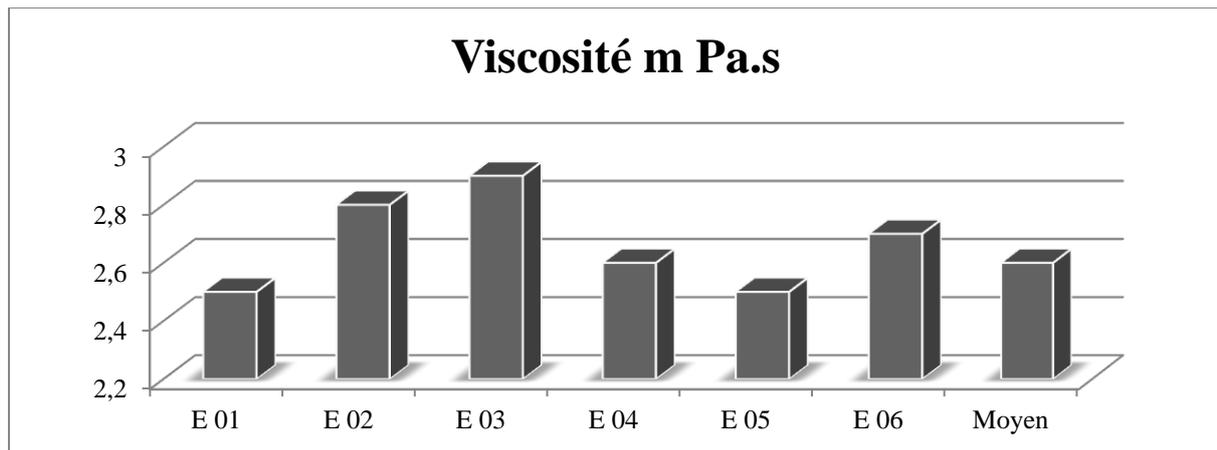


Figure 19: Histogramme représentatif des variations de la viscosité.

II.1.1.6. Stabilité

Les résultats du test de la stabilité obtenus pour tous les échantillons de la poudre du lait analysée sont positifs.

II.1.1.7. Conductivité électrique

La conductivité des 06 échantillons analysés de la poudre du lait est comprise entre: 1547 $\mu\text{s/cm}$ et 2610 $\mu\text{s/cm}$ avec une moyenne de 1884,5 $\mu\text{s/cm}$ (figure 20).

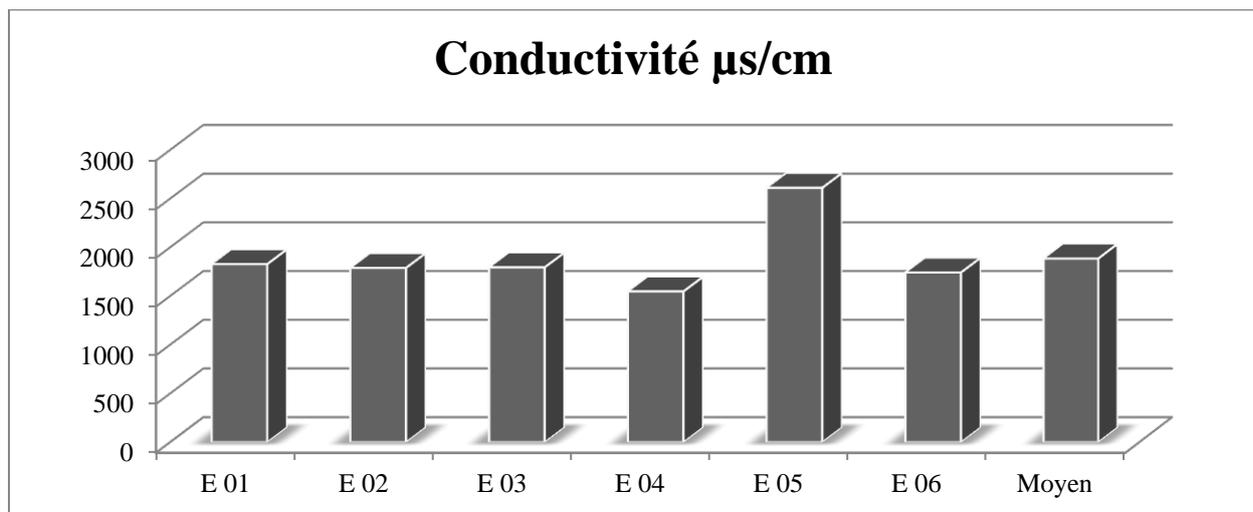


Figure 20: Histogramme représentatif des variations de la conductivité.

II.1.1.8. Taux de l'eau et des solides totaux

La teneur en extrait sec total des différents échantillons analysés de la poudre du lait est cernée entre: 79 g/l et 87 g/l avec une moyenne de 82.86 g/l (figure 21).

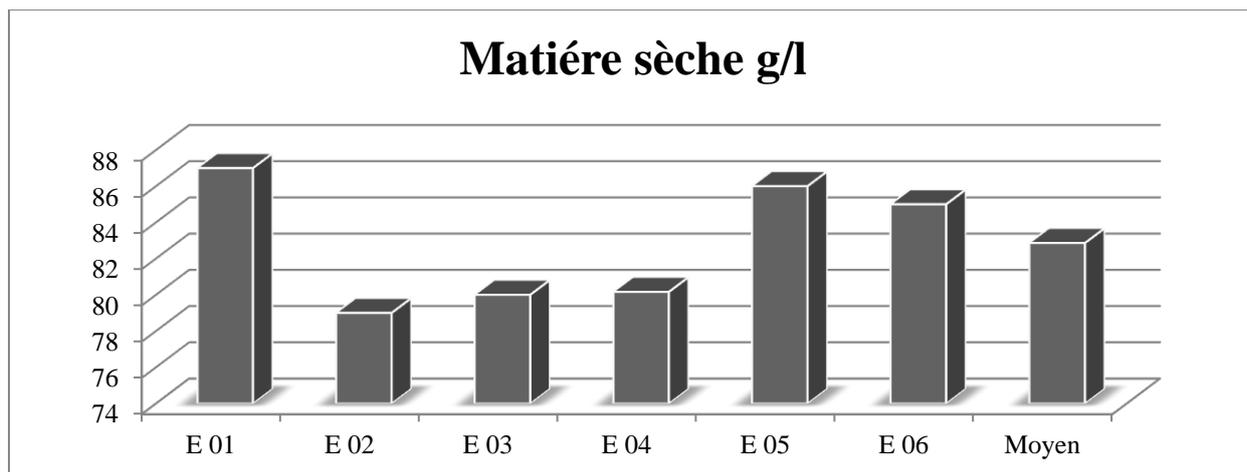


Figure 21: Histogramme représentatif des variations de l'EST.

II.1.2. Résultats obtenues de l'analyse microbiologique du de «Poudre de Lait infantile»:

Les résultats des analyses microbiologiques, effectués sur les 06 échantillons de la poudre du lait infantile sont représentés dans le tableau 09:

Tableau 09: Résultats du contrôle de la qualité microbiologique.

Echantillon Germes recherchés	Résultats d'analyses						M
	1	2	3	4	5	6	
FTAM UFC/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
CT UFC/g	16,7× 10 ⁴	(-)	(-)	(-)	39× 10 ³	(-)	10,3 x 10 ⁴
CF UFC/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>E. coli</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
CSR UFC/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
SF UFC/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>S. aureus</i> UFC/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Salmonelles (Méth 01) UFC/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Salmonelles (Méth 02) UFC/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Cronobacter sakazakii</i> UFC/g	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

(-): Absence, UFC/ g: Unité Formant Colonie par gramme, FTAM: Flore totale aérobie mésophile, CT: Coliformes totaux, CF: Coliformes fécaux, *E. coli*: *Escherichia coli*, SSR: Spores sulfito-réductrices, SF: Streptocoques fécaux, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*, Méth: Méthode.

Tableau 10: Illustre les normes utilisées pour l'interprétation des résultats.

Flores microbiennes	Les normes	
	Journal Officiel N°35 mai 1998 (J.O.R.A 35/ 1998)	Journal Officiel N°39 mai 2017 (J.O.R.A 39/ 2017)
FTAM	5×10^4 UFC/g à 30°C	ND
C	5 UFC/g	ND
<i>E. coli</i>	ND	ND
CSR	Abs à 46°C	ND
SF	ND	ND
<i>S. aureus</i>	Abs	10 UFC/g
<i>Salmonella</i> spp.	Abs dans 25g	Abs dans 25g
<i>Cronobacter</i> sp.	ND	ND

UFC/g: Unité Formant Colonie par gramme, FTAM: Flore totale aérobie mésophile, C: Coliformes, *E. coli*: *Escherichia coli*, CSR: *Clostridium* sulfito-réductrices, SF: Streptocoques fécaux, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*, ND: non déterminé, Abs: Absence

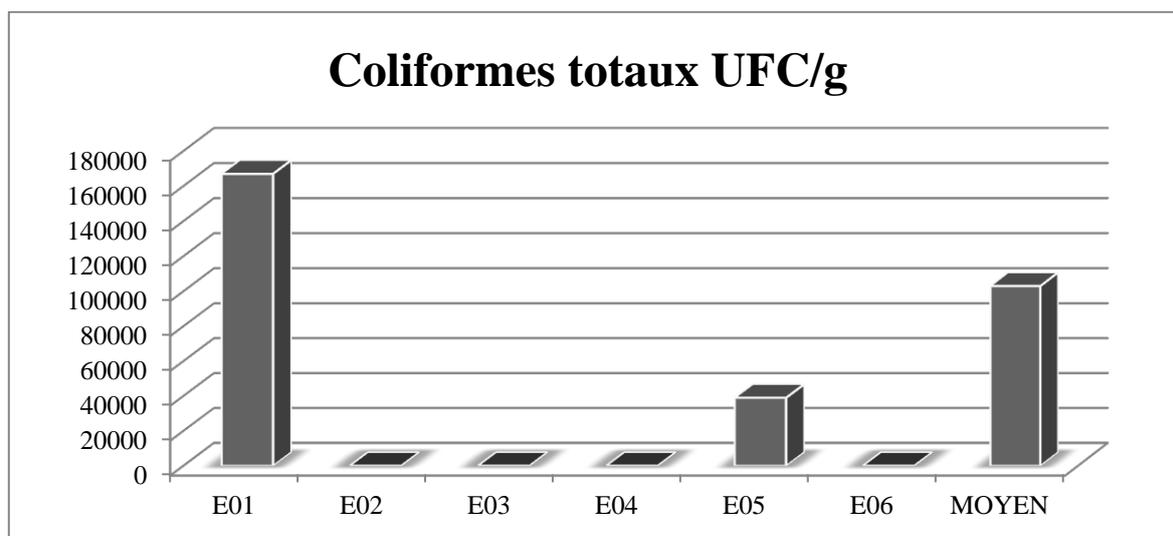
II.1.2.1. Recherche et dénombrement de la Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM)

Le dénombrement de la FTAM a montré que la plupart des échantillons analysés révèlent l'absence de FTAM.

II.1.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Le dénombrement de coliformes totaux et fécaux a montré que la plupart des échantillons analysés révèlent l'absence de coliformes totaux et fécaux. Cependant, deux échantillons (Ech 01 et Ech 05) contiennent une charge variable de coliformes totaux de $16,7 \times 10^4$ et 39×10^3 UFC/g respectivement avec une moyenne de $10,3 \times 10^4$ UFC/g pour l'ensemble des échantillons (figure 22).

Figure 23: Deux photos illustrent les résultats de recherche des coliformes totaux 37°C pour l'échantillon 01 et 05 (Annexe 02).

**Figure 22:** Histogramme représentatif des variations de coliformes totaux.

Tous les échantillons étaient propres et ne présentent aucune contamination par les *E. coli* considérés comme témoins de contamination fécale.

Tableau 11: Illustre les résultats de tests de Kovacs (*E. coli*) avec témoin.

Echantillon	1(10 ⁻⁴)	2(10 ⁻³)
Résultats		

II.1.2.3. Recherche et dénombrement des spores sulfito- réductrices

Nous avons constaté que la totalité des échantillons analysés ne présentent aucun résultat positif de présence de spores.

Tableau 12: Illustre les résultats de recherche des spores sulfito- réductrices (Annexe 02).

II.1.2.4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux (SF)

Nous avons constaté que la totalité des échantillons analysés ne présentent aucun résultat positif de présence des streptocoques fécaux (SF).

II.1.2.5. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

La recherche de *Staphylococcus aureus* a été négative, pour tous les échantillons.

II.1.2.6. Recherche et dénombrement des *Salmoella* sp.

Méthode 01: Méthode de routine (AFNOR NF 08.052)

Tableau 13: Estimation visuelle des troubles (de croissance bactérienne) sur deux bouillons sélectifs pour Salmonelles: SFB, R-V.

E/Bouillon	SFB*	R-V*
E1	00	00
E2	00	00
E3	00	00
E4	00	00
E5	++	00
E6	00	00

E: échantillon, SFB: Bouillon sélénite- cystéine, R-V: Rappaport Vassiliadis.
(00) Aucune croissance, (+) Croissance modérée, (+ +) croissance élevée, (+ + +) croissance très élevée.

D'après nos résultats (illustrant dans le tableau 13), bouillon cystéine au sélénite est le meilleur pour la détection de *Salmonella*, par rapport au bouillon Rappaport Vassiliadis.

Identification des *Salmonella* sp. par repiquage sur Hektoen

Aucun résultat positif de présence de *Salmonella* sp. n'a été trouvé pour l'isolement sur Hektoen et BLVBRP à partir de bouillon SFB et R-V.

Méthode 02: Optimisation de la méthode horizontale pour dénombrement des *Salmonella* sp. (ISO 6579/ 2002)

Tableau 14: Estimation visuelle des troubles (de croissance bactérienne) sur les trois bouillons sélectifs pour Salmonelles: SFB, BVM et BMK.

E/Bouillon	SFB*	BVM*	BMK*
E1	00	++	00
E2	00	00	00
E3	00	00	00
E4	00	00	00
E5	++	++	00
E6	00	00	00

E: échantillon, **SFB:** Bouillon sélénite- cystéine, **BVM:** Bouillon au Vert de malachite, **BMK:** Bouillon Muller Kaufman, **(00)** Aucune croissance, **(+)** Croissance modérée, **(+ +)** croissance élevée, **(+ + +)** croissance très élevée.

D'après nos résultats (illustrant dans le tableau 18), le bouillon au vert de malachite est le meilleur pour la détection de *Salmonella*, par rapport aux bouillons: bouillon à la cystéine au sélénite et le bouillon Muller kaufman en l'occurrence.

Identification des *Salmonella* sp. par repiquage sur Hektoen:

Aucun résultat positif n'a révélé la présence de *Salmonella* sp. après l'isolement sur Hektoen à partir des bouillon: SFB et BVM et BMK.

II.1.2.7. Recherche et dénombrement de *Cronobacter* sp.:

Aucun résultat positif de présence de *Cronobacter* sp. n'a été trouvé pour l'ensemble des échantillons analysés.

II.2. Discussion

II.2.1. Discussion des analyses physico-chimiques

Au sens des dispositions du règlement technique, on entend par « nourrissons » les enfants âgés de moins de douze mois (J.O.R.A. N: 49/2012). Les résultats des tests physicochimiques, ont été confrontés (par extrapolation) aux normes nationales, qui sont en vigueur pour les laits en poudre laits sec et laits crus. Il s'agit essentiellement des comparaisons aux textes législatifs suivants: L'arrêté interministériel du 27 octobre 1993 modifiant et complétant l'arrêté du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation (J.O.R.A. N°: 69/1993): (Goût et odeur franc du lait et de couleur blanche. Fixant les pH entre 6,6 et 6,8; Acidité titrable cernée entre 15 et 18°D; densité 1,030- 1,034g/ cm³; les résultats du test à l'alcool sont positifs). L'arrêté interministériel du 22 Dhou El Hidja 1434 correspond au 27 octobre 2013 modifiant et complétant l'arrêté du 28 Ramadhan 1433 correspondant au 16 août rendant obligatoire la méthode de détermination de la teneur en matière sèche dans le lait, la crème et le lait concentré non sucré (J.O.R.A. N° 54/ 2013): (l'Extrait Sec Totale fixé à la norme à 110- 112 g/l).

Les résultats d'analyses physico-chimiques, ont donné les valeurs moyennes suivantes: Densité: (1,03); pH: (6,58); Acidité titrable: (18,3); Viscosité: (02,6); Conductivité: (1884,5), situées dans les intervalles normes. Alors que l'Extrait Sec Total (EST): 82,87 g/L, valeur en dessous des normes. Deux principaux facteurs, de variation opposés, déterminent la densité d'un lait: La concentration des éléments dissous et ceux en suspension (solide non gras) et la proportion de matière grasse (Alais, 1984; Luquet, 1986). D'après nos résultats, l'ensemble de nos échantillons: 1,050 (max E) et 1,020 (min E), une moyenne de 1,030. Ces valeurs sont très proches des normes nationales (J.O.R.A. N° 69/1993). Ghaoues, (2011), a montré que la densité des différents échantillons des laits en poudre (après recombinaison), étaient similaires et proches des valeurs rapportée par la FAO, (2010) et cernées entre (1,028 et 1033g/cm³). Ces dernières étaient proches des valeurs notées par Aboutayeb, (2011) soit (1,028- 1,035g/cm³). D'autre part, nos résultats diffèrent de ceux rapportés par: Rezkallah et Mekhnache, (2013); Taleb, (2016); Gherbi, (2017), pour le lait déshydraté commercialisé en Algérie. A ce titre, une méthode standard, pour déterminer la densité doit être suivie (Arrêté du 6 Ramadhan 1439 correspondant au 22 mai 2018 rendant obligatoire la méthode de détermination de la masse volumique du lait sec et de certains produits laitiers en poudre (J.O.R.A. N° 38/ 2018).

Acidité titrable et pH: La prise des valeurs des pH, a été validé à l'aide d'un pH mètre, après rinçage (Chamba et Prost, 1989; Thomas et Chamba, 2000). L'acidité, en degré Dornic, est estimée par neutralisation, à l'aide de la soude N/9, de 10 ml de lait, auquel est ajouté un indicateur de pH (solution alcoolique de 01% de phénolphtaléine, (1°D= 0,1 g/L d'acide lactique). Le degré Dornic (°D) est une expression de l'acidité développée dans le lait par transformation du lactose (principal sucre du lait) en acide lactique, un degré Dornic (°D) correspond à 0,1 d'acide lactique dans un litre de lait (Chamba et Prost, 1989; Mathieu, 1998). Donc, l'acidité titrable, en degré Dornic (°D) est considérée comme un paramètre de fraîcheur pour les laits crus, on peut déduire que nos échantillons sont frais. Arrêté du 4 Moharram 1437 correspondant au 18 octobre 2015 rendant obligatoire la méthode de détermination de l'acidité titrable dans le lait sec (J.O.R. A. N° 58/2015).

A cet égard, nos résultats relatifs aux pH et à l'acidité titrable, diffèrent de ceux notés par: Gasmalla et *al.*, (2013), proches de ceux rapportés par: Soceanu et *al.*, (2015), ayant enregistré, lors d'une étude comparative entre laits infantiles en poudre et laits crus, que les premiers présentent des pH plus acides.

Viscosité en (mPa.S) d'un lait est une propriété rhéologique, la plus complexe, qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes dans le lait. Cependant, les teneurs en graisse, en caséines, possède l'influence la plus importante sur la viscosité.

En outre, la viscosité dépend, en plus, d'un certain nombre de paramètres technologiques, également des conditions extrinsèques du lait, à l'exemple de la température ambiante, de la pression atmosphérique. La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité du lait par le consommateur. La valeur moyenne de la viscosité, pour nos échantillons, variée entre: 2,9 Ca.Pas (max E₁) pour Echantillon 3 et 2,5 (min E₅) Ca.Pas respectivement. Avec la moyenne de 2,6.

Ces valeurs étaient légèrement plus élevées, que les valeurs moyennes rapportées par: Ghaoues, (2011); Gasmalla et *al.*, (2013); Soceanu et *al.*, (2015); Taleb, (2016).

Conductivité électrique, est la propriété d'un échantillon à transmettre le courant électrique. Elle se mesure en milli ou en micro siemens par centimètre (ms ou μ s/cm). Elle est due à la présence des ions, et reflètera la teneur du lait en ces éléments. Donc tout changement de concentration en ions dans le lait, se traduit par une modification de sa conductivité. Pour l'ensemble de nos échantillons, on a constaté qu'il existe de grandes fluctuations (écarts) entre les valeurs de la conductivité. Les deux échantillons ayant donné des valeurs extrêmes de

conductivité: Echantillon 5 ayant marqué la plus élevée, avec un maximum de 2610 $\mu\text{s}/\text{cm}$, qui présente donc la teneur en ions la plus élevée. L'échantillon 4, pour lequel, la valeur minimale est observée avec 1547 ($\mu\text{s}/\text{cm}$).

La moyenne est de 1884,5 $\mu\text{s}/\text{cm}$. En plus, la détermination de la teneur en extrait sec total des différents échantillons de la poudre du lait analysés, a révélé que nos résultats, sont inférieurs aux normes nationales, qui sont fixées à (110 à 112 g/l).

II.2.2. Discussion analyses microbiologique

Ces analyses permettent, de s'assurer, par des tests, consistant à la recherche et dénombrement des flores (groupes) témoins des contaminations et des espèces pathogènes et /ou toxigènes, que le produit est de bonne qualité marchande, tout au long de sa durée de vie, cela par comparaison des résultats aux normes nationales (Arrête interministériel de 24 janvier 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées, Journal officiel N: 35 du 27 mai 1998) (J.O.R.A. N°: 35/1998), et l'arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016, fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires (J.O.R.A. N°: 39/2017). Puis, par comparaison aux résultats des travaux de recherche. Lors de la réception des échantillons, l'examen visuel, était d'allure normale. Nous avons noté l'absence de tout défaut sur emballage, d'étanchéité, de gonflement, d'odeur, de couleur, d'aspect ou de consistance. De même, pour l'ensemble des échantillons, nous avons noté un respect des étiquetages, des prescriptions des dates de fabrication et de péremption, du model de présentation et de préparation des échantillons. Donc les échantillons semblent en parfaite conformité aux dispositions du l'arrêté interministériel du 23 février 2012 (J.O.R.A. N°: 49/2012).

Globalement, les résultats des analyses microbiologiques ont montré que, hormis l'échantillon: E₁ et l'échantillon: E₅; ou nous avons enregistré des coliformes totaux (avec absence des coliformes fécaux et des *E. coli*), à des taux de: $16,7 \times 10^4$ UFC/g et 39×10^3 UFC/g respectivement.

L'ensemble des échantillons étaient exempt de toutes contaminations, avec absence des indicateurs de contaminations anciennes (Streptocoques D et les spores), absence des espèces toxigènes: *Enterobacter* sp., *Staphylococcus* sp. et *Salmonella* spp.

Dans les conditions de réalisation de l'étude, il est difficile de déterminer l'origine des coliformes totaux, dénombrés pour les enchantions: E₁ et E₅. Il est probable que la contamination avait lieu au laboratoire, lors de préparation des dilutions, de manipulation, car les autres indicateurs des contaminations et *E. coli* sont absents.

A cet égard, Richeter et *al.*, (2000); Richter, (2001); Kent, (2015); Kent et *al.*, (2015); Pal et *al.*, (2016), dans des publications différentes, on met l'accent sur la nécessité de l'établissement d'une réglementation standard, à l'échelle mondiale, pour les préparations des laits, formules laitiers et des autres aliments pour nourrissons. Les recommandations des auteurs, semblent bien justifiées, surtout, avec l'évolution des échanges commerciaux internationaux, les épidémies et les accidents enregistrés suite à la consommation de cette

denrée alimentaire, dans diverses régions du monde (EFSA, 2004; Brouard et *al.*, 2005; Jourdan et *al.*, 2008; Keck, 2009; Da Silva et *al.*, 2018).

En outre, selon Cho et *al.*, (2019), les pratiques des soins des nourrissons, ainsi que celles relatives aux préparations des laits en poudres représentent des risques élevés de contamination et de transmission des espèces pathogènes très sous-estimés. A titre comparatif, nos résultats relatifs aux analyses microbiologiques sont en concordance avec ceux enregistrés par: Kabir, (2014); Taleb, (2016), ayant noté lors de deux études sur le lait en poudre commercialisé en Algérie des échantillons conformes aux normes nationales. Alors que, nos mêmes résultats concordent partiellement ceux notés par: Rezkellah et Mekhnache, (2013); Amrani, (2017), ayant relevé respectivement, lors de deux études, réalisées sur la poudre du lait d'importation, commercialisée en Algérie, une charge assez importante en FTAM et des spores des *Bacillus cereus*, a des taux de 14%, indiquant un lait en poudre de qualité microbiologique très en dessous des normes nationales. Nos résultats concordent ceux relevés par EL-Sayed Mostafa et *al.*, (2002); Abdelkhalek et *al.*, (2016), ayant rapportés l'absence des germes de contamination et/ou espèces pathogènes dans différentes marques des laits infantiles en poudre, commercialisés en Egypt. Cependant, nos résultats divergent de ceux notés par: Tahoun et Abdelfatah, (2015), ayant enregistré un taux de 54% des échantillons contaminés par différents germes, pour un effectif de 27 échantillons de lait infantile en poudre collectés en Egypte. En outre, Aman et *al.*, (2016): Sur un total de cent (100) échantillons de lait en poudre, prélevés dans pharmacies du gouvernorat de Kafrelsheikh-Egypte: ont noté que 19% des échantillons ont présentés des espèces *B. cereus*, 11% des spores, 42% des formes végétatives ayant présentés des gènes codant pour la virulence: hblc. Ce qui est contradictoire avec nos résultats.

En outre, lors d'une étude portée sur un lot de 84 échantillons du lait et formules pour nourrissons commercialisés en Libye, Shadlia- Matug et *al.*, (2008), avaient relevé des niveaux élevés de contamination, avec la présence des *Bacillus* sp. dans 64,3%, suivi par des *Staphylococcus* sp. dans 42,9%, des Entérobactéries dans 26,3% avec isolement des moisissures à l'exemple des genres: *Aspergillus* sp. et *Penicellium* sp., ce qui divergent de nos résultats. Nos résultats divergent ceux notés par: Hussein, (2007), ayant relevé, sur un effectif de soixante échantillons, de lait en poudre collectés au Soudan, ou des espèces aérobies sporulées et des FTAM dépassant les normes ont été relevé. En outre, Nos résultats d'analyses microbiologiques, sont en totale corrélation avec ceux enregistrés par: Majeed et *al.*, (2002), Shiamee et Naji-Ajmi, (2016), ayant travaillé respectivement sur 10 et 05 marques du lait infantiles, commercialisées en Iraq. Les auteurs avaient noté des échantillons conformes aux

normes iraqiennes (IQS) et celles ISO. D'autre part et sur un total de 65 échantillons du lait et formules infantiles collectés dans la province Iraquienne Hilla 53,8 % étaient contaminés. Les isolats les plus fréquemment identifiés étaient: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Citrobacter freundii* (Al- Timimi, 2007). Ce qui est contraire à nos résultats.

Spores des bactéries sulfito- réductrices: Le dénombrement des spores des bacilles sulfito-réductrices, a été réalisé sur le milieu complexe viande-foie, semi solide, après un chauffage de 10min à 80°C, pour chaque échantillon, dans le but de récupérer toutes (le maximum) les formes végétative et/ou de résistance. L'incubation (en anaérobiose) s'est validée à 30°C, avec lecture tous les 24heures pendant 72h. Le choix de ce point de température (30°C) est dicté dans le but de récupérer l'ensemble des spores (formes de résistance) thermophiles et mésophiles. De l'avis de Rajkovic et al., (2008) même les méthodes utiliser pour le dénombrement présomptif des espèces *Bacillus cereus* en l'occurrence: ISO 7932 et ISO 21871 ont un pouvoir analytique très limité, pour distinguer entre des espèces *B. cereus* toxigènes des non toxigènes. A cet égard, il est à signaler que la différenciation entre les espèces *B. cereus sensu stricto*, agents potentiels d'intoxication alimentaire (responsable de syndrome diarrhéique et hémolytique Ombui et al., 1997a; Wijnands et al., 2002; 2006b; IDF/FIL, 2016), des autres espèces *B. cereus* non toxigènes, des autres espèces du genre *Bacillus* sp. est un sujet de grand controverse (IDF/FIL, 2016; Rossi et al., 2018). Selon Rajkovic et al., (2008), les spores des espèces *Bacillus cereus* peuvent survivre dans la poudre du lait et formules infantiles, la reconstitution du lait lors d'usage donne à ces formes de résistance les conditions optimales pour germination et prolifération (Ronimus et al., 2006). D'autre part, *Bacillus cereus* semble le principal agent pathogènes dans le secteur laitier, suivi par les espèces *Clostridium tyrobutyricum* (Heyndrickx, 2011; Aman et al., 2016). L'habilité des spores *Bacillus cereus*, pour survivre dans la poudre du lait et les produits laitiers (denrées à faible activité de l'eau), semble souche dépendante, cependant, cette survie est influencée par un certain nombre de paramètres à l'exemple de la température (Igura et al., 2003), les changements des pH (Sala et al., 1995) et la présence des flores compétitives (Valero et al., 2003; 2007; Cressey et al., 2016). Plusieurs intoxications alimentaires ont été rapportées dans la littérature scientifique, ou les laits et formules infantiles en poudre étaient les vecteurs, les espèces *Bacillus* sp., notamment les formes de résistance de certaines souches *B. cereus* étaient fortement impliquées: Germany (Wiebe, 1999), l'Inde (Bendi et al., 2005), Egypte (Sadek et al.,(2006), Brazil (Rezende-Lago et al., (2007), Korea (Hwang et al., 2008), Australia (Eglezos et al., 2010; Thompson et al., 2010), Irlande (Haughton et al., 2010), Italy

(Di Pinto *et al.*, 2013) et Malaysia (Tong, 2015). En outre, dans une étude sur deux types de laits: Lait UHT (effectif n: 20 échantillons) et lait infantiles (effectif n:12): La recherche des *Bacillus cereus* par deux méthodes; dénombrement en UFC/g sur milieu sélectif et par méthode PCR a montré que:

Les niveaux des contaminations par les *B. cereus* étaient plus élevés dans le lait infantile que dans le cas des laits UHT. Alors que la recherche des *B. cereus* par la méthode PCR a montré que: 41,7% des laits infantiles étaient contaminés par les *B. cereus* contre 30% des laits UHT (Lesley *et al.*, 2017). D'après Becker *et al.*, (1994), un taux de 54% des laits et formules infantiles étaient contaminés par *B. cereus* sur un effectif de 261 échantillons fabriqués dans 17 pays.

Sur 16 souches *Bacillus* sp. sporogènes, aérobies, isolées des 07 différents aliments déshydratés y compris les laits en poudre ont été testés pour leur thermo-résistance pendant 30 min, dans deux milieux (lait et tampon phosphate) à différentes températures (110°C, 120°C et 125°C). L'étude a montré que les spores *Bacillus* sp. résistent pendant 30 mn aussi bien dans le tampon phosphate que dans le lait Stoeckel *et al.*, (2016). De l'avis de certains auteurs, les spores aérobies des *Bacillus* sp., peuvent échapper à tout processus industriel visant un traitement hygiénique (Scurrah *et al.*, 2006; Stoeckel *et al.*, 2013; 2016; Rossi *et al.*, 2018).

Dénombrement des salmonelles: s'est validée par deux méthodes différentes:

La 1^{ère} de routine ou AFNOR 08.052 consistant à un enrichissement non sélectif sur EPT puis double enrichissement sélectifs de 24H (à 37°C et à 41°C) sur deux bouillons sélectifs en l'occurrence: R-V et SFB. Enfin isolement sur deux géloses sélectifs: BLVBRP et Hektoen.

La 2^{ème} méthode, dite horizontale ou méthode ISO 6579-2002, à consister à un enrichissement non sélectifs à 37°C sur EPT puis triple enrichissement sélectifs à 43°C sur 3 bouillons: SFB, BVM et BMK respectivement, enfin isolement sur la gélose Hektoen. L'ensemble de nos échantillons était exempt des souches Salmonelles. Le bouillon BVM utilisé lors de réalisation de la 2^{ème} méthode, semble meilleur pour la récupération des souches stressées, suivi par le bouillon SFB, ce qui est en contradiction avec les données de la littérature scientifique.

A cet égard, Li Cari et Potter, (1970), ont démontré la survie des *Salmonella* sp. au cours du séchage par pulvérisation et de la manipulation ultérieure de la poudre de lait écrémé.

En outre, Brouard *et al.*, (2005) lors d'une enquête épidémiologique, ont isolé l'espèce *Salmonella enterica*, sérotype Agona des chaînes de production de plusieurs marques de lait infantile en France.

D'après Lang et *al.*, (2018), l'inactivation cellulaire des *Salmonella* sp., pendant le séchage du lait est étroitement liée à une perméabilisation des membranes et que le traitement thermique des cellules séchées affecte principalement leur activité respiratoire.

D'après Nassib et *al.*, (2003) une combinaison Eau-Peptonée et bouillon Muller- Kaufman et isolement sur gélose au vert brillant et rouge de phénol, donne des résultats meilleurs pour le dénombrement des Salmonelles dans les laits et produits laitiers. Ce qui concorde nos observations lors de la réalisation de la 2^{ème} méthode. D'autre part et selon Vassiliadis et *al.*, (1984) le bouillon R-V utilisé dans un rapport de 10V/ 1V du bouillon de pré-enrichissement à 43°C est très efficace pour l'isolement/ dénombrement des Salmonelles en comparaison avec les bouillon R-V original et le R-V 25. Ce qui est en contradiction avec nos observations. Le choix des bouillons adéquats pour le pré-enrichissement, l'enrichissement et les milieux pour l'isolement des Salmonelles en microbiologie alimentaire et/ou d'environnement est un sujet très controversé, les données scientifiques relatives à ce sujet sont contradictoires. Vassiliadis et *al.*, (1987) dans une étude portée sur un lot de 308 échantillons, lors des séries des combinaisons pour pré-enrichissement et l'enrichissement des Salmonelles sur l'eau peptonée et le R-V additionné ou non de Teepol (un détergent), ont remarqué que l'eau peptonée (pré-enrichissement) et le bouillon R-V à 37°C (enrichissement) s'est révélée supérieure aux autres combinaisons, tant en termes de taux de récupération des souches, d'isolement que d'apparition de colonies suspectes, ce qui est en contradiction avec nos observations. De l'avis des Davies et *al.*, (2000), le bouillon sélénite- cystéine (SFB) et la gélose Hektoen sont inefficaces comme moyen d'enrichissement et d'isolement des Salmonelles. A cet égard, Davies et *al.*, (2000), lors d'une série de combinaisons des protocoles de routine, utilisés par des laboratoires Américains, pour la détection des *Salmonella* dans la matière fécale et des échantillons d'environnement:

-1^{er} protocole: 10g + premier enrichissement non sélectif (EPT) puis enrichissement sélectif sur R-V à 37°C.

-2^{ème} protocole: 01g de matière fécale avec double enrichissement sur les bouillons Muller- kaufman puis sur le R-V à 42°C: Le double enrichissement sur EPT puis sur le R-V à 42 °C semble meilleur pour récupération et détection des *Salmonella* sp.

A ce titre, plusieurs normes régissent la recherche/dénombrement des Salmonelles en hygiène alimentaire. Globalement ces normes recommandent un protocole de recherche en 4 étapes successives ou on distingue: Des normes horizontales, applicables à tous types de produits. -Au niveau international il s'agit de la norme: ISO 6579- 1993. -Au niveau Européen, c'est la norme NF- EN 12824 1998 (Humbert, 1998; Joffin et Joffin, 1999). Ces

normes sont applicables en routine, puisque elles obligent à l'isolement après 24 h mais aussi après 48h d'incubation de chacun des deux milieux d'enrichissement, sur les 2 milieux sélectifs d'isolement différents (Annexe 03). En France, ces normes constituent la référence en cas de litige (Humbert, 1998). En outre, il existe une norme de routine, c'est la norme AFNOR V08-052 1993 (Humbert, 1998). Cette méthode est largement utilisée dans les laboratoires d'hygiène alimentaire (Humbert, 1998).

Dans le protocole, J.O.R.A.(42/2005) et J.O.R.A.(44/2017), le législateur Algérien stipule pour la recherche des *Salmonella* sp., dans les denrées alimentaires 4 étapes:

1. Pré-enrichissement non sélectif (sur EPT).
2. Un enrichissement sélectif sur deux bouillons sélectifs différents (Muller- kaufman avec incubation à 43°C), et sur le bouillon sélénite-cystéine, incubation à 37°C).
3. L'isolement à partir des deux bouillons précédent, sur deux milieux sélectifs solides: la gélose au rouge de phénol et au vert brillant et la gélose au sulfite de bismuth.
4. L'identification biochimique et sérologique.

Dénombrement des espèces *Cronobacter* sp.

Durant toutes les étapes d'enrichissement et d'isolement, les six échantillons étaient exempt des souches *Enterobacter* spp. La méthode normalisée ISO/TS 22964 (Organisation internationale de normalisation 2006), utilisée la quelle préconise un pré enrichissement en eau peptonée et un enrichissement en bouillon sélectif au lauryl-sulfate et tryptose (mLST, *Modified Lauryl Sulfate Tryptose*) (Proudy, 2009). La méthode standard actuelle pour la détection d'*Enterobacter sakazakii* dans les laits en poudre et produits laitiers a été documentée et recommandée par l'Organisation internationale de normalisation et la Fédération internationale de laiterie (FIL). L'inconvénient de cette méthode est sa lenteur comprenant un enrichissement en deux étapes puis l'isolement sur milieu sélectif (Fox et Jordan, 2008). La contamination du lait peut survenir lors de la fabrication, de la reconstitution, ou de l'entreposage du produit (Proudy, 2009). Plus de 90% des infections par *Cronobacter* ont été liées épidémiologiquement à des préparations en poudre pour nourrissons (PIF) (Kalyantanda et al., 2015). Plusieurs méthodes ont été conçues, pour la récupération/détection des phénotypes *Cronobacter* sp. dans les laits en poudre (Iversen et al., 2004; Iversen et Forsythe, 2007; Fox et Jordan, 2008; Lampel et Chen, 2009; Osaili et al., 2010).

A cet égard, des géloses sélectives: ESIA, DFI et Compass, ont été comparées par Derzelle et al., (2007) et estimées équivalentes du point de vue sensibilité pour la détection des *Cronobacter* spp.

Kandhai et *al.*, (2004) ont développé une méthode de routine, basée sur le criblage des souches *Cronobacter* spp., ayant une α glycosidase constitutive et pigmentées en jaune, lorsque sont cultivées sur la gélose TSA. En outre, Iversen et Forsythe, (2007), ont comparé 3 bouillons d'enrichissement: bouillon d'enrichissement Enterobacteriaceae (EE), le bouillon sélectif *Enterobacter sakazakii* (ESSB) et le bouillon de laurylsulfate modifié (mLST) à un nouveau bouillon conçu pour la récupération maximale d'*E. sakazakii*, bouillon d'enrichissement *E. sakazakii* (ESE). Sur 177 souches (100%) ont poussé dans l'ESE, alors qu'entre 2 et 6% des souches n'ont pas poussé dans l'EE, mLST ou ESSB. En outre, Al Holy-Rasco (A-R), ont proposé un nouveau bouillon pour la détection et l'isolement de *Cronobacter* spp. dans le lait infantiles. La composition du nouveau milieu est un bouillon générique d'infusion cœur- cervelle avec l'addition de 1% de NaCl, 15% de saccharose et 0,80 g/l de désoxycholate de sodium en tant qu'ingrédients sélectifs (Al- Holy et *al.*, 2011). De l'avis de plusieurs auteurs Gurtler et *al.*, (2005); Shaker et *al.*, (2008); Proudly, (2009); Norberg et *al.*, (2012) la présence des souches *Cronobacter* n'est pas limitée aux préparations laitières en poudre pour nourrissons et l'environnement clinique, on peut également le détectés dans une large gamme d'installations de traitement des aliments, dans l'eau, le sol et d'environnement notamment les chaînes de production du lait en poudre.

De ce fait il est nécessaire de mettre en place des mesures rigoureuses de contrôle pour réduire les risques de contamination à différents niveaux:

- Industriel, pour éviter la contamination de la production, en réduisant les risques de contamination des produits reconstitués lors de la préparation, de la manipulation et du stockage;
- Au niveau législatif, en établissant des lignes directrices et des recommandations émises par les autorités compétentes afin de garantir la sécurité des aliments pour nourrissons.

Conclusion

L'objectif préalablement fixé pour la présente étude était l'exploration de la stabilité et de la conformité aux normes nationales, durant la période de conservation/commercialisation pour six échantillons de différentes marques du lait infantile d'importation, collectés de différentes officines au chef-lieu de la wilaya de Bordj Bou Arreridj Nord Est d'Algérie, durant la période Février-Mars 2020.

Les résultats des analyses physico-chimiques ont révélé un produit stable, sans défauts perceptibles de goût, d'odeur ou de consistance et ont donné les valeurs moyennes suivantes: Densité (en g/cm³): (1,03), pH: (6,58), Acidité titrable (en °D): (18,3), Viscosité (en mPa.s): (02,6), Conductivité (en µs/cm): (1884,5), Extrait Sec Total (en g/l): (82,87).

Les résultats des analyses microbiologiques, ont révélés, pour l'ensemble des échantillons, un produit stable, sans défaut visuel d'emballage, d'étiquetage et l'absence des flores indicatrices des contaminations fécales anciennes: (Streptocoques D et bactéries sulfito-réductrices), flores indicatrices des pollutions récentes: (coliformes totaux et fécaux). La totalité des échantillons était exempts des espèces pathogènes/toxinogènes: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. et *Cronobacter* sp. Toutefois, l'échantillon E₁ et l'échantillon E₅, ont refléter la présence des coliformes totaux a des taux respectives de: 16.7×10^4 et de 39×10^3 UFC/ml (avec absence des fécaux et d'*Escherichia coli*), ces valeurs en UFC/ g sont situés à l'intérieur des normes. Les conditions d'étude n'ont pas permet de détecter l'origine de cette contamination.

L'effectif des échantillons, semble stable et d'une qualité physico-chimique et microbiologique conformes aux normes nationales, cependant, l'exploration de qualité et de la stabilité de cette denrée alimentaire, à faible activité de l'eau, mérite d'être approfondie par l'étude d'un nombre élevé d'échantillons, de marques et plus de tests Biochimiques et Microbiologiques.

Références bibliographiques

- Abdelkhalek A., Elsherbini M., Eletriby D., Sadak A. (2016). Quality assessment of imported powder milk at Mansoura city, Egypt. *Jou. Advanced Veterinary and Animal Research*. Egypt. Vol 3 No 1. P: 75- 78.
- Aboutayeb R. (2011). Technologie du lait et dérivés laitiers. <http://www.azaquar.com/doc/technologie-des-laits-> de. Consulté le: 14/02/2019 à 11:00.
- AFNOR. (1995). Contrôle de la qualité des produits alimentaires—Analyse sensorielle, 5ème édition, P: 400.
- Al- Holy M.A., Shin J.-H, Osaili T.M., Rasco B.A. (2011). Evaluation of a New Enrichment Broth for Detection of *Cronobacter* spp. in Powdered Infant Formula. *Jou. Food Protection* 74.P: 387- 393.
- Al- Timimi Bushra J. (2007). Antimicrobial resistance of bacteria isolated from powdered infant formulas (PIF) College of Medicine, Babylon University. *Medical Jou. Babylon-* 2007 Volume 4 No. 3.
- Alais A (1984). Science du lait: principe des techniques laitières. Éd. Sep. Paris- France.
- Amalaradjou Mary Anne Roshni, Hoagland Thomas A., Venkitanarayanan Kumar (2009). Inactivation of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted infant formula by trans-cinnamaldehyde. *Jou. Food Microbiology*. 129, P: 146–149. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro. 2008. 11. 016.
- Aman I.M., Esraa M.A., Walaa M.E. (2016). Safety of infant milk powder sold at kafrelsheikh governorate markets-Egypt. Research & Reviews: *Jou. Veterinary Sciences*. RRJVS, Volume 2, Issue 2.
- Amariglio S. (1986). Contrôle de qualité des produits laitiers. 3ème éd. Paris: AFNOR. P: 1030.
- Amer Mohamed M., Mekky Hoda M. (2019). *Cronobacter Sakazakii* (*Enterobacter Sakazakii*). *Jou. Research in Pharmacy and Biosciences*. Volume 6, Issue 4. P: 4-14.
- Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R. (2002). Composition, propriétés physicochimique valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse du lait. Carole I, Vignola, science et technologie du lait. Québec, P: 28- 30.
- Amrani Amina (2017). Identification des bactéries formant des spores dans la poudre de lait. Mémoire présente pour l'obtention de Master académique en agronomOption: Technologie des industries agroalimentaires. Université de Tlemcen (UABB)- Algeria.
- Andrews W. (1997). Manual of food and quality control. Microbiological analysis. FAO: Food and Nutrition paper 14/4 Rev. 1:4. Microbiological analysis. Chapter 2: *Salmonella*. ISBN: 92-5-103 189-4. P: 27- 44.
- Anonyme (2005). Alerte, C.E. Infections sévères à *Enterobacter sakazakii* chez des nouveau-nés ayant consommé une préparation en poudre pour nourrissons, France, Octobre- Décembre 2004. Numéro Thématique Risques infectieux: Approches. *Jou. Méthodologiques de la Veille et de L'aide à la Décision en Santé Publique*. 10. P:353
- ANSES (2011). *Salmonella* spp. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments, <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2011sa0057Fi.pdf>.
- Aubry Pierre, Gaüzère Bernard-Alex (2018). Les Salmonelloses. Centre René Labusquière, Institut de Médecine Tropicale, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux (France). P: 1. www.medecinetropicale.com.
- Barakat S. M. Mahmoud (2012). *Salmonella* A dangerous food borne pathogen Published by Intech Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia. P: 451.
- Becker H., Schaller G., Wiese W. V., Terplan G. (1994). *Bacillus cereus* in infant foods and dried milk products. *Jou. Food Microbiology*. 23, P: 1- 15.

Références bibliographiques

- Bendi S.K., Sharma C.S., Gill J.P.S., Aulakh R. S., Sharma J.K. (2005). Incidence of enterotoxigenic *Bacillus cereus* in milk and milk products. *Jou. Food Science and Technology*- Mysore; 42 (3). P: 272- 275.
- Bocquet A., Bresson J.L., Briend A., Chouaqui J.P., Darmaun D., Dupont C., Frelut M.L. (2002). Traitement nutritionnel des diarrhées aiguës du nourrisson et du jeune enfant. Comité de nutrition de la Société française de pédiatrie. *Archives de Pédiatrie*. 9, P: 610-619.
- Boudier J.F., Luquet F.M. (1981). Dictionnaire laitier. 2ème éd. Paris: Technique et Documentation. P: 220.
- Bowen A., Wiesenfeld H.C., Kloesz J.L., Pasculle A.W., Nowalk A.J., Brink L., Elliot E., Martin H., Tarr C.L. (2017). Notes from the Field: *Cronobacter sakazakii* infection associated with feeding extrinsically contaminated expressed human milk to a premature infant Pennsylvania. *MMWR* 66, P: 761.
- Brands Danielle A., Alcamo, I. Edward, Heymann David (2006). *Salmonella*: Deadly diseases and epidemics. Edition: *Chelsea House Publishers*. ISBN 0-7910-8500-7. P: 16.
- Brouard C., Espié E., Vaillant V., de Valk H. (2005). Epidémie de *salmonella enterica* serotype *agona* chez des nourrissons liée à la consommation de poudres de lait infantile, Rapport Département des maladies infectieuses, Institut de veille sanitaire, Saint- Maurice, France.
- Cahill Sarah M., Wachsmuth, Kaye I., Costarrica Maria de Lourdes, Ben Embarek Peter Karim (2008). Powdered Infant Formula as a Source of *Salmonella* Infection in Infants. *Jou. Food Safety*. 46, P: 268–73. DOI: 10.1086/524737.
- Cariolis.M. (2014). Understanding The Infant Formula Value Chain. Auckland, New Zealand. PO Box, www.coriolisresearch.com. Consulté le: 13/06/2020 à 19h:30. P: 90-509.
- Chamba J.F., Prost F. (1989). Mesure de l'activité acidifiante des bactéries lactiques, thermophiles pour la fabrication de fromage à pâte cuite. *Lait*. (69). P: 417- 431.
- Cho T. J., Hwang J. Y., Kim H. W., Kim Y. K., Kwon J. H., Kim Y. K., Lee K. W., Kim S. A., Rhee M.S. (2019). Underestimated risks of infantile infectious disease from the caregiver's typical handling practices of infant formula. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46181-0>.
- Christensen H. B., Salomon A., Kokholm G. (1991). International pH Scales and Certification of pH, *Anal. Chem*. 63. P: 885-891.
- Codex Alimentarius* (1999). Norme générale codex pour l'utilisation de termes de laiterie, Lait et produits laitiers, 2ème édition. CODEX STAN 206-1999. P: 1.
- Commission Européenne (2006). Directive 2006/141/CE de la Commission du 22 décembre 2006 concernant les préparations pour nourrissons et les préparations de suite et modifiant la directive 1999/21/CE [en ligne]. *Jou. l'Union européenne*, 401: 1-33. Disponible au eur-lex.europa.eu/ LexUriServ/ LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006: 401: 0001: 0033:FR:PDF [accédé le 15 avril 2009].
- Conde A. A., Legorburu A. P., Urcelay I. E., Zárata Z. H. Zugazabeitia J. A. (2007). Sepsis neonatal por *Enterobacter sakazakii*. *Anales de Pediatría*.66, P: 196- 197.
- Cressey P., King N., Soboleva T. (2016). Risk profile: *Bacillus cereus* in dairy products institute of environmental science and research limited. MPI Technical Paper No: 2016/58; New Zeland Ministry for Primary Industries. ISBN No: 978-1-77665-373-7(online). P: 18.
- Da Silva N. J., Fabre L., Robinson E., Fournet N., Nisavanh A., Bruyand M., Mailles A., Serre E., Ravel M., Guibert V. (2018). Ongoing nationwide outbreak of *Salmonella Agona* associated with internationally distributed infant milk products, France. *Rapid communication*.www.Eurosurveillance.Org.

Références bibliographiques

- Davies P. R., Turkson P. K., Funk J. A., Nichols M. A., Ladely S. R., Fedorka-Cray P. J. (2000). Comparison of methods for isolating *Salmonella* bacteria from faeces of naturally infected pigs. *Jou. Applied Microbiology*. 89, P: 169-177.
- Deeb M.M.A., Al Hawary I.I., Aman I.M., Shahine M.H.A.D. (2010). Bactériological investigation on Milk Powder in the Egyptian Market with Emphasis on its safety. *Jou. Global Veterinaria*. Mansoura University. Egypt. 4, P: 424-433.
- Derzelle, S., Dilasser, F., Maladen, V., Soudrie, N., Leclercq, A., Lombard, B., et Lafarge, V. (2007). Comparison of three chromogenic media and evaluation of two molecular-based identification systems for the detection of *Enterobacter sakazakii* from environmental samples from infant formulae factories. *Jou. Food. Prot.* 70(7), P: 1678-1684. PMID:17685342.
- Dhiaf A., Chnity N., Bakhrouf A. (2004). Fate of *Salmonella* in baby powder milk. *Food, Agriculture & Environment* 4 A. D. 2. P: 149-50.
- Di Pinto A., Bonerba E., Bozzo G., Ceci E., Terio V., Tantillo G. (2013). Occurrence of potentially enterotoxigenic *Bacillus cereus* in infant milk powder. *Jou. European Food Research and Technology*; 237(2), P: 275- 279.
- Dupont H.L. (2007). The growing threat of foodborne bacterial enteropathogens of animal origin. *Jou. Clinical Infection Diseases*. (10). P: 61-1353.
- EFSA (2004). Autorité Européenne de Sécurité des Aliments. Avis du groupe scientifique sur les risques biologiques sur une demande de la Commission relative aux risques microbiologiques dans les préparations pour nourrissons et les préparations de suite. *Jou. EFSA*. P: 1- 35.
- Eglezos S., Huang B. X., Dykes G. A., Fegan N. (2010). The prevalence and concentration of *Bacillus cereus* in retail food products in Brisbane, Australia. *Jou. Foodborne Pathogens and Disease*; 7(7). P: 867- 870.
- EL-Sayed Mostafa U., Filipiak M., Stryjakowska – Sekulska M. (2002). Evaluation of bacteriological quality in selected commercial infant formulas available in Poland and Egypt. *Jou. Food Safety*. 22, P: 197- 208.
- Erkekoğlu Pinar, Sipahi Hande, Şahin Gönül, Baydar Terken (2009). A Hidden Danger in Infant Formulas and Baby Foods: *Enterobacter sakazakii* Contamination. *Jou. Pharm. Sci.*, 34. P: 153-165.
- Fakruddin Md., Rahaman Md. Mizanur, Monzur Morshed Ahmed, Hoque Md. Mahfuzul (2013). *Cronobacter sakazakii* (*Enterobacter sakazakii*): An Emerging Food borne Pathogen. *Jou. Biomedical And Advance Research*. 04(06). P: 349-359. DOI:10.7439/ijbar.
- FAO (2010). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Laites de consommation <http://www.horizon.documentation.ird.fr.http://www.fao.org/3/t4280f/T4280F00.htm> site consulté le: 9/6/2020 à 15^H55.
- FDA (2002). Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant formula. Centre for Food Safety and Applied Nutrition, *Jou. US Food and Drug Administration*. Disponible au WWW.cfsan.fda.gov/comm/mmesakaz.
- Fox E.M., Jordan K.N. (2008). Towards a one-step *Enterobacter sakazakii* enrichment. *Jou. Applied Microbiology*. ISSN 1364- 5072, P: 1091-1097.
- Franworth E., Mainville I. (2010). Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe.
- Fredot E. (2006). Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, *Tec et Doc, Lavoisier*, 25. P: 397.

Références bibliographiques

- Gasmalla M. A. A., EKhadir K., Musa A., Aboshora W., Zhao W. (2013). Evaluation of some physicochemical parameters of three commercial milk products. Pakistan. *Jou. Food Sciences*. 23, P: 62-65.
- Ghaoues S. (2011). Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique pour cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'Est Algérien. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Option: Technologie. Alimentaire. Institut de la Nutrition, de L'alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires. Université Mentouri Constantine (Algérie).
- Gherbi Dahia (2017). Qualité du lait et produits laitiers de la laiterie Hammadites. Mémoire-Master. Option: Industrie laitière. Université: A. Mira- Bejaia(Algérie).
- Gilbert Susan, Lake Rob, Cressey Peter, King Nicola (2010). Risk profile: *Salmonella* (non typhoidal) in cereal grains. Edition: *A Crown Research Institute*. P: 5. www.esr.cri.nz.
- Goulet O., Vidaihet M., Turck D. (2012). Alimentation de l'enfant en situations normale et pathologique. 2ème édition. Rueil- Malmison. *Editions Doin*, France. P: 662.
- Guinet A. (2018). Infection alimentaire à la salmonelle de nourrissons, quelle réponse médicale face à cette crise. 9ème Conférence francophone en Gestion et Ingénierie de Systèmes Hospitaliers (GISEH 2018), Genève, Suisse. fhal-01895927f. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01895927>.
- Guiraud J. P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. P: 136-139.
- Gurtler J. B., Kornacki J. L., Beuchat L. R. (2005). *Enterobacter sakazakii*: a coliform of increased concern to infant health. *Jou. Food Microbiology*. 104 (1), P: 1-34.
- Haughton P., Garvey M., Rowan N. J. (2010). Emergence of *Bacillus cereus* as a dominant organism in Irish retailed powdered infant formula (pif) when reconstituted and stored under abuse conditions. *Jou. Food Safety*; 30 (4). P: 814-831.
- Henry M., Fouladkhah A. (2019). Outbreak history, biofilm formation, and preventive measures for control of *Cronobacter sakazakii* in infant formula and infant care settings. *Jou. Microorganisms*. 7, P: 77.
- Heyndrickx Marc (2011). The Importance of Endospore- Forming Bacteria Originating from Soil for Contamination of Industrial Food Processing. Hindawi Publishing Corporation. *Jou. Applied and Environmental Soil Science* Volume. A review.
- Humbert F. (1998). Les Salmonelles *In*: Manuel de bactériologie alimentaire. Ed. Jouve J. L Polytechnica. 27, P: 43- 45.
- Hussein E.H.M.R. (2007). Bacterial contamination of powder milk. A MSM thesis submitted to the University of Khartoum. Department of Microbiology. Sudan. P: 17.
- Hwang J. Y., Lee J. Y., Park J. H. (2008). Microbiological quality and potential pathogen monitoring for powdered infant formulas from the local market. *Korean. Jou. Food Science of Animal Resources*; 28 (5). P: 555-561.
- IDF/FIL (2016). *Bacillus cereus* in Milk and Dairy www.fil.org. IDF Factsheet—<https://www.fil-idf.org/wp-content/uploads/2016/12/Bacillus-cereus-in-Milk-and-Dairy-Products.pdf>
- Igura N., Kamimura Y., Islam M.S., Shimoda M., Hayakawa I. (2003). Effects of Minerals on Resistance of *Bacillus subtilis* spores to heat and hydrostatic pressure. *Jou. Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, No. 10. P: 6307- 6310.
- International Standards Organization. ISO 6579 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for detection of *Salmonella* spp. 6579:2002.
- Iversen C., Druggan P., Forsythe S. (2004). A selective differential medium for *Enterobacter sakazakii*, a preliminary study. *Jou. Food Microbiology*. 96, P: 133-139.
- Iversen C., Forsythe S. J. (2007). Comparison of media for the isolation of *Enterobacter sakazakii*. *Applied and Environmental. Microbiology*. 73 (1), P: 48-52.

Références bibliographiques

- J.O.R.A. N° 35 (1998). Le Journal Officiel de la République Algérienne Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994, relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.
- J.O.R.A. N° 39 (2017). Le Journal Officiel de la République Algérienne Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016, fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires.
- J.O.R.A. N° 44. (2017). Le Journal Officiel de la République Algérienne Arrêté interministériel de Dimanche 29 Chaoual 1438 Correspondant au 23 juillet 2017 rendant obligatoire la méthode horizontale pour la recherche des *salmonella* sp.
- J.O.R.A. N° 49 (2012). Le Journal Officiel de la République Algérienne Arrêté interministériel du Aouel Rabie Ethani 1433 correspondant au 23 février 2012 portant adoption du règlement technique algérien fixant les spécifications, les conditions et les modalités de présentation des préparations destinées aux nourrissons.
- J.O.R.A. N° 54 (2013). Le Journal Officiel de la République Algérienne Arrêté du 28 Ramadhan 1433 correspondant au 16 août 2012 rendant obligatoire la méthode de détermination de la teneur en matière sèche dans le lait, la crème et le lait concentré non sucré.
- J.O.R.A. N° 58 (2015). Le Journal Officiel de la République Algérienne Arrêté du 4 Moharram 1437 correspondant au 18 octobre 2015 rendant obligatoire la méthode de détermination de l'acidité titrable dans le lait sec.
- J.O.R.A. N° 69 (1993). Le Journal Officiel de la République Algérienne Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation : 16 (N: J.O.R.A : 069 du 27-10-1993).
- J.O.R.A. N° 38 (2018). Le Journal Officiel de la République Algérienne Arrêté du 6 Ramadhan 1439 correspondant au 22 mai 2018 rendant obligatoire la méthode de détermination de la masse volumique du lait sec et de certains produits laitiers en poudre.
- J.O.R.A. N° 42 (2005). Le Journal Officiel de la République Algérienne Arrêté du 13 Dhou El Hidja 1425 correspondant au 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits laitiers.
- Jackson E. E., Flores J. P., Fernandez-Escartin E., Forsythe S. J.(2015). Reevaluation of a suspected *Cronobacter sakazakii* outbreak in Mexico. *Jou. Food Prot.* 78, P: 1191- 1196.
- Joffin C., Joffin J. N. (1999). Microbiologie alimentaire. Ed. Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine. P: 135-141.
- Jourdan N., Le Hello S., Delmas G., Clouzeau J., Manteau C., Dësaubliaux B., Chagnon V., Thierry- Bled F., Demare N., Weill F.X., de Valk H. (2008). Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype give infections in infants in France, linked to infant milk formula. *Eurosurveillance*, 13 (39).
- Kabir Ahmed (2014). Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (Constats et perspectives). Thèse de Doctorat Option Microbiologie Alimentaire. Université d'Oran 1- ABB. Algérie. P: 52.60.
- Kajal M. F. I., Wadud A., Islam M.N., Sarma P.K. (2012). Evaluation of some chemical parameters of powder milk available in Mymensingh town. *Jou. the Bangladesh Agricultural University.* 10 (1), P: 95–100.
- Kalyankar S.D., Deshmukh M.A., Chopde S.S., Khedkar C.D., Lule V.K., Deosarkar S.S. (2016). Milk Powder. In: Caballero, B., Finglas, P., and Toldrá, F.(eds.). *The Encyclopedia of Food and Health.* Oxford : Academic Press. 3, P: 724-728.

Références bibliographiques

- Kalyantanda G., Shumyak L., Archibald L. K. (2015). *Cronobacter* species contamination of powdered infant formula and the implications for neonatal health. *Jou. Frontiers in Pediatrics*, 3 (56), P: 1-5.
- Kandhai M. C., Reij M. W., Van Puyvelde K., Guillaume-Gentil O., Beumer R. R., Van Schothorst M. (2004). A new protocol for the detection of *Enterobacter sakazakii* applied to environmental samples. *Jou. Food Protection*. 67 (6), P: 1267-1270.
- Keck Frédéric (2009). L'affaire du lait contaminé. Perspectives Chinoises. N: 2009/1. P: 96-101.
- Kelly A.L., Patrick F.F. (2016). Manufacture and properties of Dairy Powders. School of Food and Nutritional Sciences. PLH Mc Sweeney J.A. O'Mahony. *Advanced Dairy Chemistry*. New York. London, P: 1-27.
- Kent G. (2015). Global infant formula: monitoring and regulating the impacts to protect human health. *Jou. Breast-feeding*. 10. P: 6.
- Kent R.M., Fitzgerald G. F., Hill C., Hill C., Ross R.P. (2015). Novel approaches to improve the intrinsic microbiological safety of powdered infant milk formula. *Nutrients*, 7, 1217- 1244; doi: 10.3390/nu7021217.
- Kherbouche H. (2014). Influence d'un traitement à Ultrason sur la thermorésistance de spores de Bacilles sp. isolées de poudre de lait. Mémoire de master. Option: Microbiologie. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen, P: 4-5.
- Korsak N., Clinquart A., Daube G. (2004). *Salmonella* spp. dans des denrées alimentaires d'origine animale: un réel problème de santé publique. *Jou. Les annales de médecine vétérinaire*, 148 (4). P: 174-193.
- Lampel K. A., Chen Y. (2009). Method for the isolation and detection of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter*) from powdered infant formula. *Jou. Food Microbiology*. 136 (2), P: 179-184.
- Lang E., Guyot S., Peltier C., Alvarez-Martin P., Perrier-Cornet J. M., Gervais P. (2018). Cellular injuries in *Cronobacter sakazakii* CIP 103183T and *Salmonella enterica* exposed to drying and subsequent heat treatment in milk powder. *Frontiers in Microbiology*, 9 (475), P: 1-10.
- Le ministère de l'économie de l'industrie et de l'emploi (2009). Spécification technique de l'achat public de laits et produits laitiers. *Direction des affaires juridiques*. P: 7-11.
- Lebres E.A., Mouffok F. (1999). Guide pratique d'analyses microbiologiques des denrées alimentaires. Service de Bactériologie Alimentaire. Institut Pasteur d'Algérie. DATA non publié, P: 1-25.
- Leclercq M. (2006). *Enterobacter sakazakii*: Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments. AFSSA. De l'Agence Française de sécurité sanitaire des aliments. P: 6.
- Lesley M. B., Ernie S.R., Kasing A., Son R. (2017). Detection of *Bacillus cereus* in formula milk and ultra-high temperature (UHT) treated milk products. *Jou. Food Research*. 24 (3), P: 985-989.
- Li Cari J. J., Potter N. N. (1970). *Salmonella* survival during spray drying and subsequent handling of skim milk powder. I. *Salmonella* Enumeration. *Jou. Dairy Science*. Vol. 53, N: 7.
- Luquet F. M. (1990). Laits et produits laitiers vache, Brebis, Chèvre. 2ème édition: Tec et Doc. Lavoisier, France. P: 3-6.
- Luquet F.M. (1985). Lait et produits laitiers vache, Brebis, Chèvre. Edition: Tec et doc. Lavoisier. Paris. P: 3.

Références bibliographiques

- Luquet (1986). Lait et produits laitiers, Vache, Brebis, Chèvre, V3. Ed. Abrégé de Biochimie Alimentaire. Edition Tec et Doc Lavoisier France.
- Mabrook M.F., Petty M.C. (2003). Effect of composition on the electrical conductance of milk. *Jou. Food Engineering*. 60. P: 321-325.
- Majdi A. (2008). Stage au centre professionnel d'agroalimentaire de cité El Khadra. Institut national agronomique de Tunisie.
- Majeed K. R., Al- Shatty S. M. H., Al- Ka'abi A. A. K. (2002). Microbial examination of some imported powder milk+. *Iraqi Standards of Milk Products*. University of Basrah. Iraq. P: 1-5.
- Marth E. H. (1969). *Salmonella* and salmonellosis associated with milk and milk products. A review. *Jou. Dairy Sci*. 52. P: 283-315.
- Mathieu (1998). Initiation à la physico- chimie du lait Ed. Tec et Doc. Lavoisier. Paris-France.
- Mc Mullan R., Menon V., Beukers A. G., Jensen S. O., Van Hal S. J., Davis R. (2018). *Cronobacter sakazakii* infection from expressed breast milk, Australia. *Jou. Emerg. Infect. Dis*. 24, P: 393-394.
- Menad Nadjet (2010). Pouvoir antagoniste des probiotiques vis-à-vis *Salmonella typhimurium* chez les souris NMRI SWISS, Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Magister en: Microbiologie Alimentaire et Industrielle. Université d'Oran Es Sénia. P: 16.
- Nassib T.A., El-Din M.Z., El- Sharoud W.M. (2003). Assessment of the presence of *Salmonella* spp. in Egyptian dairy products using various detection media. *Letters in Applied Microbiology*, 37, P: 405- 409, doi:10.1046/j.1472-765X.2003.01420.x.
- Norberg S., Stanton C., Ross R.P., Hill C., Fitzgerald G.F., Cotter P.D. (2012). *Cronobacter* spp. in Powdered Infant Formula. A review. *Jou. Food Protection* 75, P: 607- 620.
- Odumeru Joseph A., León-Velarde Carlos G. (2012). *Salmonella* detection methods for food and food ingredients. Chapter 17. In: Edited by Barakat S. M. Mahmoud (*Salmonella* A dangerous food borne pathogen). Published by *Intech Janeza Trdine* 9, 51000 Rijeka, Croatia. P: 373.
- Olga R. (2013). Some aspects of the formation of emulsions and foams in food industry. Ternopil Ivan Pul'uj National Technical University. Ternopil. *Ukrainian Jou. Food Science*. Ukraine. 1, P: 41-47.
- Ombui J. N., Schmieger H., Kagiko M. M., Arimi S. M. (1997a). *Bacillus cereus* may produce two or more diarrheal enterotoxins. *FEMS Microbiol Lett*. 149, P: 245-248.
- OMS (2015). Maladies d'origine alimentaire: près d'un tiers des décès surviennent chez les enfants de moins de 5 ans. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/foodborne-disease-estimates/fr/>.
- Osaili T. M., Al-Nabulsi A. A., Shaker R. R., Al-Holy M. M., Al-Haddaq M. S., Olaimat A. N., Ayyash M. M., Al-Ta'ani M. K., Forsythe S. J. (2010). Efficacy of the thin agar layer method for the recovery of stressed *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*). *Jou. Food Protection*. 73 (10), P: 1913-1918.
- Pal M., Alemu J., Mulu S., Karanfil O., Parmar B. C. Nayak J. B. (2016). Microbial and Hygienic Aspects of dry Milk Powder. *Jou. Beverage and Food World* - Vol. 43 - No. 7, P: 28-31.
- Pal Mahendra, Ayale Yodit, Molnar Judit (2019). *Cronobacter sakazakii*: An Emerging Foodborne Bacterial Pathogen of Public Health Significance. *Jou. Acta Scientific Microbiology*. 2 (11). P: 111-115.

Références bibliographiques

- Park J.K., Seok W.S., Choi B.J., Kim H.M., Lim B.K., Yoon S.S. (2004). *Salmonella enterica* serovar *London* infections associated with consumption of infant formula. *Jou. Yonsei Med.* 45. P: 43-8.
- Pointurier H. (2003). La gestion matière dans l'industrie laitière. Ed Tec et Doc. Lavoisier. France. P: 64.
- Proudy Isabelle (2009). *Cronobacter* spp.(« *Enterobacter sakazakii*» sensu lato): implication dans la contamination des préparations en poudre pour nourrissons et enfants en bas âge. *Rev. can.microbiol.*55, P: 473-500. Doi: 10. 1139/ W08-131.
- Pubert C. (2012). Le lait de vache dans l'alimentation du nourrisson, avantages et inconvénients. Thèse pour obtenir le diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Département de Pharmacie. Université d'Angers France.16, P: 50-61.
- Qiongqiong Yan, Karen Power A., Ben Tall D., Seamus Fanning (2013). *Cronobacter* spp. (formerly *Enterobacter sakazakii*). *Jou. Guide to Foodborne Pathogens*, P: 241-256.
- Rajani C.S.R., Chaudhary A., Swarna A., Puniya A. K. (2016). Identification and Virulence of *Enterobacter sakazakii*. *Jou. Food & Industrial Microbiology*.2 (108). P: 1- 4. Doi:10.4172/2572-4134.1000108.
- Rajkovic A., Uyttendaele M., Dierick K., Samapundo S., Botteldoorn N., MahillonJ., HeyndrickxM. (2008). Risk profile of the *Bacillus cereus* group implicated in food poisoning. CSS- HGR 8316.Public health implications of *Bacillus cereus* in food. Report for the superior health council. Belgium. 22 (12). P: 3.
- Rajput I.R., Khaskheli M., Rao S., Fazlani S.A., Shah Q.A., Khaskheli G.B. (2009). Microbial Quality of Formulated Infant Milk Powders. *Pakistan Jou.Nutrition*.University of Agriculture, Water and Marine Sciences, Uthal Balochistan. Asian Network for Scientific Information. Pakistan. 8, P: 1665-1670.
- Ray P., Das A., Gautam V., Jain N., Narang A., Sharma M. (2007). *Enterobacter sakazakii* in infants: Novelphenomenon in India. *Jou. Med. Microbiol.* 25, P: 408.
- Rezende-Lago NCM., Rossi OD., Vidal-Martins AMC., Amaral LA. (2007). Occurrence of *Bacillus cereus* in whole milk and enterotoxigenic potential of the isolated strains.*Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia*; 59(6), P: 1563-1569.
- Rezkellah S., Mekhnache F. (2013). Etude de l'influence de la qualité microbiologique (lait cru, poudre du lait) sur le lait pasteurisé. Mémoire Master. Option: Biotechnologies, Agro Ressources, Aliment, Nutrition. Université Abderrahmane Mira. Bejaia. Algerie.
- Richter J. (2001).Holding Corporations Accountable: Corporate Conduct, International Codes, and Citizen Action. London: Zed Books.
- Richter J., Becker H., Martlbauer E. (2000). Improvement in *Salmonella* detection in milk and dair. y products: Comparison between the ISO method and the Oxoid SPRINT *Salmonella* test. *Letters in Applied Microbiology*, 31, P: 443-448.
- Ronimus R.S., Rueckert A., Morgan H.W. (2006).Survival of thermophilic spore- forming bacteria in a 90+ year old milk powder from Ernest Shackelton's Cape Royds Hut in Antarctica. *Jou. Dairy Research*. doi:10.1017/S0022029906001749 Printed in the United Kingdom
- Rossi Gabriel Augusto Marques, Carlos Eduardo Gamero Aguilar, Higor Oliveira Silva, Maria Centola Vidal (2018). *Bacillus cereus* group: genetic aspects related to food safety and dairy processing *Food Safety / Review Article* Arq. Inst. Biol., v.85, 1- 7, e0232017.
- Sadek Z. I., Refaat B.M., Abdel-shakour E.H., Nayra S.H. Mehanna, Hassan M.S. (2015). Potential sources of aerobic and anaerobic spore former bacteria in processed cheese. *Jou. Research Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6, 1830-1837, 0975- 8585. P: 105- 769.

Références bibliographiques

- Sadek ZI., Fathi FA., Salem MME. (2006). Incidence, survival and biocontrol of psychrotrophic *Bacillus cereus* and its potential for toxin production in milk and tallaga cheese. *Polish. Jou. Food and Nutrition Sciences*; 15/56(4), P: 419-425.
- Sadiq F. A., Li Y., Liu T., Flint S., Zhang G., He G. (2016). A RAPD based study revealing a previous lyun reported wide range of mesophilic and thermophilic spore formers associated with milk powders in China. *Jou. Food Microbiology*. 217. P: 200-208.
- Sala F.S., Ibarz P., Palop A., Raso J., Condon S. (1995). Sporulation temperature and heat resistance of *Bacillus subtilis* at different pH values. *Jou. Food Protection*, Vol. 58, No.3, P: 239-243.
- Scurrah K.J., Robertson R.E., Craven H.M., Pearce L.E., Szabo E.A. (2006). Inactivation of *Bacillus* spores in reconstituted skim milk by combined high pressure and heat treatment. *Jou. Applied Microbiology*. ISSN. P: 1364-5072.
- Shadlia-Matug M., Aidoo K.E., Candlish A.A., Elgerbi A.M. (2008). Evaluation of some antibiotics against pathogenic bacteria isolated from infant foods in north africa. *Jou. The Open Food Science*. Volume 2. P: 95-101.
- Shaker R. R., Osaili T. M., Abu AlHasan A. S., Ayyash M. M., Forsythe S. J. (2008). Effect of desiccation, starvation, heat, and cold stresses on the thermal resistance of *Enterobacter sakazakii*. inrehydrated infant milk formula. *Jou. Food Science* 73(7), P: 354-359.
- Shareef Adeeba Y., Fathi Najlaa A., Noori Hanan S. (2012). Detection of the ability of isolated *Enterobacter sakazakii* from powdered milk for enterotoxins production. *Jou. College of Basic Education*. 12 (1). P: 692-706.
- Shiamee, M.A., Naji Ajmi R. (2016). Microbial Quality of infant formula milk powder in Baghdad City. *Jou. Scientific & Engineering Research*, Vol 7, Issue 4. P: 214-216.
- Soceanu A., Popescu V., Dobrinas S. (2015). Physico-chemical characterisation of some samples of fresh milk and milk powder. *Ovidius University Annals of Chemistry*. Romania. 26, P: 57-60.
- Stoeckel M., Ehling- Schulz M., Hinrichs J., Lücking G., Atamer Z. (2016). Bacterial spores isolated from ingredients, intermediates and final products obtained from dairies: thermal resistance in milk. *Jou. Dairy Sci. & Technol*. 96, P: 569-577. DOI 10.1007/s13594- 016-0279-0.
- Stoeckel M., Westermann A.C., Atamer Z., Hinrichs J. (2013). Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores in infant formula under shear conditions. *Jou. Dairy Sci. & Technol*. 93, P: 163-175.
- Tahoun A.B. M. B., N. Abdelfatah, E. (2015). Microbiological status of rehydrated infant formula milk powder versus expressed breast milk for Neonates. *Food Control*, Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig University, 44511, Egypt. *Jou. Zagazig Veterinary*. Vol 43, Num 3, P: 1-9.
- Taleb A. (2016). Contrôle et qualité d'un lait déshydraté. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie. Option: Sciences des aliments. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen. Algérie.
- Thieulin G., Vuillaume R. (1967). Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris. P: 71-73.
- Thomas A., Chamba J. F. (2000). Mise en évidence de l'évolution des aptitudes technologiques des bactéries lactiques thermophiles utilisées dans les fromages à pâte pressée cuite. *Sciences des aliments* .20, P: 159-167.

Références bibliographiques

- Thompson T. (2010). Appendix III. *Food Safety Survey Report - Microbiological Quality of Infant Formula*. In: GoS Australia (eds). Food Act Report Year ending 30 June 2010. Adelaide: Government of South Australia.
- Threfall E. J., Ward L. R., Hampton M. D., Ridley A. M., Rowe B., Roberts D. (1998). Molecular fingerprinting defines a strain of *Salmonella enterica* serotype *Anatum* responsible for an international outbreak associated with formula-dried milk. *Jou. Epidemiol. Infect.* 121. P: 289-93.
- Tong P.M. (2015). Detection and enumeration of *Bacillus cereus* in formula milk and ultra-high temperature (UHT) treated milk products. Kuching, Malaysia: Universiti Malaysia Sarawak.
- Usera M. A., Echeita A., Aladuena A., Blanco M. C., Reymundo R., Prieto M. I. (1996). Interregional foodborne salmonellosis outbreak due to powdered infant formula contaminated with lactose-fermenting *Salmonella* Virchow. *Jou. Epidemiol.* 12. P: 377-81.
- Valero, M., Fernandez, P. S., Salmeron, M. C. (2003). Influence of pH and temperature on growth of *Bacillus cereus* in vegetable substrates. *Jou. Food Microbiology*. 82, P: 71-79.
- Valero, M., Hernandez, Herrero, L. A., Giner, M. J. (2007). Survival, isolation and characterization of a psychrotrophic *Bacillus cereus* strain from a mayonnaise based ready to eat vegetable salad. *Jou. Food Microbiology*. 24, P: 671-677.
- Vassiliadis P., Kalapothaki V., Mavrommati Ch.D., Trichopoulos A. (1984). Comparison of the original Rappaport medium (R medium) and the Rappaport- Vassiliadis medium (RV-medium) in the isolation of salmonellae from meat products. *Jou. Hyg. Camb*, 93, P: 51-58.
- Vassiliadis P., Mavromati Ch., Trichopoulos D., Kalapothaki V., Papadakis J. (1987). Comparison of procedures based upon Rappaport- Vassiliadis medium with those using Muller- Kauffmann medium containing Teepol for the isolation of *Salmonella* sp. *Jou. Epidem. Inf*, 99, P: 143-147.
- Vierling E. (2003). Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doina éditeurs, centre régional de ladocumentation pédagogique d'Aquitaine. P: 11.
- Vignola C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. P: 3-75.
- Wiebe C.G. (1999). Incidence and spread of *Bacillus cereus* in a milk powder plant as determined by phenotypic and molecular typing of isolated strains. Berlin: Freie Universitat Berlin.
- Wijnands L. M., Dufrenne, J. B., Zwietering, M. H., Van Leusden, F. M. (2006b). Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strains germinate better and grow faster in simulated gastrointestinal conditions than spores from psychrotolerant strains. *Jou. Food Microbiology*. 112, P: 120-128.
- Wijnands L. M., Dufrenne, J.B., Van Leusden F.M. (2002). The pathogenic mechanism of the diarrhoeal syndrome caused by *Bacillus cereus*. The National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands.

Annexe 01**Tableau 01:** Composition moyenne du lait entier.

Composants	Teneurs (g/100g)
Eau	89.5
Dérivés azotés	3.44
Protéines	3.27
Caséine	2.71
Protéines solubles	0.56
Azote non protéique	0.17
Matières grasses	3.5
Lipides neutres	3.4
Lipides complexes	<0.05
Composés liposolubles	<0.05
Glucides	4.8
Lactose	4.7
Gaz dissous	5% du volume du lait
Extrait sec total	12.8g

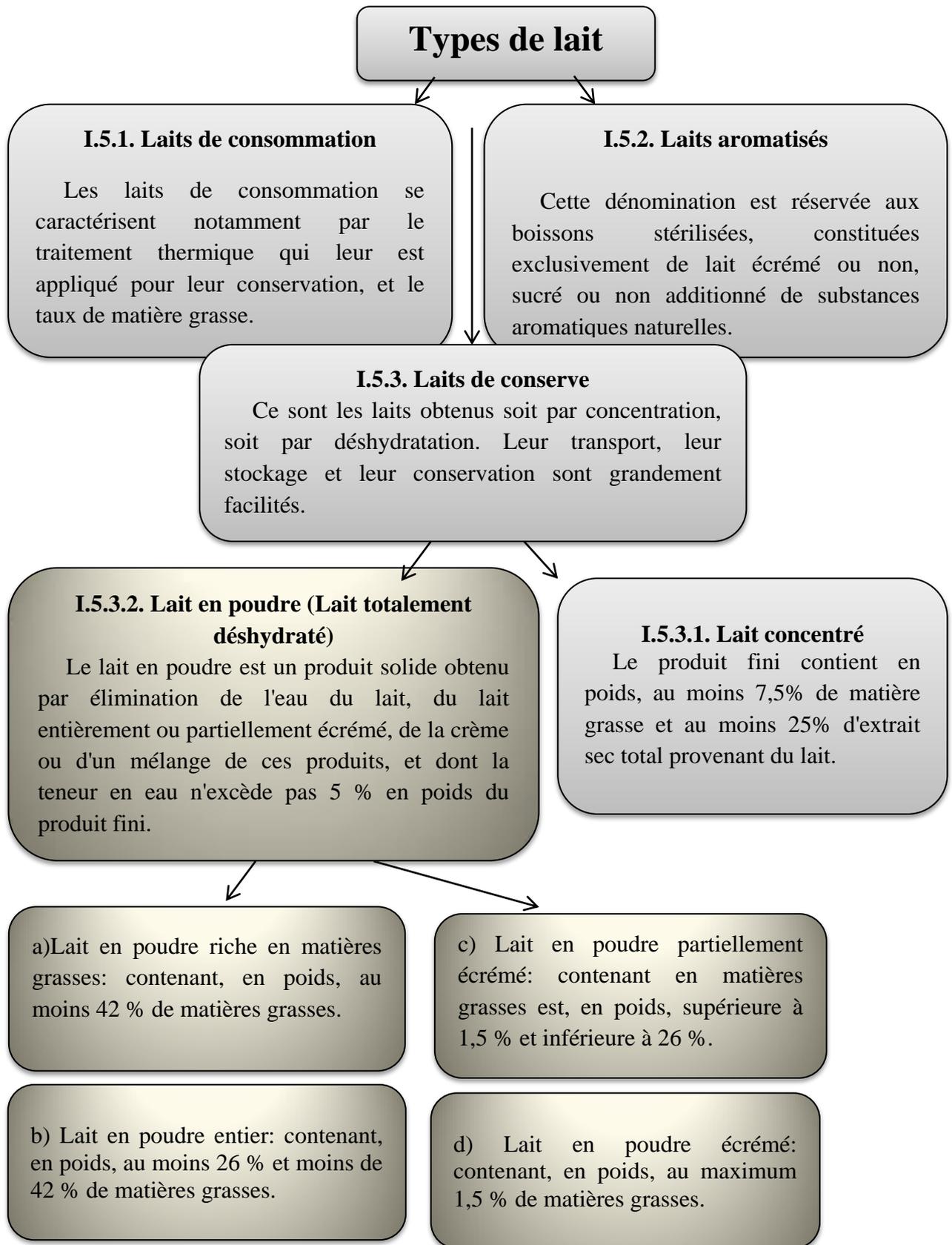


Figure 01: Représente les différents types du lait.

Tableau 02: Composition des formules infantiles, lait humain et lait de vache.

Compositions \ Lait	Lait infantile	Lait humain	Lait de vache
Energie (kcal/100mL)	60-75	67	65
Protéines (g/100mL)	1,2-1,8	1,1	3,7
Caséines	30%-80%	40 %	80 %
Protéines solubles	20%-70%	60 %	20 %
Lipides (g/100mL)	3,1-3,8	3,9	3,4
Acide linoléique(mg)	500	350	80
Glucides (g/100mL)	7	6,8	4,5
Lactose	75%	85 %	100 %
Fer (mg/100mL)	0,5-1,5	0,06	0,05
Ca (mg/100mL)	46-93	33	125

Kcal: kilo cal, **Ca:** Calcium.

Tableau 03: Caractéristiques biochimiques de *Salmonella* sp.

Lactose	-
ONPG (Orthonitrophényl-β-D-Galactopyranoside)	-
H ₂ S (production de sulfure d'Hydrogène)	+ (Sauf <i>S. Typhi</i> , <i>S. Paratyphi A</i> <i>Choleraesuis</i> et <i>Gallinarum</i>)
Gaz (Glucose)	+ (Sauf <i>Typhi</i>)
LDC (Lysine-Décarboxylase)	+ (Sauf <i>S. Paratyphi A</i>)
ODC (Ornithine-Décarboxylase)	+ (Sauf <i>S. Typhi</i>)
ADH (Arginine-Dihydrolase)	-
Uréase	-
TDA (Tryptophane-Désaminase)	-
Indole	-
Gélatinase	-
VP (test de Voges-Proskauer)	-
RM (Rouge de Méthyle)	+
Citrate de Simmons	- (Sauf <i>S. Typhi</i> et <i>S. Paratyphi A</i>)
Adonitol	-
Glycérol	-
DNase	-
Galacturonate	-

Tableau 04: Flambées de salmonellose au cours de la période 1985-2005 liées à des préparations pour nourrissons en poudre(PIF).

Localisation	Année	Nombre de nourrissons infectés	Sérotype <i>Salmonella</i>	Vecteur
Royaume-Uni	1985	48	<i>Ealing</i>	PIF
États-Unis, Canada	1993	≥3	<i>Tennessee</i>	PIF
Espagne	1996	≥48	<i>Virchow</i>	PIF
Royaume-Uni, France	1996-1997	17	<i>Anatum</i>	PIF
Korea	2000	30	<i>London</i>	PIF
France	2004-2005	141	<i>Agona</i>	PIF

Préparation de l'échantillon /pré-enrichissement: prise d'essai de 25g du produit testé, à diluer 1/10 dans 225ml d'eau peptonée.

Incubation 37°C pendant 18h.

Enrichissement sélectif dans deux milieux différents: transfert en double de 0.1 ml de la culture en eau peptonée dans 10 ml de R-V et 1ml de la culture en eau peptonée dans 100ml de SFB (dilution 1/100).

- Le premier tube de R-V.
- Le premier flacon de SFB.

- Le deuxième tube de R-V.
- Le deuxième flacon de SFB.

Incubation 37°C pendant 24h.

Incubation 42°C pendant 24h.

Isolement sur 2 géloses Hektoen et BLVBRP sélectif.

Incubation 37°C pendant 24h.

- Colonies roses entourées d'une zone rouge sur gélose BLVBRP.
- Colonies le plus souvent gris bleu à centre noir sur gélose Hektoen.

Conformation par caractérisation morphologique (état frais, coloration de Gram) et biochimique (API 20E).

Figure 02: Méthode de (routine) recherche de *Salmonella* sp. (AFNOR NF 08.052).

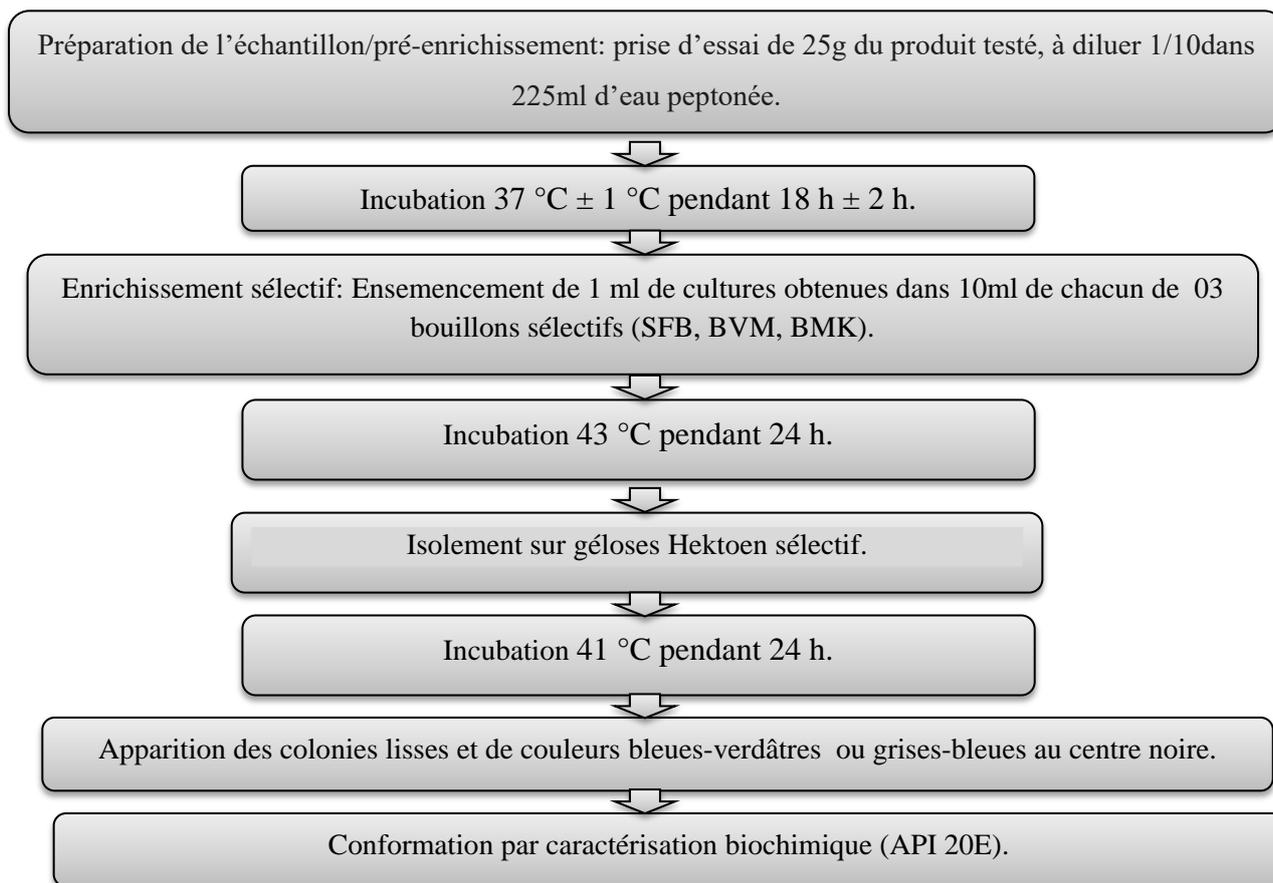


Figure 03: Méthode horizontale pour la recherche et de dénombrement de *Salmonella* sp. (J.O.R.A. N° 44/ 2017).

Tableau 06: De synthèse – illustrant les épidémies à *C. sakazakii* à travers le monde.

Référence	Année	Pays	Nombre de malades	Souche	Pouvoir pathogène
Henry et Fouladkhah, 2019	1958	Angleterre	2	<i>C. sakazakii</i>	Septicémie
Bowen et Braden, 2006	1961	Angleterre	2	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1965	Danemark	1	<i>Enterobacter</i>	Méningite
Henry et Fouladkhah, 2019	1979	Macon, Géorgie	1	<i>C. sakazakii</i>	Une septicémie
Bowen et Braden, 2006	1979	Géorgie, USA	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1977-1981	Pays- Bas	8	<i>C. sakazaki</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1980	Indianapolis, Indiana	2	<i>C. sakazakii</i>	Fièvre et d'épisodes de crise
Henry et	1981	Oklahoma-	1	<i>C. sakazakii</i>	Fièvre,

Annexes

Fouladkhah, 2019		City, Oklahoma			grognements, fatigue
Bowen et Braden, 2006	1981	Inde, USA, Oklahoma	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1982	la Grèce	Plusieurs cas	<i>C. sakazakii</i>	ND
Proudy, 2009	1983	Danemark	8	<i>C. sakazakii</i>	ND
Bowen et Braden, 2006	1983	Pays- Bas	8	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1984	la Grèce	11	<i>C. sakazakii</i>	ND
Bowen et Braden, 2006	1985	Missouri, USA	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1986-1987	Reykjavik, Islande	3	<i>C. sakazakii</i>	Méningite
Proudy, 2009	1988	Tennessee, États- Unis	4	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1988	États- Unis	2	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1988	Memphis, Tennessee, États- Unis	4	<i>C. sakazakii</i>	Bactériémie, infection des voies urinaires
Henry et Fouladkhah, 2019	1989	Porto, Portugal	187	<i>C. sakazakii</i>	Méningite
Bowen et Braden, 2006	1989	Islande, USA, Tennessee	3	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1990	Maryland, USA	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Gallagher et Ball, 1991	1990	Ohio	1	<i>C. sakazakii</i>	Fièvre, méningite
Bowen et Braden, 2006	1991	Ohio, USA	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1993–1998	Jérusalem, Israël	4	<i>C. sakazakii</i>	Méningite
Henry et Fouladkhah, 2019	1994	France	13	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	1998	Bruxelles, Belgique	12	<i>C. sakazakii</i>	Entérocolite nécrosante néonatale
Henry et Fouladkhah, 2019	1999-2000	Jérusalem, Israël	2	<i>C. sakazakii</i>	Problèmes neurologiques
Henry et Fouladkhah, 2019	2000	Caroline du Nord, États- Unis	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Bowen et Braden, 2006	2001	Israël Belgique	2 1	<i>C. sakazakii</i>	ND

Annexes

Henry et Fouladkhah, 2019	2001	Knoxville, Tennessee, USA	1	<i>C. sakazakii</i>	Une tachycardie, une perfusion vasculaire
Poudy, 2009	2001	Tennessee, États- Unis	10	<i>C. sakazakii</i>	ND
Bowen et Braden, 2006	2002	Israël	2	<i>C. sakazakii</i>	ND
Poudy, 2009	2002	Belgique	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	2002	Wisconsin, États- Unis	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	2002	Chandigarh, Inde	1	<i>C. sakazakii</i>	Septicémie avec méningite
Henry et Fouladkhah, 2019	2003	USA	6	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	2004	France	2	<i>C. sakazakii</i>	ND
Proudy, 2009	2004	Nouvelle-zélande	5	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	2004	USA	2	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	2005	États- Unis	2	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	2006	Chandigarh, Inde	1	<i>C. sakazakii</i>	Septicémie
Henry et Fouladkhah, 2019	2007	Bilbao, Espagne	1	<i>C. sakazakii</i>	Septicémie
Henry et Fouladkhah, 2019	2010	Queretaro, Mexique	2	<i>C. sakazakii</i>	Diarrhée sanglante
Henry et Fouladkhah, 2019	2011	Missouri, Floride, Oklahoma et Illinois, États- Unis	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	2015	Sydney, Australie	1	<i>C. sakazakii</i>	ND
Henry et Fouladkhah, 2019	2016	Pennsylvanie, États- Unis	1	<i>C. sakazakii</i>	ND

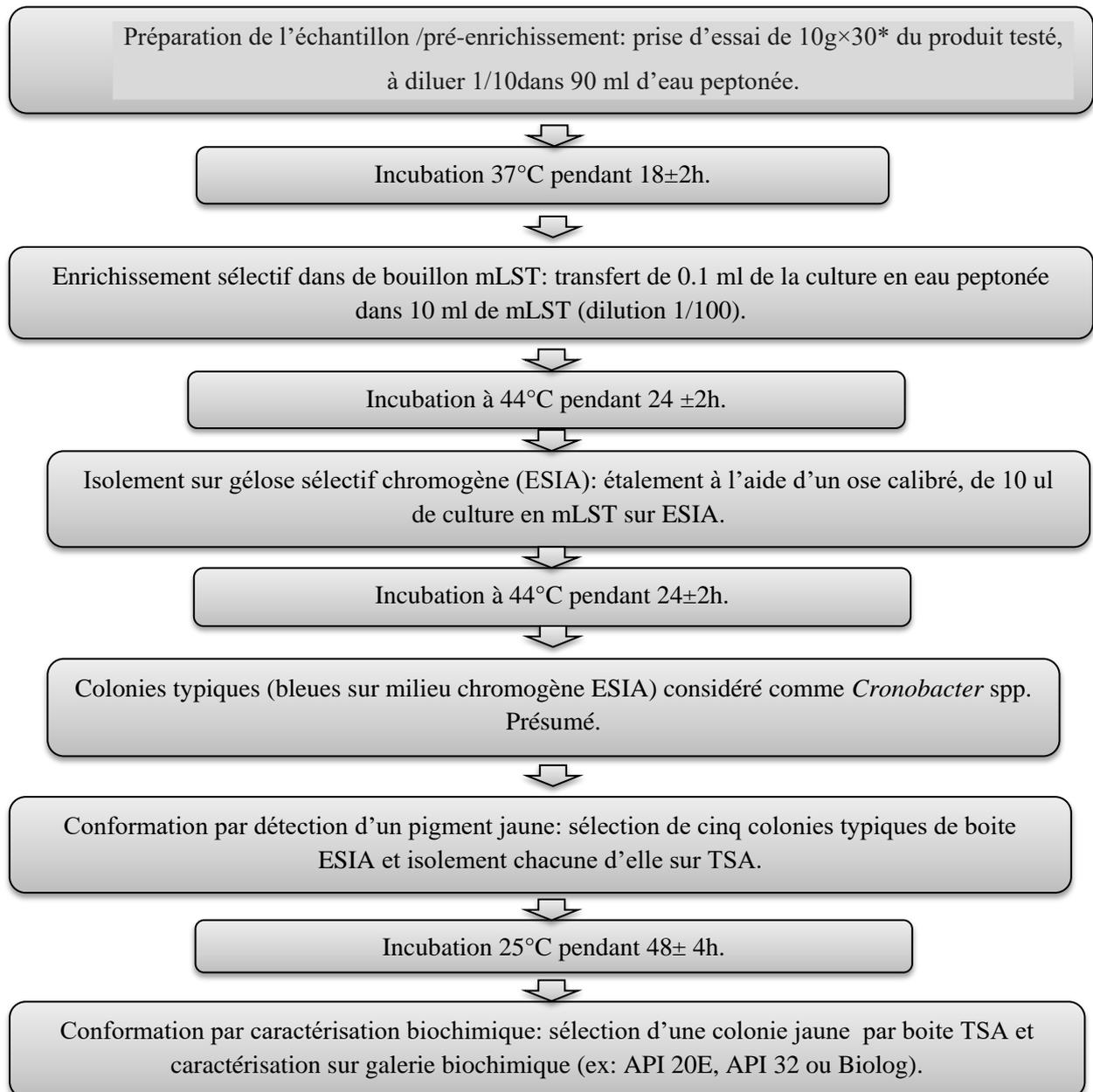


Figure 04: Méthode de recherche et de dénombrement de *Cronobacter* sp. (ISO/TS 22964) (Proudy, 2009).

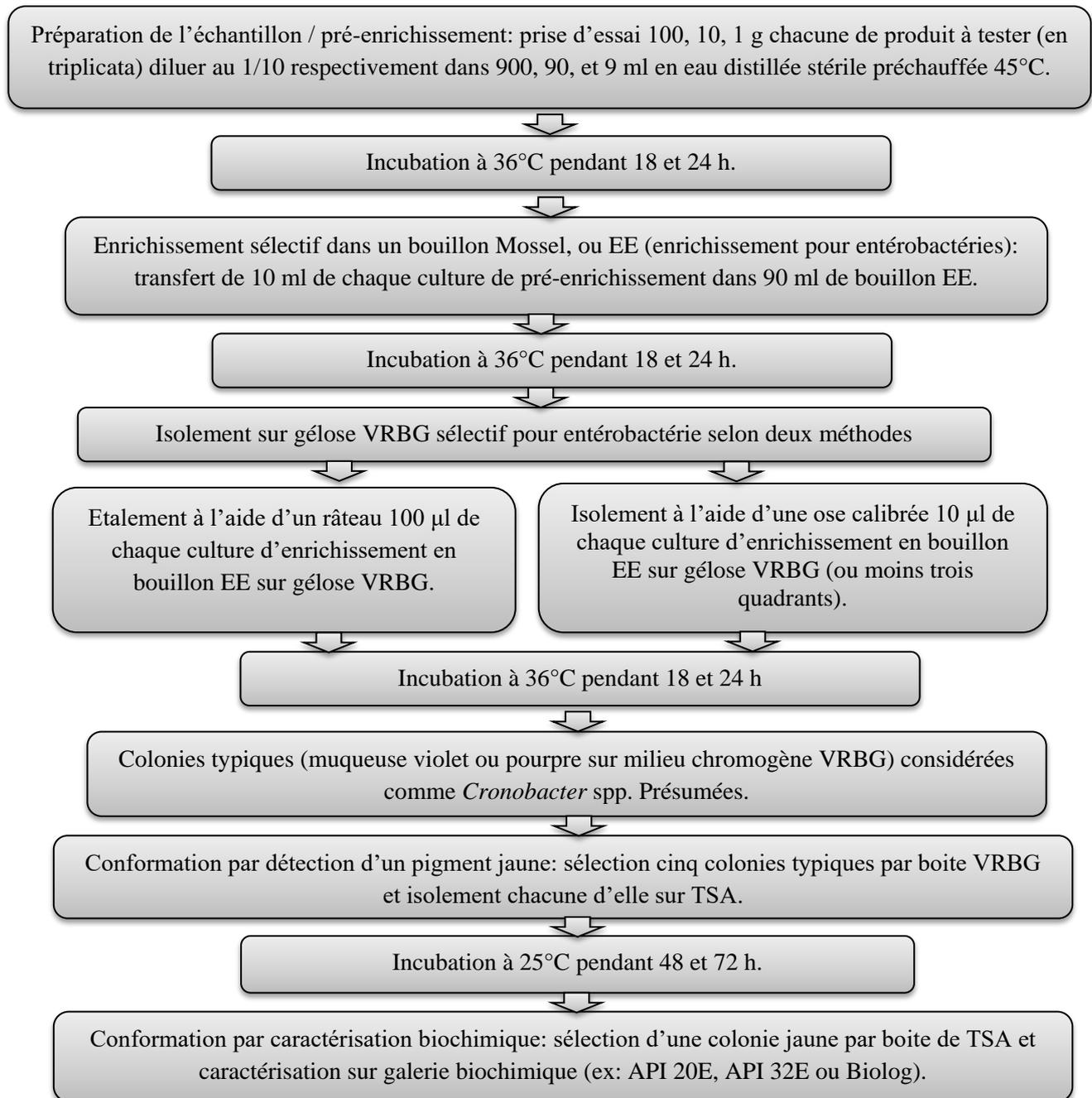
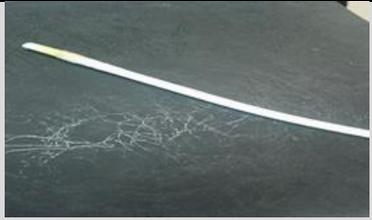
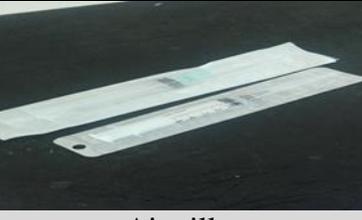


Figure 05: Méthode de recherche et de dénombrement de *Cronobacter* sp. FDA/2002 (Proudy, 2009).

Annexe 02

Tableau: Illustre les accessoires et les verreries utilisés

Accessoires	
	
Barreau magnétique	Cuillère
	
Film transparent	Micropipette
	
Papier aluminium	Pince
	
Pissette	Portoir
	
Rubans	Marqueur
	
Parafilm	Etiquettes

	
Sachets d'emballage	Embouts
	
Ciseau	Couteau
	
Baguette	Aiguilles
	
Gants	
Verreries	
	
Béchers	Tubes à essais
	
Entonnoirs	Eprouvettes graduées
	
Erlenmeyers	Fioles jaugé

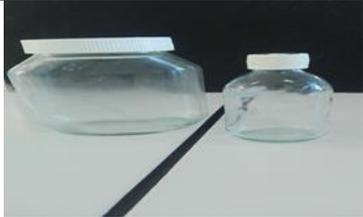
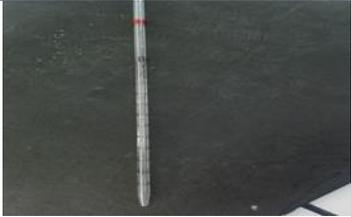
 <p>Flacons</p>	 <p>Pipettes graduées</p>
 <p>Pipettes Pasteur</p>	

Tableau: Illustre le matériel lourd (appareils) utilisé.

Matériel	Référence
 <p>Réfrigérateur</p>	<p>Samsung®, Algérie</p>
 <p>Congélateur</p>	<p>Samsung®, Algérie</p>
 <p>Etuve</p>	<p>Memmert (Germany)</p>
 <p>Bain marie</p>	<p>Memmert (Germany)</p>

 <p>Balance de pression</p>	<p>KERN ALS220-4N(Germany)</p>
 <p>Compteur de colonies</p>	<p>J.P.SELECTA ,s,a (Spain)</p>
 <p>Agiteur magnétique</p>	<p>AGIMAIC-E</p>
 <p>Hote microbiologique</p>	<p>STERIL-GEMINI(Italy)</p>
 <p>Distillateur</p>	<p>Buchl Distillation Unite K-350 (Switzer)</p>
 <p>Vortex</p>	<p>Ficher Scientific FB15024</p>
 <p>Bec -Bunsen</p>	<p>ITEGRA-Biosciences®, model FIREBOY eco, bec-Bunsen</p>

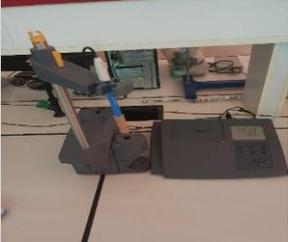
 <p>Autoclave</p>	<p>SANOCLAV LaM-3-20-ECZ-J</p>
 <p>Four Pasteur</p>	<p>Memmert type UNB-400Germany</p>
 <p>Conductimètre</p>	<p>Tertracon®325(Allemagne)</p>
 <p>pH mètre</p>	<p>Inolabe pH370(Germany)</p>
 <p>Viscosimètre</p>	
 <p>Densitomètre</p>	

Tableau: Illustre la composition (g/l) des milieux de cultures utilisés.

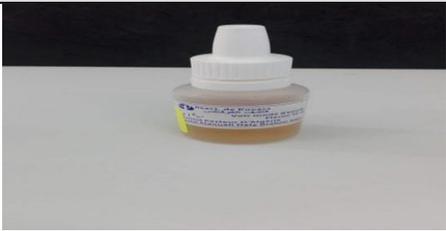
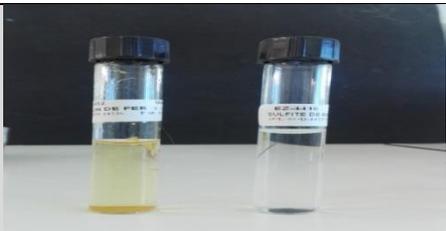
Milieu de culture	La composition	La quantité	pH	La stérilisation
Milieu solide				
Chapman	Extrait de levures	2.5g	7	Autoclaver 15 minutes à 120°C
	Peptone de caséine	10g		
	Gélatine	30g		
	Lactose	2g		
	Chlorure de sodium	75g		
	Phosphate dipotasique	5g		
	Gélose	12g		
Hektoen	Protéose-peptone	12g	7.6	Stériliser par 5 minutes d'ébullition (ne pas autoclaver)
	Extrait de levure	3g		
	Lactose	12g		
	Saccharose	12g		
	Salicine	2g		
	Sels biliaires	9g		
	Chlorure de sodium	5g		
	Triosulfate de sodium	5g		
	Citrate ferrique ammoniacal	1,5g		
	Bleu de bromothymol	65mg		
	Fuchsine acide	0.1g		
	Agar (gélose)	13mg		
	PCA	Peptone		
Extrait de levure		2,5g		
Glucose		1g		
Agar		15g		

VRBG	Extrait de levures	5g	7.4	Stériliser par 15 minutes d'ébullition (ne pas autoclaver)
	Peptone	7g		
	Sels biliaires	1.5g		
	Glucose	10g		
	Chlorure de sodium	5g		
	Rouge neutre	30mg		
	Cristal violet	2mg		
	Agar	12g		
Viande Foie (VF)	Peptone viande- foie	30g	7,6 ±0,2	Autoclaver 15 minutes à 120°C
	Glucose	1g		
	Amidon soluble	1g		
	Sulfite de sodium	0.5g		
	Citrate de fer ammoniacal	0.5g		
	Agar	8g		
Milieu liquide				
Eva Lytski	Peptone	20g	7	Autoclaver 20 minutes à 115°C
	Glucose	5g		
	Chlorure de sodium	5g		
	Phosphate dipotasique	2.7g		
	Phosphate monopotasique	2.7g		
	Acide de sodium	0.3g		
	Ethyl-violet	0.5g		
Bouillon Giolitti er Cantoni (GC)	Peptone de caséine	10g	6,9 ±0,1	Autoclaver 20 minutes à 115°C
	Extrait de viande	5g		
	Extrait de levure	5g		
	Pyruvate de sodium	3g		
	Chlorure de sodium	5g		
Bouillon Muller	Tryptone	7g	7,3	Stériliser par 5 minutes d'ébullition (ne pas autoclaver)
	Extrait de viande	1g		
	Extrait de levure	2g		
	Peptone	5g		
	Vert brillant	9.5mg		

Kaufman (BM)	NaCl Iode IK iodure Na ₂ S ₂ O ₃ CaCo ₃	5g 6g 5g 40.7g 25g	7.3	
Bouillon Roth	Peptone Glucose Acide de sodium NaCl Hydrogénophosphate de potassium Dihydrogénophosphate de potassium	2g 5g 0,2g 5g 2,7g 2,7g	7	Autoclaver 20 minutes à 115°C
Bouillon Sélénite-cystéine (SFB)	Tryptone Lactose Phosphate disodique Sélénite acide de sodium Cystine	5g 4g 10g 4g 100mg	7,6	Stériliser par 10 minutes d'ébullition (ne pas autoclaver)
Bouillon au Vert de Malachite et au chlorure de Magnésium (BVM)	Tryptone Oxalate vert de malachite NaCl KH ₂ RO ₄ MgCl ₂ ·6H ₂ O	4.5g 36mg 7.2g 1.5g 36g	7,1 ±7, 5	Autoclaver 15 minutes à 120°C
Eau peptonée	Sodium Glycérophosphate Peptone de soja Extrait de viande Lactose Peptone de viande Peptone de caséine Extrait de levure Acide ascorbique Sulfate de magnésium	19g 5g 5g 5g 2,5g 2,5g 2,5g 0.5g 0,25g	7,2	Autoclaver 15 minutes à 120°C

	Agar bactériologique	12,75g		
Eau physiologique	Chlorure de sodium Eau distillée	9g 1000ml	ND	Autoclaver 15 minutes à 120°C
Rappaport-Vissiliadis	Peptone de caséine Chlorure de sodium Phosphate monopotassique Chlorure de magnésium Vert malachite	4.5g 7g 1,4g 16.2g 33mg	5.5	Autoclaver 15 minutes à 110°C

Tableau: Illustre les composants de réactifs et d'additif de milieux utilisés.

Réactif/Additif	Composition
 <p>Réactif de Kovacs</p>	<p>Diméthyl-amino-4-benzaldéhyde 50g Acide chlorhydrique 250ml Alcool isoamélique 250ml Pentanol-1 1000ml</p>
 <p>Les additifs de milieu Vionde Foie</p>	<p>Alun de fer Sulfite de sodium</p>
<p>L'additif Hektoen</p>	<p>Thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) 240g Citrate de fer ammoniacal 68.0 g Eau distillée 1000ml</p>

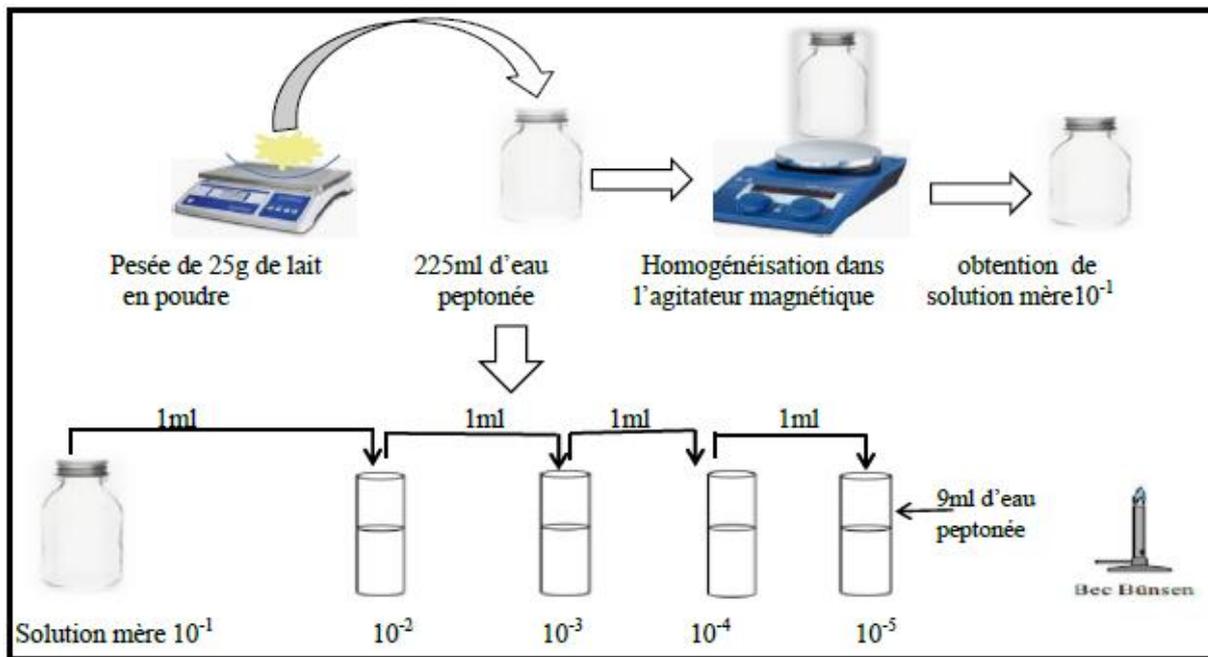


Figure 07: Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.

Table de Mac-Grady

Nombre Caractéristique	Nombre de Micro-organisme
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4
101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
120	1,1
121	1,5
130	1,6
200	0,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
221	3,0
222	3,5
223	4,0

230	3,0
231	3,5
232	4,0
300	2,5
301	4,0
302	6,5
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,0
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,0

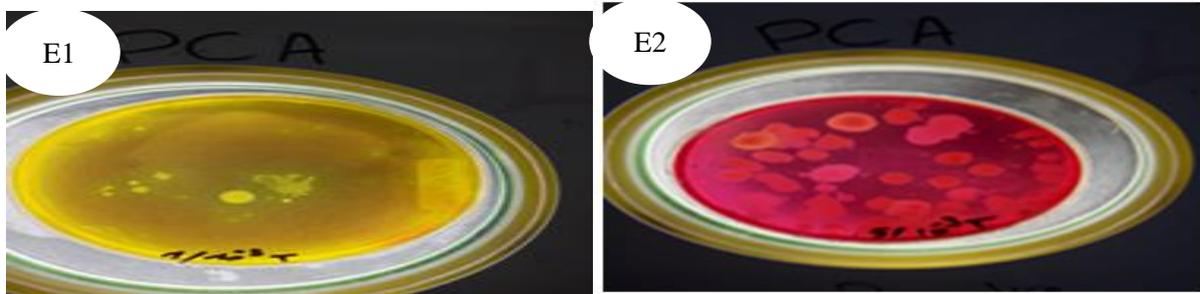
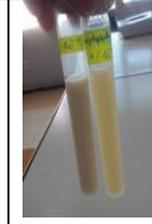
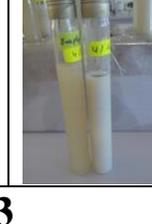
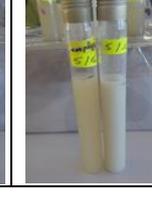


Figure 23: Deux photos illustres les résultats de recherche des coliformes totaux 37°C pour l'E 01 et 05.

Tableau 12: Illustre les résultats de recherche des spores sulfito- réductrices.

Echantillon incubation	1	2	3	4	5	6
24h /30°C						
48h/30°C						
72h/30°C						

Annexe 03**Tableau:** Illustre les normes relatives aux méthodes de recherche des *Salmonella* sp.

	Matrices	Méthodes	Intitulé	Limite de validité - Validations ISO 16140 (food) / ISO 13843 (eau)	Année de publication	remarques/base légale	modifications entre la version 26 et 27
1	toutes denrées (11) + échantillons de l'environnement de manutention des aliments	ISO 6579-1 (1)	Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des <i>Salmonella</i> -- Partie 1: Recherche des <i>Salmonella</i> spp.		2017	! Cette méthode peut ne pas retrouver toutes les <i>S. typhi</i> et <i>paratyphi</i>	
2	toutes denrées (11) + échantillons de l'environnement de manutention des aliments, matières fécales animales et échantillons de production primaire	ISO/TS 6579-2	Méthode horizontale pour la détection, le dénombrement et le sérotypage de <i>Salmonella</i> -- Partie 2: Dénombrement par la technique miniaturisée du nombre le plus probable		2012		
3	cultures pures de <i>Salmonella</i> spp	ISO/TR	Méthode horizontale pour		2014		

Annexes

		6579-3	la détection, le dénombrement et le sérotypage de <i>Salmonella</i> -- Partie 3: Lignes directrices pour le sérotypage de <i>Salmonella</i> spp.				
4	lait et produits laitiers	ISO 6785	Recherche de <i>Salmonella</i> spp.		2001		
5	Eau	ISO 19250	Recherche de <i>Salmonella</i> spp.		2010	! Cette méthode peut ne pas retrouver toutes les <i>S. typhi</i> et <i>paratyphi</i>	
6	toutes denrées (12) mais uniquement alimentation animale pour animaux de compagnie	AFN OR BIO 12/1-04/94	VIDAS <i>Salmonella</i> (double voie)	9/06/2022		reconduction par rapport ISO 6579-1:2017 + 2 nouveaux protocoles: cacaos et chocolats et poudres de laits	
7	toutes denrées (12) mais uniquement alimentation animale pour animaux de compagnie	AFN OR BIO 12/10 - 09/02	VIDAS <i>Salmonella</i> (simple voie)	18/09/2022			
8	toutes denrées (13)	AFN OR BIO 12/16 - 09/05	VIDAS Easy <i>Salmonella</i>	20/09/2021		reconduction selon ISO 16140-2:2016 et ISO 6579-1:2017	
9	toutes denrées (11)	AFN OR BKR 23/04 - 12/07	SESAME <i>Salmonella</i> Test	4/12/2019		Détecte uniquement les <i>Salmonelles</i> mobiles	
10	toutes denrées (11) et échantillons de production primaire	AFN OR BRD 07/06 - 07/04	IQ-Check <i>Salmonella</i> II	1/07/2020			
11	toutes denrées (11)	AFN OR BRD 07/11 - 12/05	Rapid' <i>Salmonella</i>	9/12/2021		reconduction par rapport ISO 6579-1:2017 . possibilité d'utiliser le MALDI-TOF	
12	toutes denrées (12)	AFN OR GEN 25/05 - 11/08	GeneDisc <i>Salmonella</i> spp.	28/11/2020			
13	toutes denrées	AFN	<i>Salmonella</i> Precis	4/12/2019			

Annexes

	(11)	OR UNI 03/06 - 12/07					
14	toutes denrées (11) + échantillons de l'environnement de distribution des aliments, matières fécales animales et échantillons de production primaire	AFN OR BIO 12/32 - 10/11	VIDAS UP <i>Salmonella</i>	6/10/2019			
15	toutes denrées (11)	AFN OR BKR 23/07 - 10/11	IRIS <i>SALMONELLA</i>	7/10/2019			
16	viandes, produits laitiers, produits de la mer et végétaux frais	AFN OR NEO 35/02 - 05/13	NEOGEN ANSR <i>Salmonella</i>	23/05/2021			
17	produits carnés, ovoproduits, produits de la mer et végétaux et aliments pour animaux de compagnie	AFN OR QUA 18/08 - 03/15	BAX SYSTEM REAL-TIME PCR ASSAY for <i>Salmonella</i> spp.	26/03/2023			
18	toutes denrées d'alimentation humaine sauf lait cru et produits de lait cru, aliments pour animaux de compagnie et échantillons environnement de production	AFN OR BIO 12/38 - 06/16	Gene-UP <i>Salmonella</i> (2)	30/06/2020		validation encore par rapport à ISO 6579-1 : 2002 validé aussi pour: viande crue (sauf volaille) 25g enrichissement court (EPT 8h) et viande crue (sauf volaille) 375g enrichissement court (EPT 10h)	
19	toutes denrées (12)	AFN OR BIO 12/41 - 03/17	SALMA One Day	23/03/2021		aussi validé pour les poudres infantiles (+ matières premières) et les échantillons de l'environnement de production au niveau des surfaces (sauf production primaire)	
20	toutes denrées (11)	AFN OR	SOLUS <i>Salmonella</i>	18/06/2021		reconduction par rapport ISO 6579-	

Annexes

		SOL 37/01 - 06/13	ELISA			1:2002	
21	toutes denrées (13), sauf échantillons de production primaire	AFN OR 3M 01/16 - 11/16	3M Molecular Detection Assay 2 - <i>Salmonella</i>	25/11/2020		reconduction par rapport ISO 6579-1:2002	
22	souches isolées sur XLD, BGA, RAPID'Salmonella, Brilliance Salmonella, ASAP ou tout milieu nutritif non-sélectif	MIC ROV AL 2017 LR73		11/02/2022		validation selon ISO/DIS 16140-6:2016	
23	viandes de boeuf crues (fraîche ou congelée, assaisonnée ou non), lait pasteurisé et produits laitiers (dont lait infantile avec ou sans probiotique), cacao et produits à base de cacao	AFN OR ABI 29/07 - 11/13		28/11/2021		validation par rapport à ISO 6579-1 : 2017 et selon ISO 16140-2: 2016	
24	viande de porc et de volaille crue, viandes de porc et de volaille prêtes-à-être mangées et prêtes-à-être réchauffées et échantillons de l'environnement de production	AFN OR UNI 03/12 - 01/18	Thermo Scientific RapidFinder Salmonella spp, Typhimurium and Enteritidis Multiplex PCR Test	25/01/2022		validation par rapport à ISO 6579-1 : 2017 et ISO 6579-3 selon ISO 16140-2: 2016	
25	toutes denrées (11)	MIC ROV AL 2014 LR43	SureFast® <i>Salmonella</i> ONE	28/05/2022		validation par rapport à ISO 6579: 2002 selon ISO 16140-2: 2016	ajout

Tableau: Illustre les normes relatives aux méthodes de recherche des *Cronobacter* sp.

	Matrices	Méthode	Intitulé	Limite de validité - Validations ISO 16140 (food) / ISO	Année de publication	remarques/base légale	modifications entre la version 26 et 27
--	----------	---------	----------	---	----------------------	-----------------------	---

Annexes

				13843 (eau)			
1	toutes denrées (11) + échantillons de l'environnement de manutention des aliments	ISO 22964 (1)	Méthode horizontale pour la recherche de <i>Cronobacter</i> spp.		2017		
2	poudres de lait infantiles	AFNOR BRD 07/22-05/12	RAPID' <i>Sakazakii</i>	10/05/2020			
3	poudres de lait infantiles et échantillons de l'environnement de production des aliments	AFNOR BRD 07/23-01/13	iQ-Check <i>Cronobacter</i> spp.	31/01/2021			
4	laits infantiles (liquides ou en poudre), laits en poudre et compléments déshydratés des laits infantiles, matrices entrant dans la composition des laits infantiles (liquides ou en poudre) et lait de soja, échantillons de l'environnement d'industries préparant les laits infantiles et poudres de lait	AFNOR BIO 12/37-11/14	ESIA One Day	27/11/2022		reconduction par rapport à ISO 22964 : 2017	
5	poudre de lait infantile et échantillons de l'environnement de production des aliments	AFNOR UNI 03/11-12/15	Thermo Scientific SureTect <i>Cronobacter</i> species PCR Assay	3/12/2019			
6	poudres de laits infantiles et céréales infantiles avec ou sans probiotiques, les matières premières et les échantillons de l'environnement de production	AFNOR 3M 01/20-03/18	Détection moléculaire 2 - <i>Cronobacter</i>	22/03/2022		reconduction par rapport ISO 22964:2017	
7	poudres de laits infantiles et céréales infantiles avec ou sans probiotiques, les matières premières et les	AFNOR BIO 12/42-03/18	GENE-UP <i>Cronobacter</i>	23/03/2022		validation selon ISO 16140-2 : 2016 et par rapport à ISO 22964:2017	ajout

Annexes

	échantillons de l'environnement de production						
8	souches isolées sur ESIA, CCI ou tout milieu nutritif non-sélectif	MICRO VAL 2017LR7 2	MALDI Biotyper - <i>Cronobacter</i> spp. confirmation	28/02/2022		validation selon ISO/DIS 16140-6:2017	