

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE BLIDA 1**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**



**THESE DE DOCTORAT LMD**

**En Sciences Alimentaires**

**Spécialité : Agro-alimentaire et Contrôle de Qualité**

Thème :

**Qualité physico-chimique, microbiologique et son  
impact sur les propriétés technologiques du lait cru  
produit en Algérie**

Présentée par **BENTAYEB Lamia**

**Devant le jury :**

DEFFAIRI Djamila	Maître de Conférences A	Université Blida 1	Présidente
AMROUCHE Tahar	Professeur	Université Tizi-Ouzou	Examineur
AOUES Karima	Maître de Conférences A	Université Blida 1	Examinatrice
MEGATELI Smain	Professeur	Université Blida 1	Directeur de thèse
DOUMANDJI Amel	Professeur	Université Blida 1	Co-directrice de thèse

**Année universitaire : 2023-2024**

# *Remerciements*

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant », pour m'avoir donné la volonté, la santé et la patience afin de réaliser et achever ce travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement mon Directeur de thèse, **Mr MEGATELI Smain**, Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, à l'université de Blida 1, pour m'avoir prêté main forte durant la réalisation de ce travail, pour son aide, toutes ses orientations et ses judicieux conseils à travers lesquels j'ai beaucoup appris.

Mes vifs remerciements vont de même à ma Co-directrice, **Mme DOUMANDJI Amel**, Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, à l'université de Blida 1. Sa confiance m'a aidée à gagner en autonomie, en confiance et en compétence.

Que **Mme DEFFAIRI Djamila**, Maître de Conférences classe A, à l'université de Blida 1, soit vivement remerciée pour l'intérêt qu'elle a accordé au sujet et pour avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus chaleureux à **Mr AMROUCHE Tahar**, Professeur à l'université Mouloud MAMMEREI de Tizi-Ouzou, pour avoir fait l'honneur d'accepter l'évaluation de ce travail.

Je tiens aussi, à exprimer mes chers remerciements à **Mme AOUES Karima**, Maître de Conférences classe A, à l'université de Blida 1, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Bien que ces quelques lignes ne puissent pleinement exprimer ma reconnaissance envers **mon mari**, je tiens à lui faire part de ma profonde gratitude pour l'attention particulière qu'il a eu pour moi, pour sa présence, son soutien et aussi pour m'avoir indiqué la conduite à suivre pour que les choses se déroulent de manière optimale. Il fut pour moi un mari attentif. Ses compétences et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris.

Je souhaite exprimer ma sincère gratitude à **Pr HOUALI Karim**, Directeur du laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologie de l'université Mouloud MAMMEREI de Tizi-Ouzou, de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, chose qui m'a apportée une grande sérénité et soulagée d'une partie de la pression inhérente à l'accomplissement de ce travail.

C'est aussi pour moi un plaisir autant qu'un devoir, d'exprimer ma reconnaissance à **Mr TITOUCHE Yacine**, Maître de Conférences classe A, à l'université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou, de m'avoir accueillie à bras ouverts au sein de son laboratoire ainsi que pour la liberté d'action qu'il m'a donnée à chaque étape de la réalisation de ce travail. Ces faveurs dont il m'a gratifiée m'ont été d'une très grande aide.

Un grand merci à **Mme KHALDOUN Hassina**, Maître de Conférences classe A, à l'université de Blida 1, pour sa sympathie, ses qualités humaines, ses encouragements et les précieux conseils qu'elle m'a prodigués.

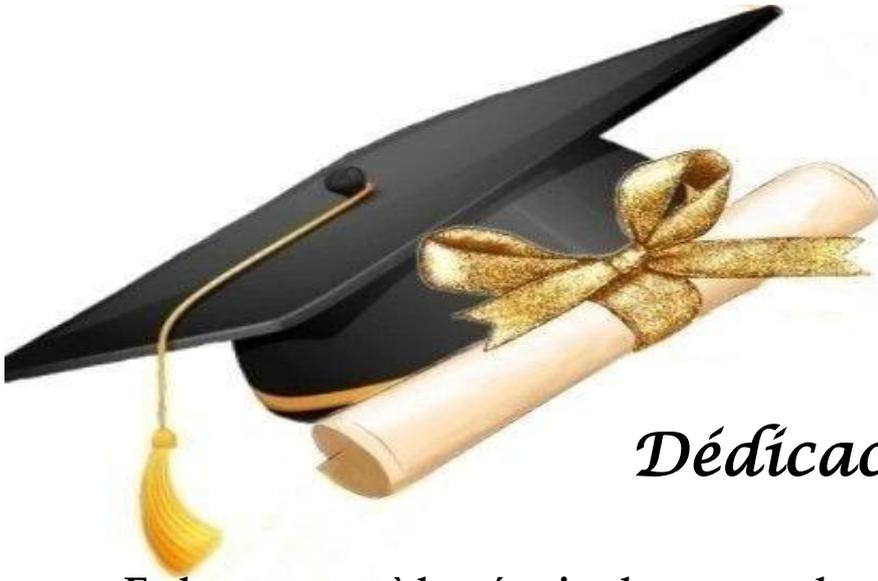
Je remercie également **Mme ZENNIA SI-AHMED Saliha**, **Mme BEDOUHENE**, **Mme DERMECHE Samia** et **Hassina** de l'université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou, pour leurs conseils pratiques et avisés, leur sens pointu et leurs explications passionnées.

Je remercie vivement **Dr LOUNIS Samir** et l'ensemble des élèves qui nous ont accueillis, pour l'excellente contribution qu'ils ont apportée à ce projet.

Je veux exprimer ma reconnaissance à tout le personnel des laiteries-fromageries que j'ai été amenée à côtoyer durant la réalisation de ce travail, en particulier : **Lamia A**, **Mohamed T**, **Mohamed A** et **Aziz**.

Je réitère tous mes remerciements et ma profonde reconnaissance à **ma famille** sans exception pour leur soutien inébranlable tout au long de mon parcours, pour leur présence bienveillante, leurs encouragements constants et pour l'excellente contribution qu'ils ont apportée à ce labeur. Leurs faveurs dont ils m'ont toujours gratifiée et leurs générosités à mon égard m'ont été d'une très grande aide tant matérielle que morale.

Pour finir, je veux remercier toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce travail.



## *Dédicaces*

**En hommage et à la mémoire de mes grands-parents et mon beau père.**

**En hommage à mon oncle qui était pour moi une source d'inspiration et de motivation.**

**A mes très chers parents, source de mes joies, secret de ma force. C'est à vous que je dois le mérite pour ce que je suis devenue aujourd'hui. Puisse Dieu le Tout Puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.**

**A mon mari, reçois à travers ce travail, toute ma gratitude, mon estime et mes profonds sentiments.**

**A mes frères, vous qui n'avez cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.**

**A ma sœur, son mari et mes trois petits neveux adorés : Mohamed, Rayane et Kenza, en témoignage de l'attachement, l'amour et de l'affection que je porte pour vous.**

**A ma belle-famille sans exception**

**A tous ceux que j'aime et qui croient toujours en moi...**

**Enfin, à toute personne qui reste convaincue que l'effort sincère et honnête est la seule voie vers la réussite et la réalisation de soi.**

*LAMIA*



**TABLE DES MATIÈRES**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Liste des productions scientifiques**

**Résumés**

**I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

INTRODUCTION.....	1
<b>1.Lait et production laitière.....</b>	<b>3</b>
1.1. Etat des lieux de la filière laitière.....	3
1.2. Généralités sur le lait.....	4
1.2.1. Définition du lait.....	4
1.2.2. Glande mammaire et synthèse du lait .....	4
1.2.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait .....	5
1.2.4. Composition du lait.....	6
1.3. Facteurs de variation de la production et de la composition du lait cru.....	7
1.3.1. Facteurs intrinsèques.....	7
1.3.1.1. Facteur génétique.....	8
1.3.1.2. Stade et nombre de lactations.....	8
1.3.1.3. Etat de santé des vaches.....	10
1.3.2. Facteurs extrinsèques.....	11
1.3.2.1. Traite des vaches.....	11
1.3.2.2. Alimentation.....	11
1.3.2.3. Température et saison.....	12
<b>2. Qualité du lait et aptitudes à la transformation.....</b>	<b>12</b>
2.1. Qualité du lait.....	12
2.2. Transformation du lait en fromage.....	13
2.2.1. Coagulation du lait. ....	13
2.2.2. Présure commerciale et coagulation.....	16
2.3. Contaminants du lait.....	16
2.3.1. Microorganismes .....	16
2.3.2. Cellules somatiques.....	17
2.3.3. Résidus d'antibiotiques.....	17
2.3.4. Résidus d'antiseptiques.....	17

2.3.5. Eau.....	17
2.4. Mammites subcliniques et qualité du lait.....	18
2.4.1. Définition de la mammité.....	18
2.4.2. Classification des mammites.....	18
2.4.2.1. Mammites cliniques.....	18
2.4.2.2. Mammites subcliniques.....	18
2.4.3. Etiologie bactérienne des mammites.....	19
2.4.4. Physico-chimie du lait de mammité subclinique.....	19
2.4.5. Méthodes de prévention et de traitement des mammites.....	20
<b>3. Dangers de la présence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans le lait.....</b>	<b>21</b>
3.1. Taxonomie et habitat.....	21
3.1.1. Position taxonomique.....	21
3.1.2. Habitat.....	21
3.2. Pouvoir pathogène de <i>S. aureus</i> .....	21
3.2.1. Déterminisme moléculaire.....	21
3.2.2. Pathogénie de <i>S. aureus</i> .....	22
3.3. Substances élaborées par <i>S. aureus</i> .....	23
3.3.1. Enzymes.....	23
3.3.2. Toxines.....	26
3.4. Toxi-infections alimentaires.....	26
3.5. Production des entérotoxines staphylococciques dans la matrice alimentaire.....	26
3.6. Mécanismes d'action des entérotoxines staphylococciques.....	27
3.6.1. Activité émétique.....	27
3.6.2. Activité superantigénique.....	28
3.7. Critères d'identification de <i>S. aureus</i> .....	29
3.7.1. Caractères morphologiques.....	29
3.7.2. Caractères culturels.....	29
3.7.3. Caractères biochimiques.....	30

## **II. PARTIE PRATIQUE**

<b>1. Cadre de la recherche.....</b>	<b>32</b>
1.1. Objectifs de l'étude.....	32
1.2. Plan pratique.....	32
1.3. Choix de la zone d'étude.....	32
1.4. Description de la wilaya de l'étude.....	32

---

<b>2. Matériel et Méthodes</b> .....	33
2.1. Enquête rétrospective au sein de la laiterie .....	33
2.1.1. Choix de la laiterie et collecte des données.....	33
2.1.2. Types de données exploitées.....	33
2.1.3. Méthode de détermination de l'acidité titrable.....	34
2.2. Enquêtes prospectives au sein des fermes.....	35
2.2.1. Démarche pratique.....	35
2.2.2. Population animale de l'étude.....	36
2.2.3. Enquête sur les mammites au sein des élevages.....	37
2.2.3.1. Prospection des élevages.....	37
2.2.3.2. Examen clinique des mamelles.....	38
2.2.3.3. Dépistage des mammites subcliniques.....	38
2.2.4. Collecte des prélèvements de lait.....	39
2.2.4.1. Prélèvements de lait-quartier.....	39
2.2.4.2. Prélèvements de lait de mélanges.....	39
2.3. Analyse des échantillons de lait au laboratoire.....	40
2.3.1. Analyses microbiologiques de lait-quartier mammitieux.....	40
2.3.1.1. Culture bactérienne et isolement.....	40
2.3.1.2. Identification des Staphylocoques.....	41
2.3.1.3. Sensibilité des isolats aux antibiotiques.....	43
2.3.2. Analyse microbiologique des laits de mélanges.....	44
2.3.2.1. Dénombrement de la Flore Aérobie Mésophile Totale (FAMT).....	45
2.3.2.2. Dénombrement des coliformes fécaux.....	45
2.3.2.3. Détection des résidus d'antibiotiques.....	45
2.3.3. Mesure des paramètres physico-chimiques à l'aide du Lactoscan SA.....	47
2.3.4. Contrôles électrophorétiques des protéines totales des laits analysés.....	47
2.3.5 Détermination de l'activité coagulante.....	51
2.4. Traitement des données.....	52
2.4.1. Synthèse des données et conception d'une carte.....	52
2.4.2. Analyse statistique.....	52
<b>3. Résultats</b> .....	53
3.1. Enquête sur les motifs de refoulement au sein de la laiterie.....	53
3.1.1. Lait de collecte et analyses.....	53
3.1.2. Acidité des laits de mélanges.....	54

3.1.3. Critères d'acceptation et motifs de refoulement.....	54
3.1.4. Contamination par les résidus d'antibiotiques.....	55
3.1.5. Qualité physico-chimique du lait orienté vers la transformation.....	55
3.2. Enquête sur la qualité du lait et mammites chez les vaches laitières.....	56
3.2.1. Description des élevages.....	56
3.2.2. Enquête sur la qualité du lait de mélanges des élevages.....	57
3.2.2.1. Qualité physico-chimique.....	57
3.2.2.2. Qualité microbiologique.....	58
3.2.3. Enquête sur les mammites des vaches laitières.....	60
3.2.3.1. Mammites chez les vaches laitières.....	60
3.2.3.2. Caractérisation des mammites au sein des élevages.....	60
3.2.3.3. Variation individuelle et inter-quartier des mammites.....	61
3.2.4. Analyse microbiologique et isolement de <i>Staphylococcus</i> .....	62
3.2.4.1. Culture et isolement bactérien.....	62
3.2.4.2. Mammites subcliniques à Staphylocoques.....	62
3.2.4.3. Identification des Staphylocoques.....	62
3.2.4.4. Prévalence des mammites subcliniques à <i>Staphylococcus</i> .....	63
3.2.4.5. Résistance aux antibiotiques.....	64
3.2.4.6. Profils de résistance aux antibiotiques.....	65
3.3. Enquête sur l'aptitude à la transformation du lait mammiteux.....	66
3.3.1. Caractérisation des mammites subcliniques.....	66
3.3.2. Analyse bactériologique et infection intramammaire.....	67
3.3.3. Sensibilité des Staphylocoques aux antibiotiques.....	68
3.3.4. Caractéristiques physico-chimiques des laits-quartiers.....	69
3.3.5. Electrophorèse des protéines totales des laits sain et mammiteux.....	69
3.3.6. Aptitude à la coagulation du lait.....	73
<b>4. Discussion.....</b>	<b>75</b>
4.1. Qualité et motifs de refoulement des laits de collecte.....	75
4.1.1. Lait acide.....	75
4.1.2. Contamination par les résidus d'antibiotiques.....	76
4.1.3. Pratiques frauduleuses.....	78
4.2. Qualité du lait et mammites chez les vaches laitières.....	79
4.2.1. Qualité du lait de mélanges au sein des fermes.....	79
4.2.1.1. Qualité physico-chimique.....	79

4.2.1.2. Qualité microbiologique.....	80
4.2.1.2.1. Flore aérobie mésophile totale (FAMT).....	80
4.2.1.2.2. Coliformes thermotolérants .....	81
4.2.1.2.3. Contamination par <i>S. aureus</i> .....	81
4.2.2. Mammites subcliniques chez les vaches laitières.....	82
4.2.2.1. Prévalence et importance des mammites .....	82
4.2.2.2. Prévalence des mammites subcliniques.....	83
4.2.2.3. Culture bactérienne.....	83
4.2.2.4. Résistance aux antibiotiques.....	85
4.3. Composition et aptitude à la coagulation des laits mammitieux et sains.....	86
4.3.1. Mammites subcliniques et composition du lait quartier.....	87
4.3.2. Impact des mammites subcliniques sur les protéines du lait .....	88
4.3.3. Impact des mammites subcliniques sur l'activité de coagulation.....	89
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	90
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>93</b>

**Annexes**

## *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Intitulé</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Production laitière dans le monde. Source : GEB-Institut de l'Élevage d'après FAO & FIL (Duflot <i>et al.</i> , 2022)	3
<b>2</b>	Schéma de la glande mammaire et structure d'une alvéole (Husvéth, 2011)	5
<b>3</b>	Coagulation acide du lait et formation du réseau (Dalglish, 2007)	14
<b>4</b>	Phases de la coagulation enzymatique du lait et formation du réseau (Dalglish, 2007)	15
<b>5</b>	Principaux facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> (Gordon <i>et al.</i> , 2008 ; Xia <i>et al.</i> , 2010)	23
<b>6</b>	Mécanisme physiologique de l'activité émétique à staphyloenterotoxines (Fisher <i>et al.</i> , 2018)	28
<b>7</b>	Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur BHI et coloration de Gram (Joshi <i>et al.</i> , 2014)	29
<b>8</b>	Diagramme des analyses du lait de collecte et règles de décision au sein de la laiterie	34
<b>9</b>	Démarche pratique des enquêtes prospectives 2 et 3	36
<b>10</b>	Situation géographique des élevages investigués dans l'étude	37
<b>11</b>	Degrés de la réaction Teepol-lait	38
<b>12</b>	Mise en évidence de la présence de la catalase	41
<b>13</b>	Test d'agglutination sur lame	42
<b>14</b>	Procédure du test de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de mélanges	46
<b>15</b>	Diagramme d'interprétation de la détection des résidus d'antibiotiques	46
<b>16</b>	Electrophorèse des protéines totales en présence du SDS et de 2-ME (PAGE-SDS)	50
<b>17</b>	Préparation des solutions de CaCl <sub>2</sub> (0,01M), NaOH (0,1), enzymatique et du substrat standard	51
<b>18</b>	Profils électrophorétiques 1 des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).	71
<b>19</b>	Profils électrophorétique 2 des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).	72
<b>20</b>	Profils électrophorétiques 3 des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).	74

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Intitulé</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Composition générale du lait de vache (Vuillemand, 2018)	6
<b>2</b>	Principales caractéristiques des caséines du lait de vache (Vuillemand, 2018)	7
<b>3</b>	Teneurs et propriétés des protéines du lactosérum (Vuillemand, 2018)	7
<b>4</b>	Production et composition du lait chez certaines races de vaches (Berthelot, 2018)	8
<b>5</b>	Effet du stade de lactation sur la qualité du lait de vache (Berthelot, 2018)	10
<b>6</b>	Facteurs affectant la croissance et la production d'entérotoxines par <i>S. aureus</i> (Tatini <i>et al.</i> , 1973)	27
<b>7</b>	Distribution dans le temps des laits de collecte issus directement des fermes	53
<b>8</b>	Distribution dans le temps de la recherche des résidus d'antibiotiques	53
<b>9</b>	Analyse du lait de collecte et taux de refoulement au sein de la laiterie	54
<b>10</b>	Variation dans le temps de la qualité du lait de collecte présenté à la laiterie	54
<b>11</b>	Distribution des fréquences de refoulement des laits de collecte	55
<b>12</b>	Fréquence de diagnostic des résidus d'antibiotiques dans le lait de collecte	55
<b>13</b>	Physico-chimie du lait accepté pour la transformation au sein de la laiterie	56
<b>14</b>	Etat d'hygiène de la traite et de la collecte du lait au sein des élevages	57
<b>15</b>	Analyse physico-chimique des laits crus de mélanges au sein des fermes	58
<b>16</b>	Variation inter-cheptel de la physico-chimie des laits de mélanges crus	58
<b>17</b>	Analyse microbiologique et résidus d'antibiotiques des laits crus de mélanges	59
<b>18</b>	Valeurs moyennes des germes isolés ( $\log_{10}$ UFC/mL) et dénombrés dans les laits crus	59
<b>19</b>	Dépistage des mammites et leurs conséquences sur la mamelle chez les vaches	60
<b>20</b>	Prévalence et variation inter-cheptel des mammites chez les vaches laitières	61
<b>21</b>	Variation individuelle et inter-trayons de la prévalence des mammites	61
<b>22</b>	Espèces bactériennes isolées par échantillon de lait de mammite subclinique	62
<b>23</b>	Fréquence d'isolement bactérien des laits issus de trayons mammiteux	62
<b>24</b>	Espèces de staphylocoques isolées dans les laits mammiteux subcliniques	63
<b>25</b>	Prévalence des mammites subcliniques à <i>Staphylococcus</i> chez les vaches	64
<b>26</b>	Résistance aux antibiotiques des Staphylocoques impliqués dans les IMI chez les vaches	64
<b>27</b>	Multi-résistance aux antibiotiques des Staphylocoques impliqués dans les IMI bovines	65
<b>28</b>	Profils de résistance de <i>Staphylococcus</i> impliqués dans les IMI bovines	66

<b>29</b>	Dépistage des mammites subcliniques et caractéristiques associées au lait-quartier	67
<b>30</b>	Prévalence et isolement bactérien des laits issus de quartiers mammitieux	68
<b>31</b>	Profils de résistance aux antibiotiques des Staphylocoques responsables de mammites subcliniques	69
<b>32</b>	Comparaison de l'activité de coagulation des échantillons de laits mammitieux et sains	74

## *Liste des abréviations*

Abréviation	Signification
<b>°D</b>	Degré Dornic
<b>2-ME</b>	2-mercaptoéthanol
<b>AT</b>	Acidité titrable
<b>aw</b>	Water activity
<b>BHI</b>	Brain Heart Infusion
<b>BHIB</b>	Brain Heart Infusion Broth
<b>BSA</b>	Bovine Serum Albumin
<b>CMH II</b>	Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II
<b>CMP</b>	Caséinomacropéptide.
<b>CMT</b>	Californian Mastitis Test
<b>CN</b>	Caséines
<b>DNase</b>	Désoxyribonucléase
<b>DO</b>	Densité Optique
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization of the United Nations
<b>FIL</b>	Fédération Internationale de Laiterie
<b>FAMT</b>	Flore Aérobie Mésophile Totale
<b>GEB</b>	Groupe Economie du Bétail
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IgG</b>	Immunoglobulines
<b>KDa</b>	Kilodalton
<b>Log</b>	Logarithme
<b>MG</b>	Matière grasse
<b>MP</b>	Matière protéique
<b>MSC</b>	Mammite subclinique
<b>mV</b>	Millivolt
<b>ND</b>	Non défini
<b>NIT</b>	Nitrate réductase
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>PAGE</b>	Electrophorèse sur gel de polyacrylamide
<b>PCA</b>	Plat Count Agar
<b>PM</b>	Poids Moléculaire
<b>Q</b>	Quartier
<b>Sak</b>	Staphylokinase
<b>SCN</b>	<i>Staphylococcus</i> à Coagulase Négative
<b>SCP</b>	<i>Staphylococcus</i> à Coagulase Positive
<b>SDS</b>	Dodécylsulfate de sodium
<b>SM</b>	Solution mère
<b>TCA</b>	Acide trichloracétique
<b>TEMED</b>	N, N, N', N'-tetraméthyl-éthylène diamine
<b>TP</b>	Taux protéique

<b>TRIS</b>	Tris-hydroxy-méthyl-amino-méthane
<b>UFC</b>	Unité Formant Colonie
<b>UP</b>	Unité Présure
<b>UV</b>	Ultra-violet
<b>V</b>	Volt
<b>VP</b>	Voges-Proskauer
<b>VRBL</b>	Violet Red Bile Lactose Agar
<b>W</b>	Watt
<b><math>\alpha</math>-La</b>	$\alpha$ -Lactalbumine
<b><math>\beta</math>-Lg</b>	$\beta$ -Lactoglobuline

## *Liste des productions scientifiques*

### **Publication dans une Revue Scientifique Catégorie A**

**Bentayeb L.**, Akkou M., Zennia Si-Ahmed S., Titouche Y., Doumandji A. et Megateli S. (2023). Impacts of subclinical mastitis on milk quality, clotting ability and microbial resistance of the causative Staphylococci. *Large Animal Review*, **29** :105-111.

### **Communications Internationales**

**Bentayeb L.**, Akkou M., Zennia Si-Ahmed S., Titouche Y., Doumandji A., Megateli S. Impact des mammites subcliniques sur la qualité et l'aptitude à la coagulation du lait issu des vaches laitières. 1<sup>ère</sup> Journée Internationale Santé & Bien Etre Animal en Webinaire. ENSV Alger le 04 Juin 2022. *Communication affichée*.

**Bentayeb L.**, Akkou M., Zennia Si-Ahmed S., Titouche Y., Doumandji A., Megateli S. Effet des mammites subcliniques sur la qualité du lait, l'aptitude à la coagulation et résistance aux antibiotiques des staphylocoques associés. 3<sup>ème</sup> Webinaire International Sécurité Alimentaire et Santé Animale : Enjeux et perspectives de la mise en œuvre de l'approche one health en Algérie. ENSV Alger le 9-10 Juillet 2023. *Communication orale*.

Akkou M., Titouche Y., **Bentayeb L.**, Bes M., Ramdani-Bouguessa N., Laurent F. Facteurs de risque liés aux mammites des vaches laitières en Algérie, résistance aux antibiotiques et typage moléculaire du *Staphylococcus aureus* associé. 3<sup>ème</sup> Webinaire International Sécurité Alimentaire et Santé Animale : Enjeux et perspectives de la mise en œuvre de l'approche one health en Algérie. ENSV Alger le 9-10 Juillet 2023. *Communication orale*.

### **Communication Nationale**

**Bentayeb L.**, Akkou M., Zennia Si-Ahmed S., Titouche Y., Doumandji A., Megateli S. Caractérisation des mammites chez les vaches et leurs impacts sur la qualité et les aptitudes technologiques du lait. 4<sup>ème</sup> édition des Journées Scientifiques Nationales sur l'Agroalimentaire. Blida le 28-29 Octobre 2022. *Communication orale*.

### Résumé

La production du lait de vache se heurte au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs. L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact des qualités physico-chimique et microbiologique sur les propriétés technologiques du lait cru. Pour cela, parallèlement à l'exploitation des données d'analyses des laits reçus au niveau d'une laiterie-fromagerie à Tizi-Ouzou, des échantillons de lait de mélanges et trayons ont été prélevés au sein des élevages et soumis aux analyses microbiologiques et physicochimiques. Une sélection d'échantillons de lait-quartier a fait l'objet de test d'aptitude à la coagulation. Sur la période allant de Mai à Août 2023, 11,21% (112/999) des laits de mélanges ont été refoulés par la laiterie-fromagerie. La présence de résidus d'antibiotiques est la première cause du rejet (49,11%), suivie de l'acidité anormale (33,92%), de mouillage frauduleux (16,07%) et enfin de faibles teneurs en matières grasses (0,89%).

Nos résultats de 12 fermes laitières ont montré que le lait de mélanges avait  $33,9 \pm 7,1$  g/L de matières grasses,  $30,9 \pm 1,5$  g/L de protéines,  $46,4 \pm 2,3$  g/L de lactose et une densité de  $1029,12 \pm 1,41$ . La charge moyenne en flore aérobie mésophile totale et des coliformes thermo-tolérants à la ferme était de  $7,03 \pm 0,83 \log_{10}$  UFC/mL et  $4,84 \pm 0,72 \log_{10}$  UFC/mL respectivement. Du point de vue santé de la mamelle, 75/160 (46,87 %) vaches en lactation souffraient de mammites subcliniques (MSC), dont 56,81% (75/132) des quartiers étaient infectés par des Staphylocoques. De ces derniers, 49,33% (37/75) étaient des *S. aureus* et 17,33% (13/75) des *S. chromogènes*. Sur les 75 Staphylocoques testés, la résistance à la pénicilline, à la tétracycline, à l'érythromycine et à la clindamycine représentait respectivement 40%, 34,66%, 33,33% et 30,66%. La multi-résistance aux antibiotiques a été observée dans 30,66 % des isolats de Staphylocoques.

Sur le plan quartier, de notre enquête indépendante sur 60 vaches en lactation (240 quartiers), l'analyse physico-chimique a montré que les trayons atteints de MSC avaient des teneurs en matières grasses et en minéraux, dans le lait, inférieures à celles des quartiers sains. Les profils électrophorétiques des protéines totales ont révélé une dégradation des fractions de caséine dans le lait issu des quartiers atteints de mammites. Les échantillons de lait issus de quartiers infectés par des Staphylocoques présentaient un temps de coagulation plus long ( $1093,9 \pm 781,9''$ ) et une activité de coagulation plus faible ( $2,55 \pm 1,49$  UP) que les échantillons collectés des quartiers sains qui montraient  $325,3 \pm 177,5''$  et  $7,80 \pm 4,46$  UP. L'augmentation de la conductivité due à l'infection intramammaire était fortement associée à un allongement du temps de coagulation. De plus, l'activité de coagulation était inversement proportionnelle à la conductivité. Sur ce, les MSC restent une préoccupation majeure dans l'industrie laitière qui nécessite des mesures efficaces pour contrôler leur survenue dans les troupeaux laitiers.

**Mots clés :** mammites subcliniques, antibiotiques, lait cru, contamination microbienne, physicochimie, aptitude à la coagulation.

**Abstract**

The production of cow's milk faces the problem of the quality management which penalizes both producers and processors. The aim of this study was to determine the impact of physicochemical and microbiological quality on the technological properties of raw milk. For this purpose, in parallel with the exploitation of data from analyses of milk mixtures received at a dairy-cheese factory in Tizi-Ouzou, the mixed, and quarter milk samples were taken from farms and subjected to microbiological and physicochemical analyses. A selection of milk samples was tested for coagulation ability. From May to August 2023, 11.21% (112/999) of mixed milks were rejected by the dairy-cheese factory. The presence of antibiotic residues is the first cause of rejection (49.11%), followed by abnormal acidity (33.92%), fraudulent wetting (16.07%) and low fat content (0.89%).

Our results from 12 dairy farms showed that mixed milk had  $33.9 \pm 7.1$  g/L fat,  $30.9 \pm 1.5$  g/L protein,  $46.4 \pm 2.3$  g/L lactose and a density of  $1029.12 \pm 1.41$ . The mean load in total mesophilic aerobic flora and on-farm thermo-tolerant coliforms were  $7.03 \pm 0.83 \log_{10}$  UFC/mL and  $4.84 \pm 0.72 \log_{10}$  UFC/mL respectively. From udder health stand point, 75/160 (46.87%) lactating cows suffered from subclinical mastitis (SCM), whose 56.81% (75/132) quarters infected with Staphylococci. From this latter, 49.33% (37/75) were *S. aureus* and 17.33% (13/75) were *S. chromogenes*. On the 75 tested Staphylococci, resistance to penicillin, tetracycline, erythromycin and clindamycin represented 80%, 34.66%, 33.33% and 30.66% respectively. Drug multi-resistance was observed in 30.66% of Staphylococci isolates.

At the quarter level, from our independent survey on 60 lactating cows (240 quarters), physicochemical analysis indicated that, quarters with SCM had lower milk-fat content and mineral content compared with quarters without SCM. The profiles of total proteins electrophoresis revealed degradation of casein fractions in milk with SCM. Milk samples subclinically infected with Staphylococci exhibited longer coagulation time ( $1093.9 \pm 781.9''$ ) and weaker clotting activity ( $2.55 \pm 1.49$  RU) than milk samples collected from healthy quarters which showed  $325.3 \pm 177.5''$  and  $7.80 \pm 4.46$  RU. The increase in conductivity due to intramammary infection was highly associated with an elongation in RCT. Moreover, clotting activity was inversely proportional to conductivity. In fine, SCM still a major concern in dairy industry which needs efficient measures to control their occurrence in dairy herds.

**Keywords:** subclinical mastitis, antibiotics, raw milk, microbial contamination, physicochemistry, coagulation ability

## ملخص

يواجه إنتاج حليب البقر مشكلة إدارة الجودة التي تعاقب المنتجين والمصنعين على حد سواء. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد تأثير الصفات الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية على الخصائص التكنولوجية للحليب الخام. ولهذا، وبالتوازي مع استغلال بيانات تحليل الحليب الموزع الى مصنع الألبان والأجبان بتيزي وزو، تم أخذ عينات من الحليب المختلط وربع الضرع من المزارع وتقديمها للتحليل الميكروبيولوجي والفيزيوكيميائي. تم انتقاء مجموعة من عينات حليب ربع الضرع للتأكد من قدرتها على التخثر. خلال الفترة الممتدة من مايو إلى أغسطس 2023، تم رفض 11.21% (999/112) من الحليب المختلط من قبل مصنع الألبان والأجبان. وجود بقايا المضادات الحيوية كان السبب الأول للرفض (49.11%)، تليه الحموضة غير الطبيعية (33.92%)، التبلل الاحتمالي (16.07%) وأخيراً النسب المنخفضة للدهون (0.89%).

أظهرت نتائجنا لاثنتي عشر (12) مزرعة ألبان أن الحليب المختلط يحتوي على  $33.9 \pm 7.1$  جم/لتر من الدهون،  $30.9 \pm 1.5$  جم / لتر من البروتينات،  $46.4 \pm 2.3$  جم/لتر من اللاكتوز وكثافة مقدرة بنسبة  $1029.12 \pm 1.41$ . كانت البكتيريا الهوائية ذات النمو في درجة الحرارة المعتدلة والقولونيات المقاومة للحرارة في مزرعة الألبان  $0.83 \pm 7.03$  UFC/mL  $0.72 \pm 4.84$  Log<sub>10</sub> UFC/mL على التوالي. من حيث صحة الضرع، عانت 160/75 (46.87%) من الأبقار المرضعة من التهاب الضرع تحت السريري (MSC)، منها 56.81% (132/75) من الأرباع كانت مصابة بالمكورات العنقودية. من بينها، 49.33% (75/37) كانت من البكتيريا العنقودية الذهبية و17.33% (75/13) كانت من البكتيريا العنقودية الكروموجينية. من بين 75 من المكورات العنقودية التي تم اختبارها، بلغت المقاومة للبنسلين والتتراسيكلين والإريثروميسين والكلينداميسين 40% و34.66% و33.33% و30.66% على التوالي. وقد لوحظت المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية لدى 30.66% من عزلات المكورات العنقودية.

على مستوى ربع الضرع، من خلال تحقيقنا المستقل على 60 بقرة مرضعة (240 ربع ضرع)، أظهرت نتائج التحليل الفيزيوكيميائي أن الحلمات المصابة بالتهاب الضرع الغير مرئية تحتوي على نسبة أقل من الدهون والمعادن في الحليب مقارنة بتلك الموجودة في الأرباع الصحية. كشفت الملامح الكهربائية للبروتينات الإجمالية عن تدهور أجزاء الكازيين في حليب الضروع المصابة بالالتهاب. أظهرت عينات حليب الضروع المصابة بالمكورات العنقودية وقت تخثر أطول ( $9.1093 \pm 781.9$  ثانية) ونشاط تخثر أقل ( $1.49 \pm 2.55$  UP) من العينات التي تم اخذها من الضروع الغير مصابة والتي أظهرت ( $325.3 \pm 177.5$  ثانية) و ( $4.46 \pm 7.80$  UP). ارتبطت الزيادة في الموصلية بسبب الالتهاب داخل الضرع ارتباطاً وثيقاً بزيادة وقت التخثر. وعلاوة على ذلك، كان نشاط التخثر يتناسب عكسياً مع الموصلية. وفي هذا الصدد، تظل التهابات الضرع تحت السريرية مصدر قلق كبير في مجال صناعة الألبان مما يتطلب اتخاذ تدابير فعالة للسيطرة على حدوثها في قطيع الأبقار.

**الكلمات المفتاحية:** التهاب الضرع تحت السريري، المضادات الحيوية، الحليب الخام، التلوث الميكروبي، الكيمياء الفيزيائية، القدرة على التخثر.



# *Introduction*



### Introduction

Au-delà de l'importance culturelle et nutritionnelle du lait, la filière laitière occupe une place centrale dans le paysage agricole et alimentaire, en termes d'économie, de gestion du territoire, de bassin d'emploi et de développement dans le monde, tant pour la production que pour la transformation. Il est consommé sous forme liquide, crue ou pasteurisée, fermenté ou non. Il est aussi décliné en une grande variété de fromages (**Leonil et al., 2022**). Le lait cru de vache est un aliment hautement périssable et sert de meilleur milieu de croissance pour les agents pathogènes en raison de son pH neutre, de sa teneur élevée en eau et de sa teneur en nutriments. Il est prélevé de manière aseptique sur une vache propre et saine contenant moins de 1000 log UFC/100 mL<sup>-1</sup> de numération microbienne du lait (**Yenew et al., 2022**).

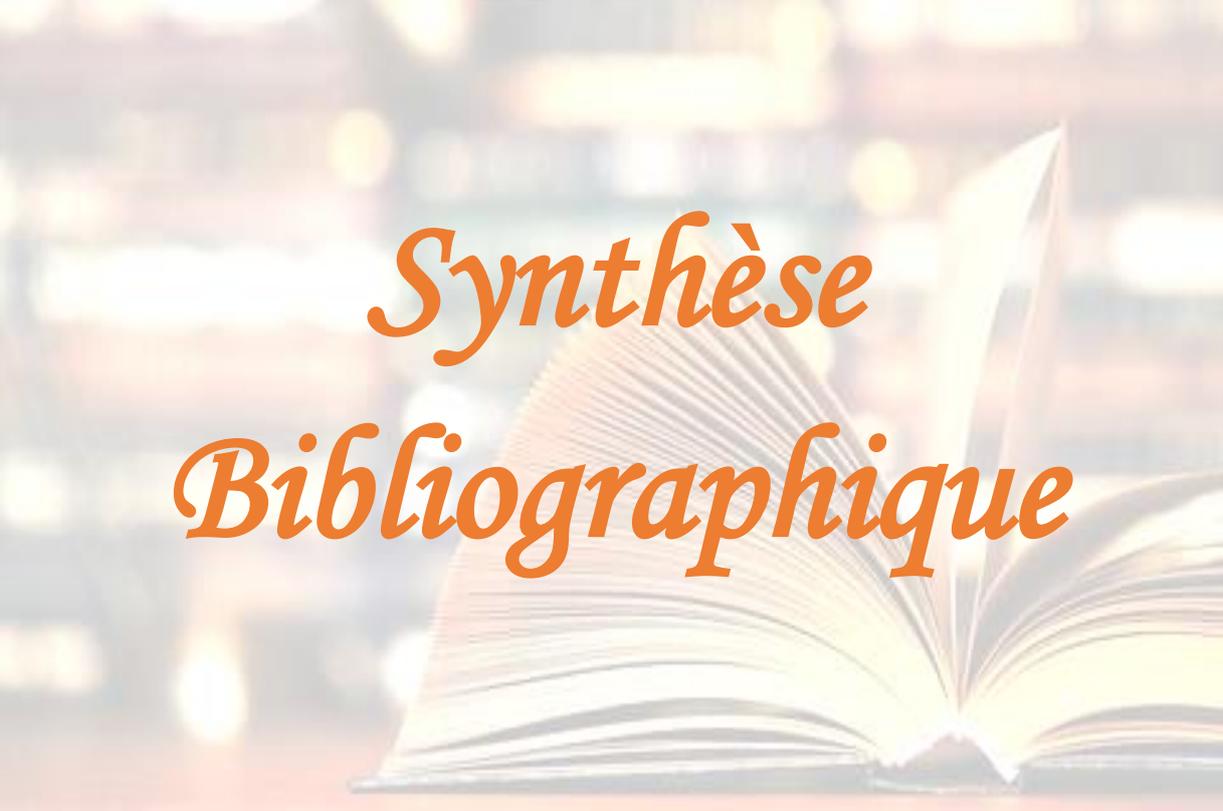
Bien qu'elle jouisse d'un statut particulier dans la stratégie du développement agricole Algérien, la production du lait de vache se heurte au problème de gestion de la qualité qui pénalise tant les producteurs que les transformateurs. Les mammites sont les pathologies les plus coûteuses en élevage laitier et leur diagnostic est l'une des clés pour limiter leurs effets (**Mir et Sadki, 2018**). Elles se définissent comme étant l'inflammation d'un ou de plusieurs trayons de la glande mammaire, caractérisée par des changements physiques, chimiques et microbiologiques de la sécrétion lactée, ainsi que des modifications pathologiques dans le tissu mammaire (**Hansen, 2015**). Elles sont souvent de type subclinique ; les variations sont uniquement microscopiques et la mamelle reste cliniquement asymptomatique (**Remy, 2010**). Les pertes économiques se justifient d'une part, par le faible rendement des mamelles infectées, les traitements vétérinaires, les saisies de lait ainsi que la réforme prématurée des vaches (**Peton et Le Loir, 2014**), et d'autre part, par la baisse de la qualité hygiénique et nutritive du lait et de ses produits dérivés (**Fartas et al., 2017**).

De par l'incidence des mammites subcliniques, la santé humaine peut se trouver compromise par la présence d'agents pathogènes et ou des toxines dans le lait ainsi que les résidus d'antibiotiques résultant de leurs traitement (**Chartier, 2009**). En effet, *Staphylococcus aureus* demeure un des principaux pathogènes responsables de mammites, quoique de façon très variable selon les pays et les régions.

La qualité microbiologique du lait produit localement reste tributaire de la santé de la mamelle et des conditions d'hygiène dans la chaîne de production. L'existence ou l'omniprésence d'un circuit informel, échappant souvent aux systèmes de contrôle sanitaire, laisse supposer qu'une partie de cette production laitière est impropre à la transformation voir

potentiellement dangereuse à la consommation humaine. Un certain nombre de bactéries, incluant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* peuvent se retrouver dans le lait, lorsque celui-ci n'ayant subi aucun traitement d'assainissement. Ces bactéries peuvent causer des toxi-infections alimentaires et nuire ainsi à la santé des consommateurs. Sachant que les habitudes culinaires de certaines personnes les obligent à consommer du lait soit sous sa forme crue ou bien transformé en produits laitiers traditionnels, ce qui peut accroître les risques sanitaires associés à la consommation de ce type de produits. A l'échelle artisanale et industrielle, des perturbations de transformation de lait ont été souvent soulevées. Cela concerne même certains laits de mélanges retenus avec statut conforme selon les analyses de routines effectuées au sein des laiteries. C'est dans ce contexte qu'il nous a paru intéressant de mener nos recherches visant à :

- Etudier la qualité physicochimique et les principaux motifs de refoulement du lait de mélanges présenté aux unités de transformation ;
- Caractériser au sein des élevages bovins laitiers, les mammites subcliniques ainsi que les qualités physico-chimiques et microbiologiques du lait de mélanges ;
- Analyser l'impact des mammites subcliniques sur la qualité physicochimique et technologique du lait cru.

An open book is shown from a low angle, with its pages fanned out. The background is a soft, out-of-focus bokeh of warm, golden-yellow and orange lights, suggesting a library or a cozy reading environment. The text is overlaid on the book.

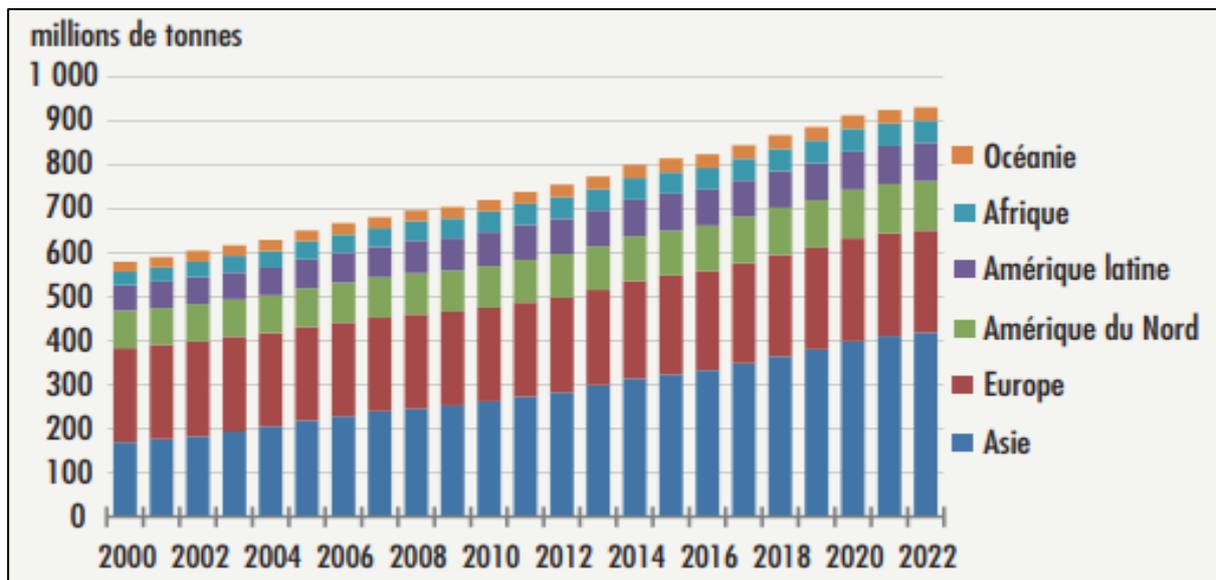
*Synthèse  
Bibliographique*

## I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1. Lait et production laitière

#### 1.1. Etat des lieux de la filière laitière

Estimée à 930 millions de tonnes toutes espèces confondues en 2022, la production laitière mondiale a faiblement progressé depuis 2019. Le lait de vache est toujours prépondérant avec 78% de la production mondiale, mais sa part relative s'érode au fil du temps. La croissance de la production de lait de vache progresse lentement depuis 2010 (**Figure 1**).



**Figure 1** : Production laitière dans le monde. Source : GEB-Institut de l'Élevage d'après FAO & FIL (**Duflot et al., 2022**).

En 2022, la production laitière a peiné à se maintenir sur le continent Africain, mais elle reste globalement stable en Algérie (**Duflot et al., 2022**). Malgré tous les efforts de l'Etat Algérien pour développer sa production nationale, le pays reste très dépendant de l'importation en matière de lait et ses dérivés (**Duflot et al., 2022**). La production locale avoisine les 3,5 milliards de litres de lait, alors que la consommation annuelle est d'environ 5 milliards de litres, ce qui correspond à une moyenne de 145 à 150 litres/hab/an (**Demmad, 2021**).

## **1.2. Généralités sur le lait**

### **1.2.1. Définition du lait**

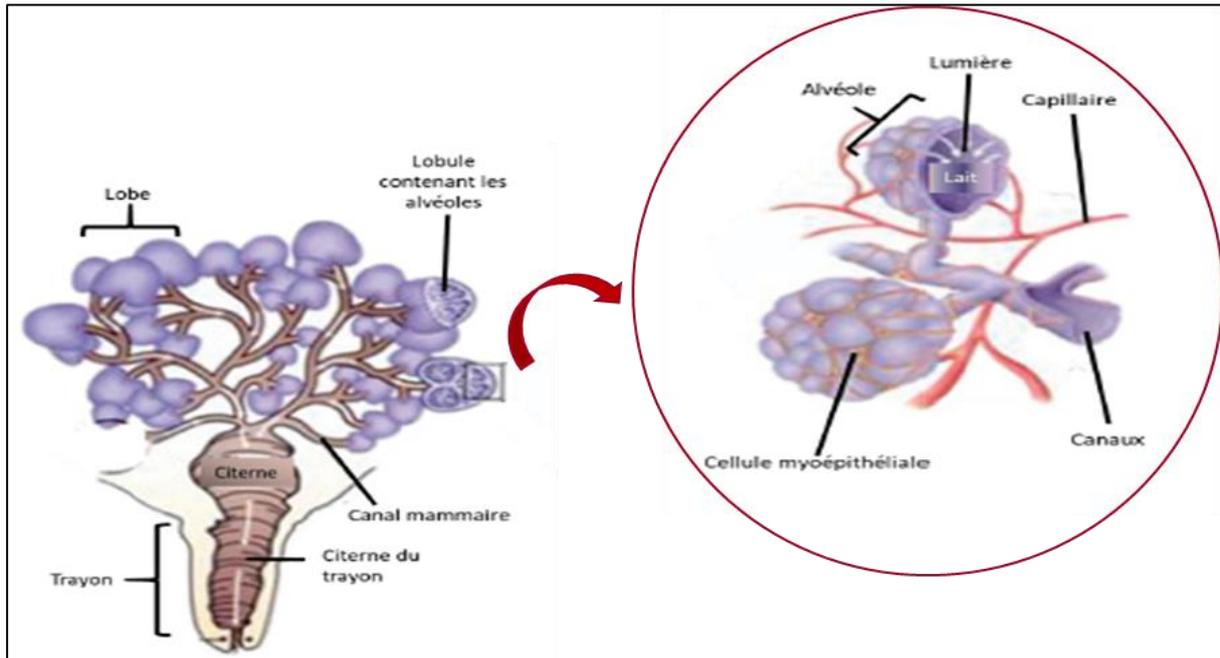
Le lait a été défini de façon officielle dès 1908 lors du 1<sup>er</sup> Congrès International pour la Répression des Fraudes Alimentaires et Pharmaceutiques : « *Produit intégral de la traite complète et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée* » (**Berthelot, 2018**).

Produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères, destiné à l'alimentation du jeune animal naissant. Au-delà de cette fonction, le lait peut être transformé en plusieurs produits alimentaires (**Vuillemard, 2018**). Cet aliment intéresse tout spécialement les humains compte tenu de sa composition qui en fait un aliment avec des caractéristiques nutritionnelles également adaptées à notre espèce (**Perreau, 2014**).

### **1.2.2. Glande mammaire et synthèse du lait**

La structure particulière de la glande mammaire lui permet d'assurer conjointement la synthèse et la sécrétion du lait (**Charton, 2017**). Elle se développe progressivement dès la vie fœtale et juvénile, puis au rythme des cycles de gestation et de lactation de la femelle (**Billa, 2020**). Chez la vache, la glande mammaire est constituée de quatre quartiers anatomiquement et physiologiquement indépendants. Ces quartiers ont la particularité de posséder une citerne permettant de stocker le lait entre les tétées ou les traites. Deux types de tissus sont présents dans la glande mammaire : l'épithélium, composé de canaux et d'alvéoles, et le stroma, appelé aussi tissu conjonctif ou coussinet adipeux mammaire, qui assure le soutien des tissus producteurs. L'épithélium est divisé en lobes, eux-mêmes divisés en lobules formés d'acini ou alvéoles (**Perreau, 2014**).

La fonction sécrétoire des acini est assurée par une monocouche de cellules épithéliales luminales qui sont les cellules sécrétrices polarisées. Selon leur localisation, ces cellules se différencient de deux façons : en cellules luminales canalisées le long des canaux, ou en cellules productrices et sécrétrices de lait au niveau des alvéoles. Selon **Billa (2020)**, les acini sont bordés par des capillaires sanguins permettant l'apport d'éléments essentiels à la production du lait, et par des cellules myoépithéliales qui permettent, par leurs contractions, l'évacuation du lait dans les canaux qui finissent par se rejoindre dans la citerne (**Figure 2**).



**Figure 2** : Schéma de la glande mammaire et structure d'une alvéole (**Husvéth, 2011**)

L'élaboration du lait s'effectue constamment, de manière régulière, à l'échelle d'une journée. La sécrétion lactée est unidirectionnelle, du compartiment sanguin vers le compartiment luminal, et son volume est régulé principalement par le lactose, en raison de son important pouvoir osmotique (**Guinard-Flament, 2019**). Parmi les constituants du lait, il faut distinguer ceux qui sont synthétisés par les cellules sécrétrices de la mamelle : le lactose, les caséines et les matières grasses, de ceux qui sont directement prélevés dans le sang et incorporés sans transformation dans le lait : les protéines sériques (notamment les immunoglobulines), les éléments minéraux, les vitamines, l'urée, les enzymes et les hormones (**Perreau, 2014**).

### 1.2.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées en industrie laitière sont résumées par **Jantet et al. (2017)** :

- La densité du lait à 15°C varie de 1,028 à 1,035, avec une moyenne de 1,030.
- Le point de congélation peut varier de -0,520°C à -0,560°C avec une valeur moyenne de -0,545°C. Un point de congélation supérieur à -0,520 °C permet de soupçonner une addition d'eau au lait.
- Le point d'ébullition est de 100,5°C.

- L'acidité titrable, plus couramment, exprimée en degrés Dornic (°D). Pour un lait frais, elle est de 15-17°D.
- Le pH d'un lait frais se situe entre 6,6 et 6,8. Le colostrum a un pH plus bas (pH<6,0) du fait de sa teneur élevée en protéines, alors que les mammites élèvent le pH du lait (pH >7,5).

#### 1.2.4. Composition du lait

Les constituants majeurs du lait de vache sont présentés dans le **tableau 1**. Les protéines présentent un intérêt tout particulier car elles sont responsables des propriétés technologiques du lait (**Bouichou, 2015**). Sur la base de la précipitation à pH 4,6 on peut distinguer :

**Tableau 1** : Composition générale du lait de vache (**Vuillemand, 2018**)

Constituant	Description générale	Composition moyenne (g/100g)
<b>Eau</b>	Phase liquide, solvant	87,5 (85,5-89,5)
<b>Solides non gras</b>	Lactose, protéines, minéraux	8,9 (7,9-10,0)
<b>Matière grasse</b>	Microgouttelettes de matière grasse entourées d'une membrane	3,8 (2,5-5,5)
<b>Glucides</b>	Essentiellement du lactose	4,7 (3,6-5,5)
<b>Matières azotées</b>	Micelles de caséines en suspension	3,3 (2,9-5,0)
	Protéines du lactosérum en solution	
	Azote non protéique : urée, créatine, etc	
<b>Matières salines</b>	Calcium, potassium, phosphore, acide citrique, etc	0,8 (0,7-0,9)
<b>Divers</b>	Vitamines : A, D, E, K, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub> , etc.	Traces
	Enzymes: lactoperoxydase, plasmine, lipase, etc.	
	Gaz dissous : gaz carbonique, azote et oxygène.	

✚ **Les caséines** : protéines coagulables ; au nombre de 4 ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  et  $\kappa$ ), elles représentent environ 80% des protéines, et sont pour la plupart associées entre elles par différentes interactions sous la forme d'une structure sphérique appelée micelle. Les caséines  $\gamma$  sont, pour leur part, des fragments peptidiques issus de la dégradation de la  $\beta$ -caséine par la plasmine (**Bouichou, 2015** ; **Jeantet et al., 2017** ; **Vuillemand, 2018**). Le **tableau 2** résume les principales caractéristiques des caséines du lait.

**Tableau 2 :** Principales caractéristiques des caséines du lait de vache (Vuillemand, 2018)

Type de caséine	PM (KDa)	Nombre d'acides aminés	Groupements phosphorylés	Présence de résidu glucidique	Sensibilité au calcium
Caséine $\alpha_{S1}$	23,6	199	8-9	-	++
Caséine $\alpha_{S2}$	25,2	207	10-13	-	+++
Caséine $\beta$	24,0	209	5	-	+
Caséine $\kappa$	19,0	169	1-2	+	-

✚ Les protéines solubles : ne coagulent pas, et représentent environ 20% des protéines totales. Le tableau 3 rend compte de la composition en protéines solubles. On y trouve des protéines synthétisées au niveau de la cellule mammaire ( $\alpha$ -lactalbumine,  $\beta$ -lactoglobuline), des protéines d'origine sanguine (bovine sérum albumine, immunoglobulines) et des produits d'hydrolyse de certaines caséines tels que les protéoses peptones (Jeantet *et al.*, 2017).

**Tableau 3 :** Teneurs et propriétés des protéines du lactosérum (Vuillemand, 2018)

Protéines	Pourcentage (g/L)	PM (Da)	PI	Structure secondaire	Ponts S-S	Thiol SH
$\beta$ -lactoglobuline	10-12 (3,2)	18,300	5,2	45% feuillets $\beta$ 10% hélices $\alpha$	2	1
$\alpha$ -lactalbumine	4-5 (1,2)	14,200	5,1	26% feuillets $\beta$ 14% hélices $\alpha$	4	0
Bovine Sérum Albumine (BSA)	1,2 (0,4)	69,000	4,8	40% feuillets $\beta$ 54% hélices $\alpha$	17	1
Immunoglobulines (IgG)	2,1 (0,8)	150,000 à $1 \times 10^6$	4,6-6,0	--	32	--
Protéoses peptones	2,4 (0,9)	4,000 à 40,000	3,7	--	--	--

### 1.3. Facteurs de variation de la production et de la composition du lait cru

Plusieurs facteurs sont à l'origine des variations de la qualité du lait cru. L'alimentation, la race, le niveau génétique, le stade de lactation, la gestion et la saison, ainsi que les interactions entre eux affectent la composition du lait (Schwendel *et al.*, 2014 ; Kaouche-Adjlane, 2019).

#### 1.3.1. Facteurs intrinsèques

Ces facteurs liés à l'animal, peuvent être de différentes natures et à différentes échelles, allant du génome au stade physiologique de l'animal (Billa, 2020).

### 1.3.1.1. Facteur génétique

Il existe différentes races de vaches laitières, chacune ayant des caractéristiques phénotypiques qui leur sont propres (**Balandraud et al., 2019**). Une grande variabilité existe entre individus d'une même espèce et d'une même race, y compris lorsque les conditions d'élevage et le statut physiologique des animaux sont identiques. L'amplitude de cette variabilité individuelle est nettement supérieure à celle observée entre les races (**Berthelot, 2018**).

Les polymorphismes de chaque race peuvent affecter divers paramètres tels que la synthèse ou la sécrétion de certains constituants du lait comme les protéines (**Sanchez et al., 2017**). Dans le **tableau 4** on constate que les différentes races n'ont pas toutes le même niveau de production et ne fournissent pas un lait de composition strictement identique (**Perreau, 2014**).

**Tableau 4 : Production et composition du lait chez certaines races de vaches  
(Berthelot, 2018)**

Race des vaches	Production laitière (kg)	Durée de lactation (jours)	Taux butyreux (g/kg)	Taux protéique (g/kg)	Nombre de lactations
<b>Holstein</b>	9352	348	39,0	31,8	1706420
<b>Montbéliarde</b>	7079	308	38,7	32,9	439609
<b>Normande</b>	6488	322	42,1	34,6	217642
<b>Abondance</b>	5390	298	36,9	33,3	23412
<b>Brune</b>	7367	338	41,6	34,2	17344
<b>Simmental</b>	6159	302	39,9	33,7	16938
<b>Pie rouge des Plaines</b>	7779	330	42,5	33,2	10221
<b>Tarentaise</b>	4190	280	36,6	32,3	7816
<b>Jersiaise</b>	5071	324	55,4	38,4	5829
<b>Salers</b>	2239	219	34,3	32,2	1315

### 1.3.1.2. Stade et nombre de lactations

La production du lait est en corrélation évidente avec l'âge ; elle augmente depuis le premier part jusqu'au sixième, puis va en diminuant du septième au quatorzième (**Larbaletrier, 2015**). L'effet de la parité sur les taux butyreux et protéique du lait de vache est faible. Les variations observées entre les deux premières lactations sont d'autant plus importantes que les génisses vêlent jeunes (**Legarto et al., 2014**). Au-delà de quatre lactations, les taux butyreux

et protéique ont tendance à diminuer, surtout lorsque la mamelle a subi des mammites récurrentes. La parité n'a pas d'effet sur la taille des globules gras, le profil en protéines, le temps de coagulation du lait ou la fermeté du gel (**Gelé *et al.*, 2014 ; Bittante *et al.*, 2015**). La flore microbienne qui colonise la surface des trayons augmente et se diversifie avec l'avancement de la parité, en particulier lorsque l'état de surface des trayons est détérioré (**Monsallier *et al.*, 2012**).

La production laitière et la composition du lait varient aux différentes étapes de la lactation (**Billa, 2020**). Le numéro de lactation intervient dans l'épanouissement de l'activité sécrétoire de la mamelle. Le sommet de la production laitière est atteint à partir de la 5<sup>ème</sup> lactation (**Yennek, 2010**). Bien que la taille des globules gras diminue, les taux butyreux et protéique, le temps de coagulation du lait et la fermeté du gel augmentent avec l'avancement dans le stade de lactation (**Tableau 5**) (**Bittante *et al.*, 2015**). Cette liaison considérée comme un processus de dilution en raison d'une baisse dans les quantités de lait produites (**Srairi *et al.*, 2009**). Les teneurs du lait en protéines solubles, en plasmine et en cellules somatiques augmentent, mais la part des différentes caséines dans les protéines évolue peu (**Gelé *et al.*, 2014 ; Perna *et al.*, 2014**). Le rendement fromager est plus élevé que le niveau de production est faible en raison de la corrélation négative entre la quantité et qualité du lait produit (**Pradal, 2012 ; Berthelot, 2018**).

La production et la teneur du lait en lactose suit la même allure que la production laitière : un pic entre 30 et 60 jours de lactation puis une diminution régulière sur la suite de la lactation (**Malchiodi *et al.*, 2014**). La concentration en lactose est plus faible de 1,9% à 3,1% entre des vaches multipares par rapport à d'autres primipares (**Lucy *et al.*, 2009 ; Malchiodi *et al.*, 2014**).

**Tableau 5 : Effet du stade de lactation sur la qualité du lait de vache (Berthelot, 2018)**

Composition et propriétés du lait	Début de lactation	Milieu de lactation	Fin de lactation
Taux butyreux (g/kg)	36,3	40,1	42,0
Taux protéique (g/kg)	31,0	33,2	38,1
Caséines/protéines (%)	83	83	82
Protéines solubles (g/kg)	5,4	5,6	6,8
Calcium (g/kg)	1,26	1,24	1,43
Cellules somatiques (log/mL)	4,77	5,10	5,42
pH	6,68	6,68	6,74
Temps de coagulation (min)	8,4	8,6	9,6
Fermeté du gel (mm)	37,7	38,0	38,6

### 1.3.1.3. Etat de santé des vaches

La rentabilité des élevages laitiers est conditionnée par l'état de santé des vaches (Serieys, 2015). Les quantités de lait produites chutent d'une façon considérable dès l'installation des mammites (Taylor, 2006). Une infection mammaire perturbe le fonctionnement de la glande et la composition du lait produit. Ces perturbations résultent de l'infection elle-même, suite à la présence de bactéries pathogènes dans la glande mammaire infectée et de la réaction inflammatoire de défense associée (Rezamand *et al.*, 2007).

L'infection de la mamelle entraîne une baisse de ses capacités de synthèse, de façon d'autant plus importante que l'infection est sévère. Les concentrations des constituants du lait provenant du sang augmentent, alors que celles des constituants synthétisés par la mamelle diminuent (Coulon *et al.*, 2002). Les variations les plus nettes sont l'élévation des taux de sodium et de chlore et la diminution du taux de potassium. Ce bouleversement des équilibres minéraux est associé à une augmentation considérable du pH (de 6,6 à 6,9), qui détériore l'aptitude du lait à la transformation fromagère : il coagule mal, se raffermite et s'égoutte moins bien et le rendement fromager est diminué. En outre, la membrane enveloppant les globules gras est altérée, les teneurs en enzymes protéolytiques et lipolytiques sont augmentées, ainsi que la teneur en acides gras libres, ce dernier point dénotant une lipolyse du lait, qui peut être multipliée par trois dans un lait avec plus de 750 000 cellules/mL par rapport à un lait sain (Ogola *et al.*, 2007).

Les animaux atteints de troubles divers ont un appétit réduit en lien avec la douleur et le mal-être qu'ils ressentent, ce qui diminue la disponibilité en nutriments utiles pour la production. De plus, dans le cas des troubles de locomotion, l'animal minimise ses déplacements pour s'alimenter, ce qui accentue la réduction des quantités ingérées (**Perreau, 2014**).

### **1.3.2. Facteurs extrinsèques**

#### **1.3.2.1. Traite des vaches**

Le rythme, la fréquence et le mode de traite peuvent modifier la composition du lait, ainsi que sa qualité technologique et, dans une moindre mesure, nutritionnelle. L'environnement et la conduite de la traite ont par ailleurs un effet spécifique sur la qualité bactériologique ou sanitaire du lait (**Berthelot, 2018**).

Trois traites par jour augmentent les quantités produites par l'animal alors que la monotraite les réduit ; à l'inverse, la suppression d'une traite par semaine, même bien gérée, a un léger impact négatif à ce niveau. Les premiers jets sont pauvres en matières grasses, alors que les derniers en sont plus pourvus. Le lait résiduel, évacué en fin de traite, a donc une plus forte teneur en matières grasses, d'où l'intérêt d'une traite complète. Lorsque la fréquence de traite augmente, les taux ont tendance à diminuer par effet de dilution de la matière synthétisée dans une plus grande quantité de lait (**Perreau, 2014**).

Pour les troupeaux sains au préalable, la numération cellulaire dans le lait peut même être réduite avec la machine à traire. En revanche, son usage pour des troupeaux souffrant d'infections mammaires récurrentes aggrave le problème et augmente en conséquence les teneurs du lait en cellules somatiques (**Berthelot, 2018**).

#### **1.3.2.2. Alimentation**

Chez les vaches laitières, l'alimentation affecte réversiblement la composition du lait (**Billa, 2020**). Cette dernière évolue principalement au niveau de la teneur en matières grasses et de leur composition en acides gras et en vitamines liposolubles. En effet, le niveau des apports énergétiques et azotés joue un rôle important sur la production laitière, mais aussi sur la composition du lait et sur son aptitude à la transformation fromagère. Notons qu'une augmentation du niveau des apports énergétiques s'accompagne d'une augmentation de production et du taux protéique et, en général, d'une diminution du taux butyreux (**Berthelot, 2018**).

**Wolter et Ponter (2012)**, rapportent que les variations du taux protéique dues à l'alimentation n'entraînent pas de modification du rapport caséines/protéines du lait ; elles ont ainsi un effet direct sur la consistance du caillé obtenu par coagulation et sur le rendement fromager. Aussi, la composition ou la diversité botanique des fourrages semblent avoir très peu d'effet sur la composition physicochimique du lait et sur sa qualité technologique. En revanche, une augmentation de la part de concentré dans la ration des vaches, entraîne une diminution du taux butyreux du lait. La libre disposition fréquente ou mieux permanente d'une eau appétente et fraîche est primordiale pour soutenir la production laitière.

Un bilan protéique négatif entraîne une baisse de la concentration en acides aminés essentiels dans la circulation sanguine (**Fayolle, 2015**). On peut supposer que la physiologie de la mamelle n'est pas la seule à être affectée, mais ce faible taux de circulation constitue un facteur limitant dans les apports à la mamelle et la synthèse du lait (**Larsen et al., 2014**).

### **1.3.2.3. Température et saison**

La production laitière est réduite d'autant plus fortement que la chaleur est élevée, ainsi que les teneurs du lait en matières grasses et protéiques, qui diminuent linéairement avec l'élévation de la température (**Bertocchi et al., 2014**). Les températures froides ont des effets moins rapides et de moindre importance (**Berthelot, 2018**).

Les variations saisonnières ne peuvent pas être attribuées à un effet spécifique de la saison, dans la mesure où ce dernier se combine avec ceux de l'alimentation et du stade physiologique des animaux mais aussi avec ceux de la qualité bactériologique du lait et des conditions de transformation fromagère (**Berthelot, 2018**).

## **2. Qualité du lait et aptitudes à la transformation**

### **2.1. Qualité du lait**

Le lait de vache est un produit sanctuarisé ; sa qualité est un « tout » qui ne doit pas présenter de discontinuité. Elle commence au niveau du cheptel en passant par la conservation du lait et les conditions de stockage et de transformation. C'est donc un critère de rentabilité directe de l'élevage au même titre que la quantité (**Pradal, 2012 ; Quartier, 2016**).

La qualité du lait est généralement déclinée en qualité intrinsèque, liée à sa composition, et qui s'apprécie selon l'utilisation prévue ; et en qualité extrinsèque, liée aux services attendus par le consommateur. Cette dernière comprend l'image véhiculée par le lait, qui dépend en

partie des conditions de production, des impacts environnementaux, du prix et de la facilité d'utilisation (**Berthelot, 2018**).

La qualité technologique du lait, est envisagée selon son aptitude à être transformé en un produit donné. En fabrication beurrière, les propriétés physiques des matières grasses du lait déterminent en grande partie l'aptitude beurrière de la crème. Les critères considérés pour caractériser cette dernière sont le rendement et le temps d'obtention (**Berthelot, 2018**).

La qualité sanitaire des aliments correspond à leurs propriétés et caractéristiques susceptibles d'avoir un effet sur la santé et la sécurité du consommateur. Elle est garantie par l'application de normes se référant à des teneurs maximales en certains microorganismes ou contaminants.

Le lait cru contient naturellement des flores microbiennes d'intérêt technologique. Il peut cependant être contaminé par des flores d'altération, sans danger pour la santé mais qui peuvent poser problème au cours de la fabrication, ou par des flores pathogènes, susceptibles d'engendrer des maladies chez l'homme. Le respect des normes sanitaires est lié en premier lieu à la qualité microbiologique du lait mis en fabrication, dans la mesure où les effets correcteurs du procédé technologique sont très limités (**Berthelot, 2018**).

## **2.2. Transformation du lait en fromage**

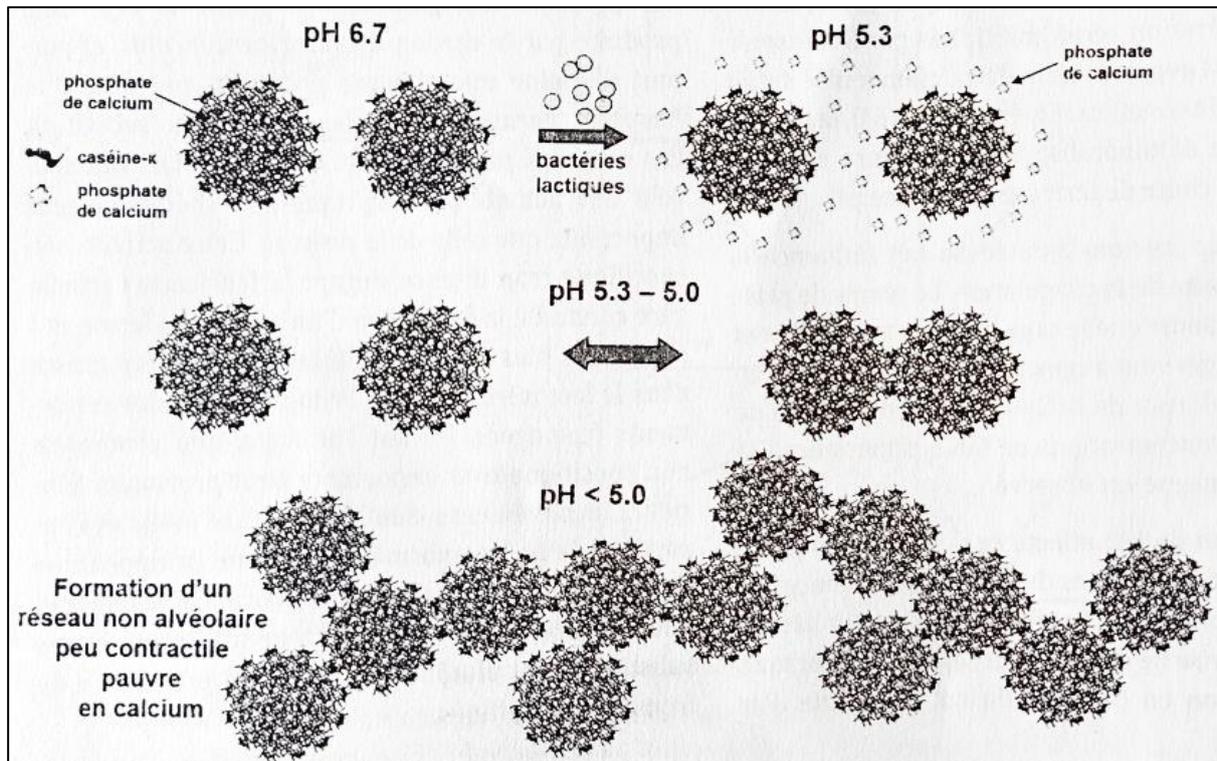
La transformation du lait en fromage permet de conserver les éléments nutritifs du lait pendant des périodes plus ou moins longues (**Vuillemand, 2018**). Tous les laits n'ont pas la même aptitude à la transformation fromagère car ils présentent un certain nombre de caractéristiques différentes (**Jeantet et al., 2017**). Quel que soit la variété de fromage que l'on se propose de fabriquer, la première opération à faire est la coagulation.

### **2.2.1. Coagulation du lait**

La coagulation est étroitement liée à l'organisation structurale de la micelle de caséine, pièce maîtresse qui crée la charpente du fromage. Elle correspond à la déstabilisation des micelles qui flocculent puis s'assemblent pour former un gel emprisonnant les éléments solubles du lait. La coagulation peut être obtenue par acidification, par l'action d'une enzyme ou encore par l'action combinée des deux (**Vuillemand, 2018**).

### ✚ Coagulation par voie acide

L'acidification du lait a pour première conséquence la dissociation des micelles de caséine par solubilisation du phosphate de calcium colloïdal. Les caséines dissociées précipitent lorsque le pH isoélectrique (pH ~ 4,6) est atteint (**Figure 3**). En pratique, l'acidification du lait est réalisée par fermentation lactique, ajout d'acide minéral, échange cationique, électrodialyse ou ajout de gaz carbonique (**Vuillemand, 2018**).



**Figure 3** : Coagulation acide du lait et formation du réseau (**Dalgleish, 2007**)

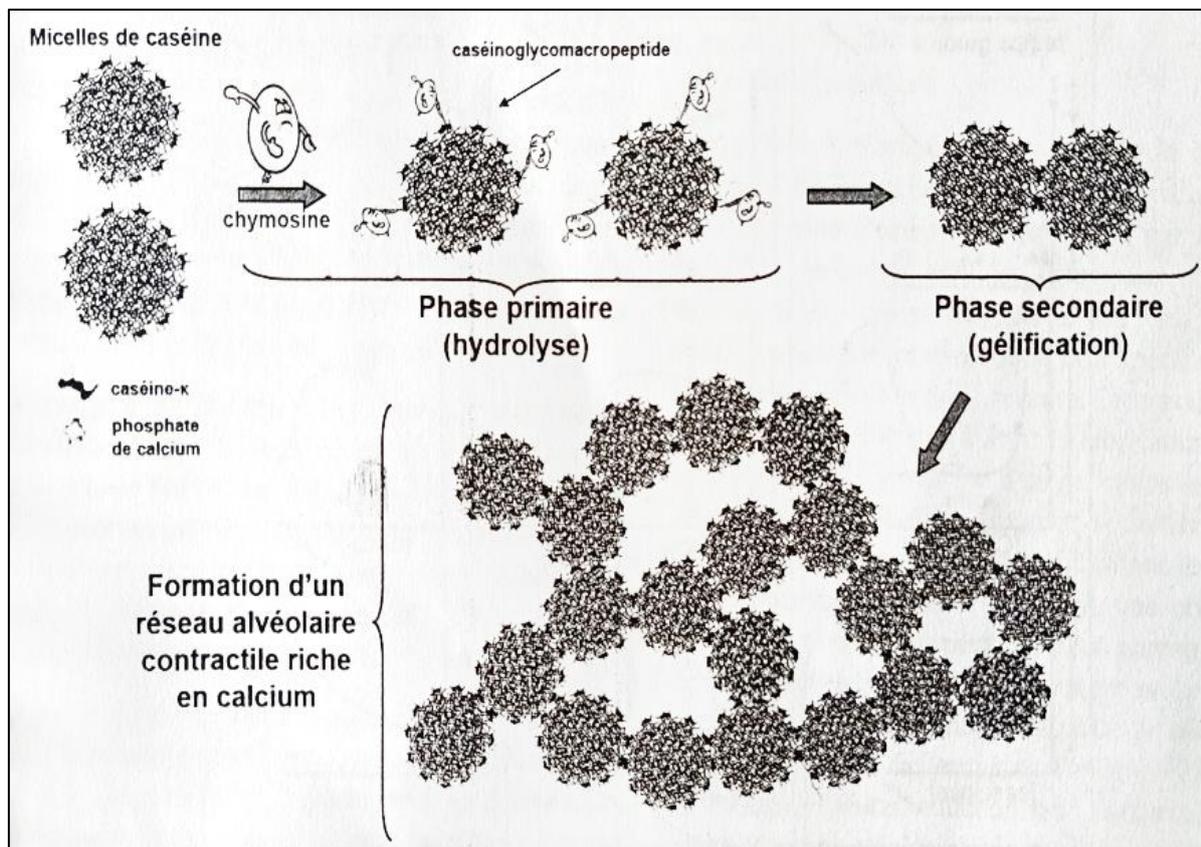
### ✚ Coagulation par voie enzymatique

La présure d'origine animale, constituée principalement de chymosine et de pepsine, est le coagulant le plus souvent utilisé. Le mécanisme de coagulation enzymatique du lait comporte deux phases (**Figure 4**) :

- ☞ La phase primaire (enzymatique), correspond à l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  au niveau de la liaison Phe<sub>105</sub>-Met<sub>106</sub>. La chaîne peptidique se trouve ainsi coupée en deux segments inégaux : le segment 1-105 est la paracaséine  $\kappa$  et le segment 106-169, le caséinoglycomacropéptide (CMP). La paracaséine  $\kappa$  liée aux caséines  $\alpha$  et  $\beta$  reste intégrée

à la micelle hydrophobe et le CMP contenant le résidu glucidique est libéré dans le lactosérum d'où diminution importante de la charge électrique des micelles et de leur degré d'hydratation.

- ✂ La phase secondaire (d'agglomération), débute lorsque 85% à 90% de la caséine  $\kappa$  est hydrolysée. Les micelles déstabilisées interagissent entre elles par des liens hydrophobes. Les ions calcium établissent des liaisons ioniques entre les groupements chargés négativement des micelles. L'acidification par le ferment conduit à la neutralisation partielle des charges négatives des micelles, ce qui favorise leur agrégation. Ce processus de réorganisation des micelles déstabilisées conduit à la formation d'un réseau protéique de type alvéolaire contractile emprisonnant la totalité de la phase aqueuse (**Vuillemard, 2018**).



**Figure 4 :** Phases de la coagulation enzymatique du lait et formation du réseau  
(Dagleish, 2007)

### 2.2.2. Présure commerciale et coagulation

La coagulation autrefois essentiellement réalisée par de la présure animale, est maintenant au niveau mondial à plus de 50% le fait de chymosine produite par fermentation. L'activité de ces préparations commerciales est le plus souvent déterminée par la mesure du temps de coagulation du lait (**Jeantet et al., 2017**).

- **Force de la présure (F)**

Correspond au volume de lait frais de grand mélange coagulé par un volume de présure en 40 minutes (soit 2400 s) et à 35°C :

$$F = \frac{2400 \cdot V_{\text{lait}}}{t \cdot V_{\text{présure}}}$$

Avec  $V_{\text{lait}}$  : le volume de lait coagulé,  $V_{\text{présure}}$  : le volume de présure mis en œuvre,  $t$  : le temps de coagulation (s).

- **Unité présure (UP)**

Quantité d'enzyme contenue dans 1mL de solution pouvant coaguler 10mL de substrat en 100 secondes et à 30°C :

$$UP = \frac{10 \cdot V_{\text{lait}}}{t \cdot V_{\text{présure}}}$$

## 2.3. Contaminants du lait

### 2.3.1. Microorganismes

Chez un animal en bonne santé, au moment de la traite, le lait devrait contenir moins de 5000 bactéries par millilitre. Cette flore initiale est composée essentiellement de bactéries lactiques, dont l'habitat est l'intérieur du trayon. Dès son contact avec les équipements, le lait sera contaminé par diverses espèces microbiennes y compris les bactéries pathogènes telles que *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, les espèces d'*Escherichia coli* entéropathogènes, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens*. En effet, les normes ci-dessous sont adaptées aux laits crus :

- pas plus de 50 000 bactéries vivantes/mL pour les laits destinés à la consommation ;
- pas plus de 500 000 bactéries mésophiles vivantes/mL pour des laits destinés à la transformation ;
- moins de 2000 *Staphylococcus aureus* vivants par mL de lait (**Vuillemard, 2018**).

### **2.3.2. Cellules somatiques**

L'intrusion de bactéries pathogènes à l'intérieur de la glande mammaire suscite une réaction inflammatoire. L'intensité de celle-ci pourrait s'exprimer par des signes de l'inflammation décelables à l'œil nu (mammites cliniques) ou se traduit par des modifications cytologiques du lait (mammites subcliniques). Les cellules somatiques proviennent du sang, L'augmentation du taux de cellules somatiques d'origine sanguine est de règle dans le lait de mammites subcliniques. Ainsi, la qualité du lait de vache est tributaire de sa teneur en cellules somatiques fixées par la réglementation Européenne à une quantité maximale de 500 000 cellules/mL (**Vuillemard, 2018**).

### **2.3.3. Résidus d'antibiotiques**

En plus de son effet néfaste pour la santé humaine, la présence de résidus d'antibiotiques ralentit ou inhibe la croissance des ferments lactiques, ce qui aura un effet sur l'acidification, le caillage et l'égouttage du lait et résultera en de graves problèmes de composition, de texture et d'affinage des fromages. L'usage des antibiotiques dans le traitement des vaches doit se faire avec le plus grand soin, tout en veillant sur l'élimination des laits issus de vaches traitées avant achèvement du délai d'attente. Le dépistage des résidus d'antibiotiques doit être effectué sur chaque chargement de lait dès l'arrivée à l'usine. La réglementation ne tolère aucun résidu d'antibiotique et tout chargement positif est rejeté (**Vuillemard, 2018**).

### **2.3.4. Résidus d'antiseptiques**

En l'absence de précautions adéquates, certains produits de lavage et de désinfection pourraient être présents dans le lait. Dans ce cas, le lait pourrait contenir des composés chimiques qui menacent l'innocuité du lait et qui pourraient nuire à sa fermentation. La réglementation ne tolère aucun résidu de substance inhibitrice dans le lait (**Vuillemard, 2018**).

### **2.3.5. Eau**

Un pourcentage d'eau anormalement élevé et une acidité anormale sont des indices d'un lait contenant des eaux de lavage. Un « lait mouillé » indique une présence étrangère d'eau qui est détectée par la mesure du point de congélation du lait (**Vuillemard, 2018**).

## **2.4. Mammites subcliniques et qualité du lait**

### **2.4.1. Définition de la mammite**

La mammite est définie comme étant l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la glande mammaire (**Sharif et Muhammad, 2009**). Les animaux domestiques impliqués dans la production laitière sont les plus touchés (**Barlow, 2011**). Une mammite est généralement due à une infection bactérienne ascendante à travers le canal du trayon d'un quartier (**Royster et Wagner, 2015**). Elle se caractérise par une augmentation de la concentration en cellules somatiques dans le lait et a pour conséquence des modifications physico-chimiques du lait (**Vedrine, 2019**). Selon l'apparition ou non de symptômes, les mammites peuvent être subdivisées en deux catégories : cliniques ou subcliniques (**Royster et Wagner, 2015**).

### **2.4.2. Classification des mammites**

#### **2.4.2.1. Mammites cliniques**

Les mammites cliniques se caractérisent par la présence de signes cliniques fonctionnels et locaux, voire généraux. Les signes cliniques fonctionnels se traduisent par une modification de la sécrétion de la glande mammaire matérialisée par un changement de l'aspect (grumeaux, sang ou caillots sanguins, pus dans le lait) et de la composition du lait. Les signes locaux sont observés lors d'un processus inflammatoire classique à savoir : rougeur, tuméfaction, chaleur et la douleur du quartier atteint (**Issa Ibrahim, 2015**). Enfin, les signes cliniques généraux se traduisent par un abattement général de l'animal avec parfois un décubitus, une hyperthermie, une déshydratation, une perte de l'appétit, pouvant dans les cas exceptionnels conduire à la mort (**Vedrine, 2019**).

#### **2.4.2.2. Mammites subcliniques**

La mammite subclinique est une évolution de la mammite latente, mais elle peut aussi correspondre à une mammite clinique traitée mais dont le traitement n'a pas réussi à éliminer totalement le pathogène. La vache n'exprime pas de signe clinique mais on observe une diminution de la production laitière simultanément à une variation de la composition du lait du quartier atteint, ainsi qu'une élévation de sa numération cellulaire avec prédominance des leucocytes et principalement des polynucléaires neutrophiles. Les variations sont uniquement microscopiques et la mammite reste asymptomatique (**Remy, 2010**). Le diagnostic des mammites subcliniques repose sur la numération des cellules somatiques du lait, la mise en

évidence des modifications chimiques et la recherche de la bactérie en cause (**Bardiau et al., 2014**).

#### **2.4.3. Etiologie bactérienne des mammites**

Selon le réservoir des germes impliqués dans les mammites, on peut distinguer la mammite contagieuse et la mammite d'environnement (**Gelasakis et al., 2015**). Les bactéries d'origine animale sont des colonisateurs permanents de la peau, en particulier des trayons. Ils présentent une persistance très faible à modérée dans l'environnement (**Contreras et al., 2007 ; Omaleki et al., 2011 ; Gelasakis et al., 2015**). *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis* et *Mycoplasma spp.* sont les bactéries classiquement impliquées dans les mammites contagieuses (**George et al., 2008**). Il est généralement admis que *S. aureus* a pour réservoir la mamelle infectée et les lésions infectées des trayons ; sa transmission est plus élevée en cas de mammites subcliniques (**Vedrine, 2019**).

Les isolats d'origine environnementale correspondent aux espèces bactériennes fréquemment isolées du sol, de la litière, de l'eau, du foin, etc. Ces bactéries telles que les coliformes, les autres entérobactéries, les entérocoques, les *Listeria spp.*, les *Bacillus*, *Pseudomonas*, présentent une persistance longue à très longue dans l'environnement extérieur (**Gelasakis et al., 2015**).

#### **2.4.4. Physico-chimie du lait de mammite subclinique**

Selon **Berthelot (2018)**, les laits de vaches sont considérés comme sains jusqu'à environ 70 000 cellules/mL. Les divers germes pathogènes à l'origine de la mammite provoquent une élévation plus ou moins forte du taux de cellules, des modifications spécifiques de la composition du lait ainsi qu'une baisse des capacités de synthèse, de façon d'autant plus importante que l'infection est sévère. La concentration des constituants du lait provenant du sang augmente, alors que celle des constituants synthétisés par la mamelle diminue. Les variations les plus nettes sont l'élévation des taux de sodium et de chlore et la diminution du taux de potassium (environs -30%). Ce bouleversement des équilibres minéraux est associé à une augmentation considérable du pH, qui détériore l'aptitude du lait à la transformation fromagère : il coagule mal, se raffermite et s'égoutte moins bien et le rendement fromager est diminué. En outre, la membrane enveloppant les globules gras est altérée, les teneurs en enzymes protéolytiques et lipolytiques sont augmentées, ainsi que la teneur en acides gras

libres, ce dernier point dénotant une lipolyse du lait, qui peut être multipliée par trois dans un lait avec plus de 750 000 cellules/mL par rapport à un lait sain. De plus, le lait des vaches atteintes de mammites subcliniques pose problème au niveau de ses protéines. Les anomalies sont la protéolyse, un taux de protéines solubles élevé (notamment les immunoglobulines) et un taux de caséines plus faible du fait d'une activité mammaire réduite (**Cauty et Perreau, 2009**). Le rapport caséines/protéines totales peut passer de 77% dans un lait normal à 63% dans un lait contenant plus de  $10^6$  cellules somatiques/mL. De plus, l'activité de la plasmine est accrue et l'action des protéases leucocytaires devient importante. On assiste alors à une dégradation des caséines, notamment les caséines  $\alpha_{S2}$  et  $\beta$  par la plasmine ainsi qu'une élévation du pH du lait pouvant atteindre 7 à 7,2 (**Jeantet et al., 2017**).

#### **2.4.5. Méthodes de prévention et de traitement des mammites**

La limitation de l'action des mammites peut se faire à l'aide d'actions préventives. Elles interviennent notamment par le biais de bonnes pratiques d'élevage afin d'éviter la contamination des trayons avant ou après la traite, mais aussi les contaminations entre vaches (**Williamson et Lacy-Hulbert, 2013**). Une fois que l'apparition de la mammite est observée, les actions curatives entrent alors en jeu et ont pour but d'éliminer les infections. La mise en place de différents traitements existe en fonction de la mammite ciblée. Les mammites sont presque exclusivement d'origine bactérienne, c'est pourquoi le traitement privilégié est l'utilisation d'antibiotiques. De plus en plus de bactéries résistent à ces traitements, certaines peuvent même être qualifiées de multirésistantes. Ce phénomène d'antibiorésistance a entraîné des problèmes sanitaires majeurs au niveau mondial. Il peut avoir un impact sur la santé de l'animal mais aussi sur la qualité du lait. Le lait contaminé n'est donc pas commercialisé avant la rémanence de l'antibiotique dans le lait (**Remy, 2010**). Actuellement, l'antibiorésistance est un enjeu majeur de santé publique pour des raisons thérapeutiques, économiques et épidémiologiques. Il est logiquement nécessaire de limiter l'utilisation d'antibiotiques (**Vinet, 2021**).

Dans le cas d'une mammite subclinique, le traitement peut s'opérer durant la lactation ou au tarissement par voie intramammaire. On améliore considérablement le taux de guérison en traitant précocement et en intervenant dès l'apparition des premiers symptômes. Il faut donc avoir recours aux antibiotiques au bon moment, et avec la bonne posologie. Les actions préventives et curatives imposent donc d'avoir recours à l'utilisation d'importantes quantités

de médicaments pour le contrôle des mammites (Trevisi *et al.*, 2014). Enfin, malgré la mise en place de ces deux phases d'actions, on observe toujours une prédominance des mammites, ce qui entraîne une utilisation abusive d'antibiotiques (Oliver, Murinda et Jayarao, 2011).

### **3. Danger de la présence de *Staphylococcus aureus* dans le lait**

#### **3.1. Taxonomie et habitat**

##### **3.1.1. Position taxonomique**

La famille des *Staphylococcaceae* appartient au phylum des Firmicutes, à la classe des Bacilli et à l'ordre des Bacillales. Elle comprend 5 genres : *Jeotgalicoccus*, *Macroccoccus*, *Nosocomiicoccus*, *Slinicoccus* et *Staphylococcus*. Les quatre premiers ne contiennent pas plus de deux espèces alors que le genre *Staphylococcus* en contient plus d'une quarantaine (Wattam *et al.*, 2014).

##### **3.1.2. Habitat**

*Staphylococcus aureus* est une bactérie pathogène opportuniste retrouvée de manière commensale chez les mammifères (Haag *et al.*, 2019), préférentiellement au niveau de l'épithélium malpighien humide des fosses nasales antérieures, des aisselles, de la poitrine/abdomen, du périnée, de l'intestin ou du vagin (Van Belkum *et al.*, 2009 ; Sollid *et al.*, 2014 ; Sakr *et al.*, 2018). Ses fortes capacités d'adaptation et de résistance aux stress lui permettent de survivre dans de nombreux écosystèmes (Le Loir et Gautier, 2010). Chez les animaux de rente, *S. aureus* est incriminé dans un tiers des infections intramammaires à l'origine de pertes économiques importantes dans l'industrie laitière (Li *et al.*, 2017). Il est également connu pour provoquer des infections chez les lapins, se manifestant par une septicémie mortelle, chez les volailles ainsi que chez les moutons (Aiello, 2002).

#### **3.2. Pouvoir pathogène de *S. aureus***

##### **3.2.1. Déterminisme moléculaire**

L'étude du génome de *S. aureus* est la première étape dans la compréhension de sa pathogénie. Il varie en moyenne de 2,8 à 2,9 Mb et code environ 2800 gènes. L'analyse comparative de plusieurs génomes de *S. aureus* a montré une diversité dans la présence de gènes à savoir :

- **Le core génome**

Il regroupe un ensemble de gènes fortement conservés et partagés par toutes les souches de l'espèce et qui sont impliqués dans la transcription, la traduction et les processus métaboliques (**Lindsay et Holden, 2004 ; Bosi et al., 2016**). Le core du génome contient également des facteurs de virulence impliqués dans la synthèse des polysaccharides capsulaires, la production de cytotoxines, la fixation du fer et les adhésines extracellulaires (**Bosi et al., 2016**) ;

- **Le génome accessoire**

Il regroupe un ensemble de gènes présents chez certaines souches et comprend des gènes liés à la survie bactérienne, aux mécanismes de défense et à la résistance aux antibiotiques. Il correspond aux gènes associés aux éléments génétiques mobiles présents dans les bactéries (**Lindsay et Holden, 2004 ; Bosi et al., 2016**). Ces éléments génétiques mobiles représentés par les bactériophages, les îlots de pathogénicité, les cassettes chromosomiques, les plasmides et les transposons offrent une grande plasticité génétique à *S. aureus* (**Lindsay et Holden, 2004 ; Ziebandt et al., 2010**) ;

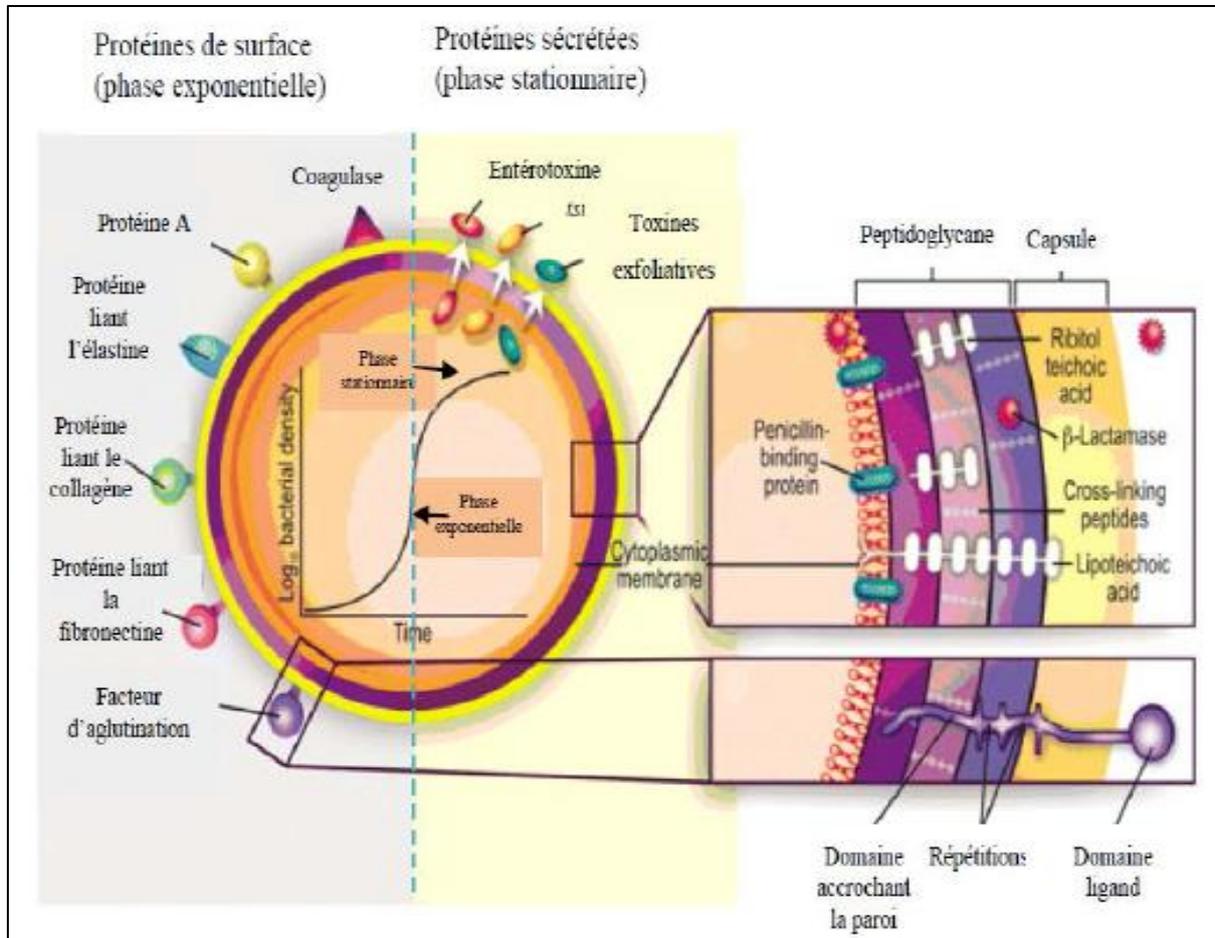
- **Le génome unique**

Il regroupe des gènes présents uniquement chez un membre de l'espèce (**Bosi et al., 2016**).

### **3.2.2. Pathogénie de *S. aureus***

La pathogénie de *S. aureus* et l'aspect multifactoriel des infections sont liés à la synthèse de nombreux facteurs de virulence dont la diversité peut s'expliquer par la grande plasticité du génome. Cette pathogénie implique trois classes de facteurs de virulence : les protéines sécrétées, les protéines de surface et les composants de la paroi (**Figure 5**). Ces facteurs sont, soit codés par le chromosome et présents chez presque toutes les souches, soit codés par des éléments génétiques mobiles comme les transposons, les plasmides ou les phages (**Le Loir et Gautier, 2010**). Des génomes complets sont disponibles et révèlent une grande variabilité dans la distribution des éléments génétiques mobiles. Ces éléments codent principalement des protéines de surface, des exotoxines et des enzymes extracellulaires. Ces facteurs sont impliqués dans les différentes étapes nécessaires à l'infection à Staphylocoques : l'adhésion,

l'échappement aux défenses de l'hôte, la pénétration et la diffusion dans les tissus (Boisset et Vandenesch, 2010).



**Figure 5 :** Principaux facteurs de virulence de *S. aureus* (Gordon *et al.*, 2008 ; Xia *et al.*, 2010).

### 3.3. Substances élaborées par *S. aureus*

#### 3.3.1. Enzymes

Un grand nombre de facteurs de virulence à caractères enzymatiques sont produits par *S. aureus*. Bien que les substrats et les mécanismes d'action sont différents, les enzymes vont agir pour permettre la décomposition des molécules bactériennes et de l'hôte, l'acquisition de nutriments ainsi que la survie et la diffusion des bactéries (Tam *et al.*, 2019). On peut citer chez *S. aureus* :

### Coagulase libre

La coagulase libre ou staphylo-coagulase, est une protéine diffusible thermostable exprimée pendant la phase exponentielle de la croissance bactérienne. Elle possède un domaine de liaison avec la prothrombine (**Boisset et Vandenesch, 2010**). En se liant à une coaguline proche de la prothrombine dans le plasma, elle forme un complexe nommé staphylothrombine qui convertit le fibrinogène en fibrine (**Cheng et al., 2010**). Cette réaction entraîne la coagulation locale du plasma autour des cocci les protégeant de la phagocytose (**Brenes et al., 2012**).

### Staphylokinase

Protéine de 136 acides aminés, codée par un prophage et exprimée par les souches lysogéniques de *S. aureus*. La staphylokinase est à la fois sécrétée dans l'environnement extracellulaire et associée à la surface cellulaire des Staphylocoques (**Bokarewa et al., 2006 ; Pietrocola et al., 2017 ; Tam et al., 2019**). Il s'agit d'un cofacteur qui détourne la plasmine de l'hôte permettant ainsi une dégradation de la fibrine et la dissémination des bactéries (**Tam et al., 2019**). La staphylokinase n'a aucune activité protéolytique mais elle agit en formant un complexe stoechiométrique avec la plasmine. Cette liaison entraîne une orientation du site actif de la plasmine afin de favoriser le clivage de la boucle d'activation du plasminogène et favoriser la conversion du plasminogène en plasmine. Cette conversion du plasminogène en plasmine à la surface de la bactérie induit une thrombolyse spécifique de la fibrine dans le plasma humain et conduit à la dégradation de deux opsonines, l'immunoglobuline G (IgG) et le fragment C3b du complément (**Pietrocola et al., 2017 ; Tam et al., 2019**). De plus, il a été montré que la staphylokinase neutralise l'activité bactéricide des défensines  $\alpha$  ce qui permet aux Staphylocoques de résister à l'immunité innée de l'hôte et renforcer notamment la résistance des bactéries à la phagocytose. Enfin, la staphylokinase réduit la formation de biofilms et facilite le détachement du biofilm mature par clivage de la fibrine (**Bokarewa et al., 2006 ; Pietrocola et al., 2017 ; Tam et al., 2019**).

### Désoxyribonucléase thermostable

Cette enzyme est active à pH alcalin en présence du calcium. Elle est douée d'une activité exo- et endonucléasique lui permettant de dégrader l'ADN et l'ARN des cellules de l'hôte (**Hu et al., 2012**).

### Catalase

La catalase est une enzyme qui convertit le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) accumulé dans la cellule, résultant du métabolisme ou lors de la phagocytose, en molécule d'eau et d'oxygène (Berche *et al.*, 1988).

### Protéases

*Staphylococcus aureus* sécrète également une famille d'enzymes appelées protéases impliquées dans la dissémination bactérienne et l'évasion immunitaire (Pietrocola *et al.*, 2017 ; Singh *et al.*, 2019 ; Tam *et al.*, 2019). *S. aureus* est connu pour produire 12 protéases : une métalloprotéase (l'auréolysine), deux cystéine-protéases (staphopaine A et B), et neuf protéases à sérine. Ces protéases à sérine comprennent la protéase SspA, les protéases à sérine-like (Sp/A à Sp/F) et les toxines exfoliatrices A et B [ETA : Exfoliatin Toxin A ; ETB : Exfoliatin Toxine B] (Pietrocola *et al.*, 2017 ; Singh *et al.*, 2019 ; Tam *et al.*, 2019).

### Lipases

Les lipases de *S. aureus* sont produites sous forme pré-pro-enzyme avant le clivage du peptide signal, permettant sa sécrétion. Le peptide sécrété pro-enzyme est ensuite clivé par l'auréolysine pour donner la lipase mature (Nguyen *et al.*, 2018 ; Tam *et al.*, 2019). Les lipases semblent avoir un rôle dans le prélèvement des nutriments dans l'environnement ainsi que dans la formation de biofilms et d'abcès (Hu *et al.*, 2012).

### Hyaluronidase

Groupe d'enzymes dégradant l'acide hyaluronique ; seuls *S. aureus* et *S. hyicus* sont connus pour produire cette enzyme. Elle joue un rôle important dans la régulation immunitaire et la dissémination bactérienne en lysant l'acide hyaluronique dans les matrices extracellulaires et les biofilms (Hart *et al.*, 2013 ; Tam *et al.*, 2019).

### β-lactamase

Enzyme située dans la membrane cytoplasmique, responsable de l'inactivation des β-lactamines à l'origine des résistances vis-à-vis de cette famille d'antibiotiques (Collomb, 2011).

### **3.3.2. Toxines**

Les toxines sont généralement définies comme des substances toxiques, sécrétées dans la matrice extracellulaire par l'organisme producteur au cours des phases post-exponentielles et stationnaires précoces et interfèrent directement avec l'hôte (**Otto et al., 2014 ; Kong et al., 2016**). Ces protéines sont généralement impliquées dans la pénétration tissulaire et permettent aux bactéries d'envahir leur hôte. Elles sont également cytolytiques et aident à la croissance bactérienne par l'acquisition de nutriments essentiels tels que le fer des cellules lysées (**Kong et al., 2016**). Les principales toxines de *S. aureus* peuvent être divisées en trois grands groupes : les toxines formant des pores, les toxines exfoliatrices et les toxines super-antigéniques (**Oliveira et al., 2018**). Ce système de production de protéines répond à un large éventail de conditions et la compréhension de ce mécanisme permettra un meilleur contrôle des infections à staphylocoques (**Oliveira et al., 2018**).

### **3.4. Toxi-infections alimentaires**

Les toxi-infections alimentaires à Staphylocoques sont considérées comme les principales toxi-infections alimentaires dans le monde. Typiquement, une toxi-infection alimentaire à Staphylocoques à un début rapide après l'ingestion d'aliments contaminés (3-5 heures). Elle est due à la production d'entérotoxines staphylococciques, toxines préformées dans les aliments et produites par le Staphylocoque pendant la croissance à une température permissive. Cependant, le temps d'incubation dépend de la quantité de toxines ingérées. Les symptômes incluent des nausées, des vomissements et des crampes abdominales avec ou sans diarrhées (**Kadariya et al., 2014**). La maladie peut être grave, mais elle dure généralement moins de 48 heures et ne laisse aucune séquelle (**Lefebvre, 2021**).

### **3.5. Production des entérotoxines staphylococciques dans la matrice alimentaire**

De nombreuses conditions physico-chimiques comme la température, le pH, la salinité, l'activité de l'eau et l'atmosphère doivent être réunies pour permettre d'une part la croissance du *S. aureus* et d'autre part la production de ses entérotoxines (**Tableau 6**). En plus de ces conditions physico-chimiques, la nature de l'aliment constitue un facteur clé permettant une croissance optimale du *S. aureus*. Ce pathogène a besoin en effet, d'aliments riches en protéines pour pouvoir se développer. Les aliments les plus fréquemment impliqués diffèrent

fortement d'une zone géographique à l'autre, cela est probablement dû aux habitudes alimentaires de chaque zone (Le Loir *et al.*, 2003).

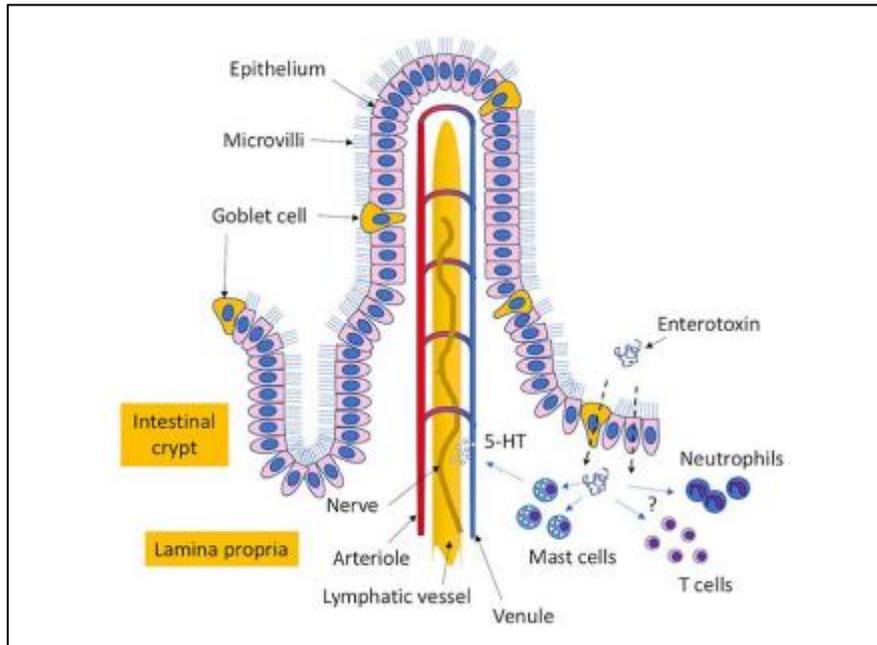
**Tableau 6 : Facteurs affectant la croissance et la production d'entérotoxines par *S. aureus* (Tatini *et al.*, 1973)**

Conditions	Croissance <i>S. aureus</i>		Production des entérotoxines	
	Optimum	Gamme	Optimum	Gamme
Température	37	7-48	37-45	10-45
pH	6-7	4-10	7-8	4-9,6
Activité de l'eau (a <sub>w</sub> )	0,98	0,83 à 0,99	0,98	0,85 à 0,99
NaCl (%)	0	0-20	0	0-10
Potentiel redox	>+200 mV	<-200 mV à >+200 mV	>+200 mV	<-100 mV à >+200 mV
Atmosphère	Aérobic	Anaérobic-aérobic	Aérobic (5-20% dissous O <sub>2</sub> )	Anaérobic-aerobic

### 3.6. Mécanismes d'action des entérotoxines staphylococciques

#### 3.6.1. Activité émétique

Les entérotoxines staphylococciques ont une activité émétique provoquant des vomissements. Un réseau de connexions ramifiées reliant de multiples organes du corps au cerveau, appelé nerf vague, est un élément essentiel dans le processus de vomissement induit par les entérotoxines staphylococciques. Ces dernières utilisent les cellules épithéliales comme porte d'entrée pour traverser l'épithélium intestinal afin d'atteindre d'autres cibles (**Figure 6**). Le mouvement des entérotoxines staphylococciques à travers les cellules épithéliales est considéré comme un processus de transcytose dépendant des glycolipides. Cela permet aux entérotoxines staphylococciques d'atteindre le nerf vague et de déclencher un vomissement par réflexe émétique. La quantité d'entérotoxines staphylococciques capables de provoquer les symptômes de toxi-infection varie en fonction des sensibilités individuelles et du type d'entérotoxines staphylococciques ingérée (le Loir *et al.*, 2003 ; Danielsen *et al.*, 2013 ; Fisher *et al.*, 2018).



**Figure 6** : Mécanisme physiologique de l'activité émétique à staphyloenterotoxines  
(Fisher *et al.*, 2018)

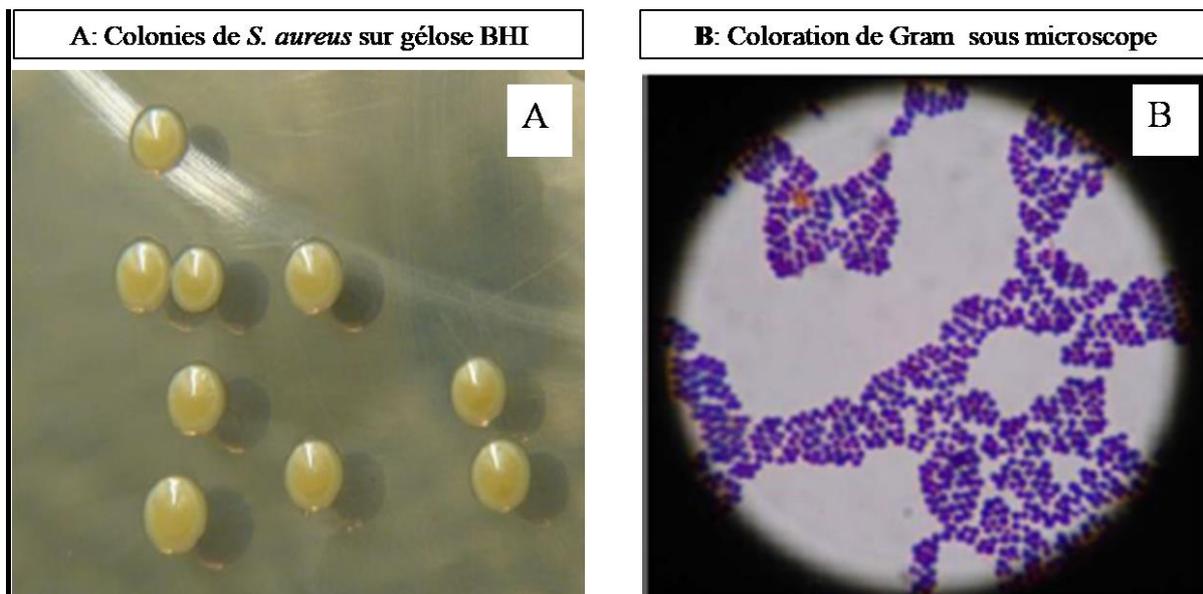
### 3.6.2. Activité superantigénique

Les superantigènes sont des molécules résistantes à la chaleur, à la protéolyse, à la dessiccation et sont caractérisées par leur extrême stabilité et haute toxicité chez l'homme (Tam *et al.*, 2019). Principalement impliquées dans l'échappement immunitaire, les superantigènes activent simultanément une grande partie des lymphocytes T. Elles font interagir directement les domaines V $\beta$  du récepteur des lymphocytes T avec des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II) présentes sur les cellules présentatrices d'antigène (Oliveira *et al.*, 2018 ; Tam *et al.*, 2019). Les superantigènes libérés agissent de manière systémique, déclenchant la production massive de cytokines pro-inflammatoires par un grand nombre de lymphocytes T, provoquant ainsi le syndrome de choc toxique staphylococcique (Otto, 2014 ; Oliveira *et al.*, 2018). Les superantigènes sont immunogènes puissants, manipulant le système immunitaire de l'hôte. Une trentaine de superantigènes staphylococciques sont décrites et divisées en trois groupes : les entérotoxines staphylococciques, les entérotoxines staphylococciques-like et la toxine du syndrome de choc toxique (Kong *et al.*, 2016 ; Oliveira *et al.*, 2018 ; Tam *et al.*, 2019).

### 3.7. Critères d'identification de *S. aureus*

#### 3.7.1. Caractères morphologiques

*Staphylococcus aureus* est une bactérie à Gram positif, dotée d'une paroi cellulaire composée de plusieurs couches de peptidoglycane empilées sur la membrane plasmique, représentant 50% en poids des constituants de la parois (Li *et al.*, 2015). A l'échelle macroscopique, les colonies apparaissent lisses, rondes, opaques et d'un diamètre de 1-3mm. Leur couleur dorée caractéristique est due à la synthèse d'un pigment caroténoïde, la staphyloxanthine (Figure 7-A). Ce pigment possède des propriétés oxydantes conférant un avantage à la bactérie dans la lutte contre les espèces réactives de l'oxygène produites par l'hôte (Liu et Nizet, 2009). A l'échelle microscopique (Figure 7-B), on observe une morphologie caractéristique en forme de cocci d'environ 0.8-1µm de diamètre, regroupé en amas, immobiles et non sporulés (Le Loir *et al.*, 2003). La grande majorité des souches sont capsulées *in vivo* mais perdent progressivement leur capsule en culture, d'autres forment des colonies mucoïdes et sont entourées d'une pseudocapsule (De Buyser et Sutrat, 2005).



**Figure 7 :** Colonies de *Staphylococcus aureus* sur BHI et coloration de Gram

(Joshi *et al.*, 2014)

#### 3.7.2. Caractères cultureux

*Staphylococcus aureus* est une bactérie aéro-anaérobie facultative non exigeante car elle est facilement cultivable sur milieu gélosé classique tel que la gélose trypticase soja TSA ou

gélose Columbia au sang. Sur ce dernier, les colonies sont entourées d'une zone d'hémolyse, témoin d'une synthèse d'hémolysines par cette bactérie (Thomer *et al.*, 2016 ; Gnanamani *et al.*, 2017). Il forme des colonies bombées, luisantes et plus ou moins pigmentées en jaune or ou orange d'où l'appellation de Staphylocoque doré. En milieu liquide, il donne un trouble homogène, parfois un dépôt et un voile en surface. *S. aureus* n'a pas d'exigences particulières et tolère de grandes variations de conditions de croissance (De Buyser et Sutrat, 2005).

Ce sont des bactéries mésophiles (croissance optimale à 37°C), neutrophiles (pH optimal à 7) et possèdent la capacité de croître dans des conditions hostiles avec des températures allant de 7 à 48°C ou un pH compris entre 4 et 10 (Valero *et al.*, 2009). Le caractère halophile de *S. aureus* est mis à profit en bactériologie pour l'isoler grâce à des milieux sélectifs. *S. aureus* tolère une activité de l'eau exceptionnellement basse, puisque sa croissance est inhibée à partir de valeurs comprises entre 0,95 et 0,91 et qu'il est capable de survivre sans se multiplier à des valeurs proches de 0,85. Ces caractères permettent au *S. aureus* de se développer dans une variété très large de produits alimentaires (Le Loir *et al.*, 2003 ; De Buyser et Sutrat, 2005 ; Le Loir et Gautier, 2010).

### 3.7.3. Caractères biochimiques

Sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre, les Staphylocoques sont classés en deux groupes : les Staphylocoques à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme pathogènes et les Staphylocoques à coagulase négative (SCN), réputés moins dangereux. *S. aureus* se distingue des autres membres du genre par sa capacité à produire cette coagulase. En effet cette dernière lui permet de lutter contre les anticorps opsonisants et la phagocytose (Le Loir et Gautier, 2010).

*Staphylococcus aureus* a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Ces bactéries possèdent une activité catalase, coagulase, phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase (Nandy, 2013). Les souches de *S. aureus* sont : indole-, acétone+, uréase+, réduisant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine et fermentant le glucose sans gaz (Le Loir et Gautier, 2010 ; Larpent, 2000).

Lorsqu'elle est cultivée sur gélose au sang, l'activité hémolytique de *S. aureus* est mise en évidence par la lyse des cellules sanguines causée par l'un des quatre types d'hémolysines alpha, bêta, gamma et delta (Divyakolu *et al.*, 2019).

Globalement, l'espèce *S. aureus* peut être différenciée des autres Staphylocoques par la présence simultanée d'une coagulase et d'une thermonucléase (DNase) (**Fauchere et Avril, 2002**). Elle est capable de dégrader de nombreux substrats glucidiques, protéiques et lipidiques grâce à son équipement enzymatique. Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés (glucose, saccharose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en aérobiose ainsi que le mannitol (**Guiraud et Rosec, 2004**). La plupart des souches de *S. aureus* sont lipolytiques, produisant une zone opaque lorsqu'elles sont cultivées dans des milieux contenant le jaune d'œuf (**Ananthanarayan et Paniker, 2006**).



*Matériel  
et  
Méthodes*

## **II. PARTIE PRATIQUE**

### **1. Cadre de la recherche**

#### **1.1. Objectifs de l'étude**

En vue de déterminer l'impact des qualités physico-chimiques et microbiologiques sur les propriétés technologiques du lait cru, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- étudier la qualité physicochimique et les principaux motifs de refoulement du lait de mélanges livré aux unités de transformation ;
- caractériser au sein des élevages bovins laitiers, les mammites subcliniques ainsi que la qualité physico-chimique et microbiologique du lait-quartier et le lait de mélanges ;
- analyser l'impact des mammites subcliniques sur la qualité physicochimique et technologique du lait cru.

#### **1.2. Plan pratique**

Pour répondre aux objectifs fixés dans cette étude, nous avons mené trois investigations indépendantes et complémentaires, réparties par axes de recherche, au sein des élevages bovins laitiers ainsi qu'une unité de transformation du lait dans la wilaya de Tizi-Ouzou :

**I** : Enquête sur la qualité et les motifs de refoulement du lait de collecte présenté à la laiterie ;

**II** : Enquête sur la qualité du lait de mélanges et la santé des mamelles au sein des fermes ;

**III** : Enquête sur l'impact des MSC sur la qualité physico-chimique et technologique du lait.

#### **1.3. Choix de la zone d'étude**

La wilaya de Tizi-Ouzou a été choisie par rapport à la vocation rurale de la région et sa situation au cœur d'un triptyque stratégique pour le développement de l'activité. Le nombre de laiterie-fromageries, activant au niveau de la wilaya est passé du simple au double pour atteindre le nombre de 36 unités dotées d'une capacité de transformation de près de 1,370 millions de litres/jour fournis localement par 5655 éleveurs de bovins qui disposent d'un cheptel global de 74 000 têtes dont plus de 33 000 vaches laitières.

#### **1.4. Description de la wilaya de l'étude**

La wilaya de Tizi-Ouzou est une wilaya côtière à vocation agro-sylvo-pastorale, située dans la région de la grande Kabylie en plein cœur du massif du Djurdjura, dans la partie nord-centre

de l'Algérie. Son relief est marqué par une succession et juxtaposition de différents ensembles topographiques. Caractérisée par un climat tempéré méditerranéen à été chaud et sec, cette région est un vaste bastion constitué d'une succession de chaînes de montagnes toutes d'orientation générale Est-Ouest et qui emprisonnent des plaines alluviales étroites. Administrativement, elle est divisée en 67 Communes et 21 Daïras.

## **2. Matériel et Méthodes**

### **2.1. Enquête rétrospective au sein de la laiterie**

Une enquête rétrospective a été menée au sein d'une laiterie-fromagerie pour déterminer la qualité et les différents motifs de refoulement du lait de collecte.

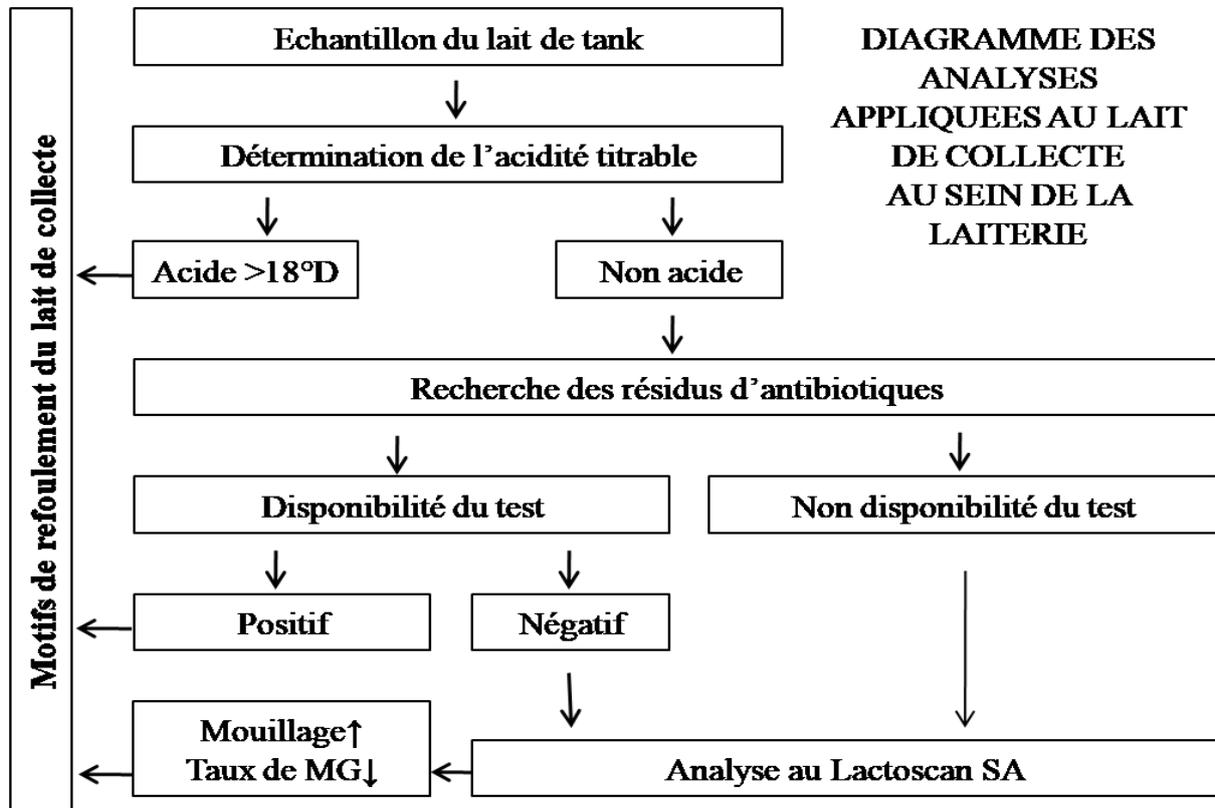
#### **2.1.1. Choix de la laiterie et collecte des données**

Pour déterminer la qualité et les motifs de refoulement du lait de collecte, nous avons analysé des données fournies par une laiterie-fromagerie appartenant au secteur privé de la wilaya de Tizi-Ouzou. La laiterie est classée quatrième à l'échelle nationale en matière de collecte de lait et 5<sup>ème</sup> en production de lait frais (DSA, 2022), son objectif premier était de répondre au développement et aux besoins laitiers de la wilaya. Nous avons exploité les données des analyses de routine effectuées durant la période allant du 01 Mai 2023 au 21 Août 2023 sur des échantillons de lait de mélanges cru livré par un réseau de camions citernes. Sous le nom de lait de mélanges, il faut comprendre le lait mélangé de plusieurs vaches laitières provenant directement des fermes affiliées à cette unité.

#### **2.1.2. Types de données exploitées**

Les données de la laiterie-fromagerie exploitées dans notre étude ont porté sur l'évaluation de la qualité physico-chimique du lait de mélanges, la détection des résidus d'antibiotiques ainsi que l'étude des différents motifs d'acceptation et/ou de refoulement des laits reçus. Les analyses de routine effectuées et les règles de décision au sein de la laiterie sont reportées sur le diagramme ci-dessous (**Figure 8**). En effet, l'ensemble des paramètres physico-chimiques, à savoir : le pH, la densité, les teneurs en matière grasse et protéique ainsi que le taux de mouillage ont été mesurés à l'aide d'un analyseur (Lactoscan SA, Bulgarie). L'acidité a été déterminée par titrage. Les résidus d'antibiotiques des familles  $\beta$ -lactamines et de

tétracyclines ont été détectés à l'aide d'un test rapide : MilkSafe<sup>TM</sup> FAST 3BTC antibiotic test (CHR HANSEN, France), conformément aux recommandations du fabricant.



**Figure 8 :** Diagramme des analyses du lait de collecte et règles de décision au sein de la laiterie

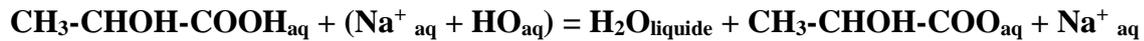
### 2.1.3. Méthode de détermination de l'acidité titrable

#### Principe

La mesure de l'acidité du lait est la quantité d'acide lactique contenue dans un litre de lait exprimée en degrés Dornic (°D). Un degré Dornic correspond à 0,1g d'acide lactique par litre de lait. Juste après la traite, le lait frais, a une acidité de 15 à 18°D.

Le principe consiste à neutraliser l'acidité d'une quantité précise de lait, à l'aide d'une solution alcaline (NaOH) de concentration connue. Pour visualiser le point de neutralisation, on utilise un indicateur : la phénolphthaléine, qui est incolore en milieu acide et de couleur rose en milieu alcalin.

La réaction support du dosage est une réaction acido-basique d'équation-bilan :



#### **Mode opératoire**

- Un volume de 10 mL de l'échantillon de lait de mélanges préalablement homogénéisé est prélevé, à l'aide d'une pipette, et transféré dans un bécher de 50 mL. Ce dernier est additionné de 3 à 4 gouttes de la solution de phénolphaléine ;
- Un titrage par la solution de soude jusqu'au début du virage de la coloration au rose est effectué. On considère que le virage est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes.

Deux déterminations sont effectuées sur le même échantillon.

#### **Expression des résultats**

L'acidité titrable en degré Dornic, c'est-à-dire en décigrammes d'acides lactiques, est exprimée par la formule suivante :  $\text{AT} (^{\circ}\text{D}) = \text{V} \times 10$  avec :

- **AT** : Acidité Titrable.
- **V** : Volume en mL de la solution de soude 0,111 N.

## **2.2. Enquêtes prospectives au sein des fermes**

### **2.2.1. Démarche pratique**

Sur 20 élevages, 220 vaches en lactation ont été dépistées par le test de CMT (Californian Mastitis Test). Parallèlement, des fiches de renseignements ont été remplies pour chaque élevage.

Pour répondre aux objectifs visés dans les enquêtes 2 et 3, le canevas général ci-dessous a été élaboré (**Figure 9**). Une attention particulière a été portée sur la définition des populations d'étude puis de la démarche à suivre pour la réalisation de chacune des enquêtes. L'ensemble des prélèvements ont été effectués au sein des fermes de bovins laitiers et ont concerné d'une part, les échantillons de lait-quartiers révélés positifs au CMT, et les échantillons de lait de mélanges de chacune des exploitations investiguées. D'autre part, des prélèvements quartiers de laits de mammites subcliniques et de laits sains ont été collectés.

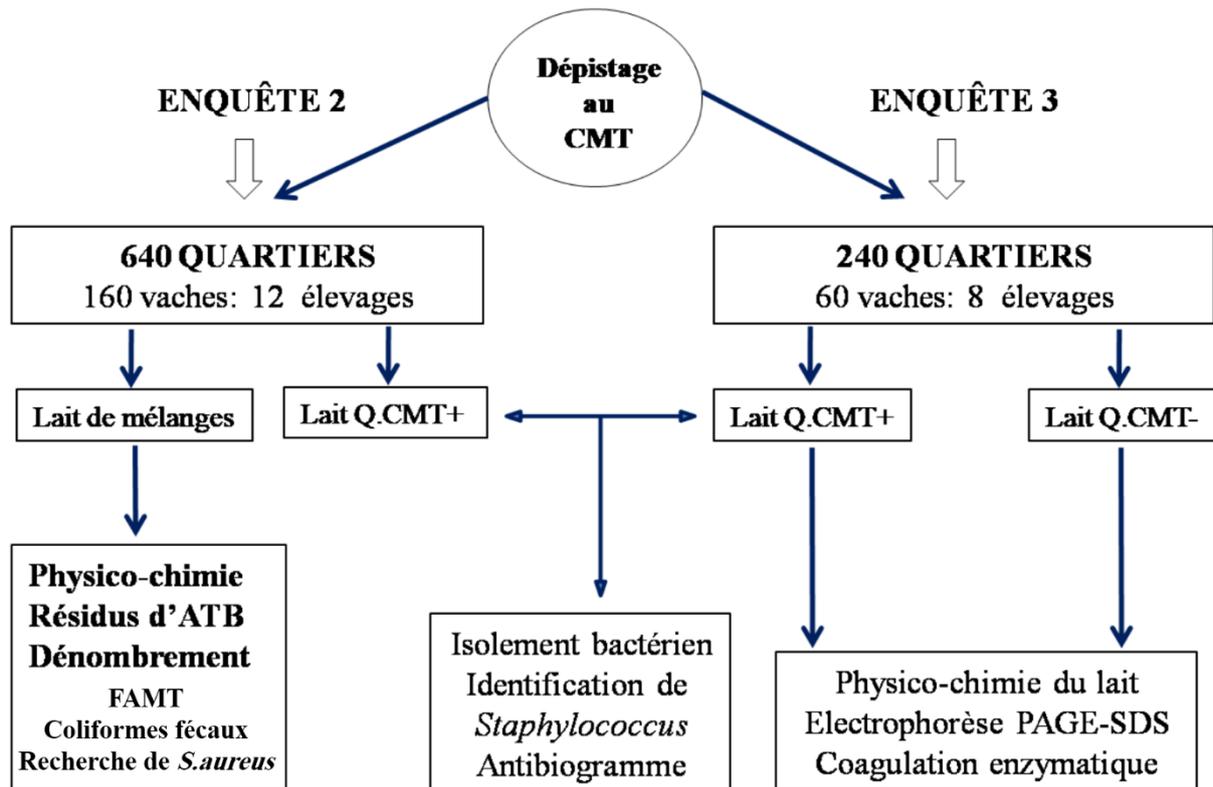
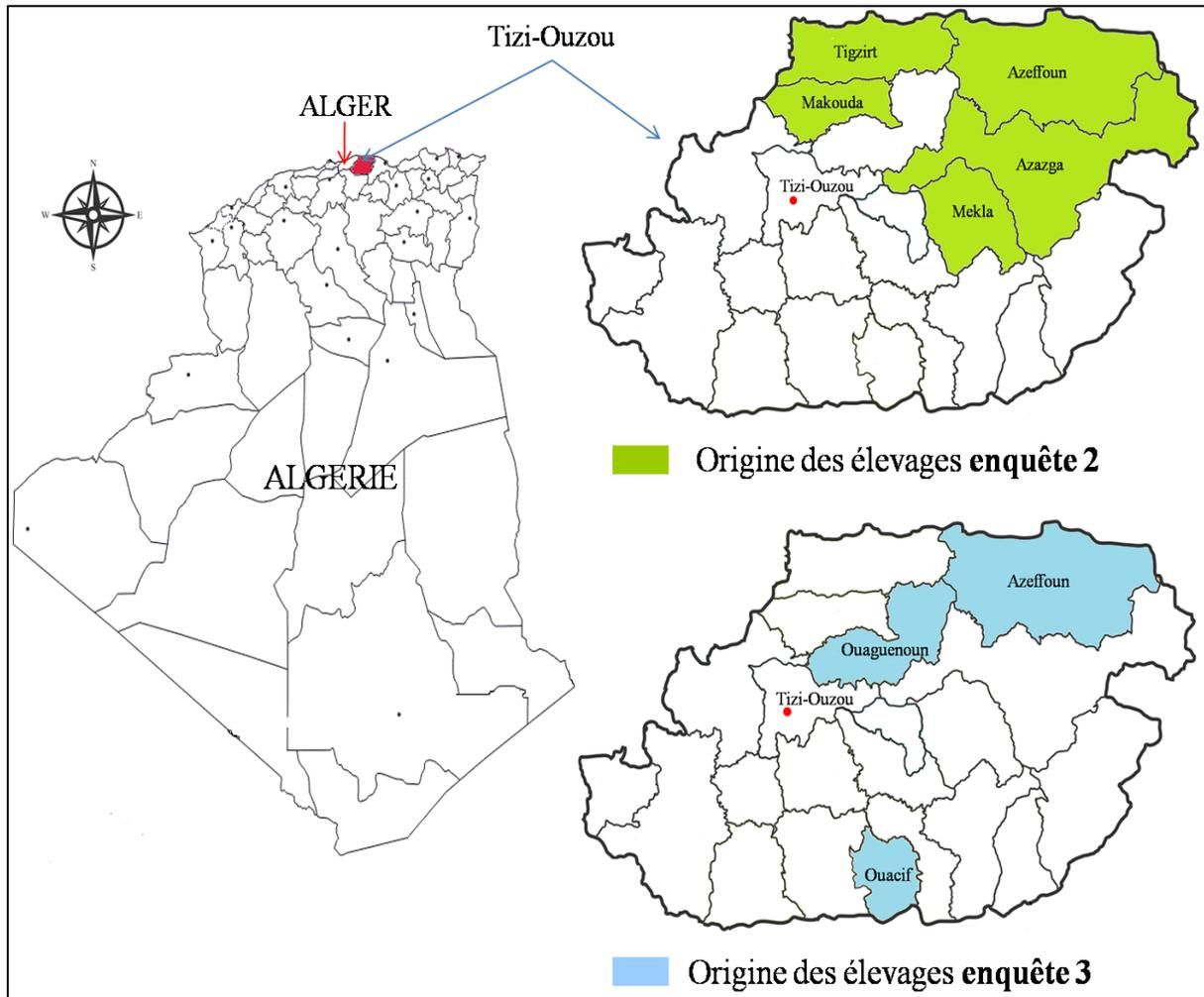


Figure 9 : Démarche pratique des enquêtes prospectives 2 et 3

### 2.2.2. Population animale de l'étude

Enquête 2 : Sur un total de 12 fermes disposant 160 vaches en lactation, deux types de prélèvements ont été collectés : les lait-quartiers révélés positifs au test de CMT, d'une part et les laits de mélanges de chaque exploitation, d'autre part. Dans un seul élevage pour chacune des daïras de Mekla, Azazga et Tizirt : 6, 12 et 13 vaches respectivement ont été prélevées. 10 vaches appartenant à deux élevages à Azeffoun et 119 vaches réparties sur 7 élevages à Makouda ont aussi été prélevées (Figure 10).

Enquête 3 : Trois daïras de la wilaya de Tizi-Ouzou ont aussi été visitées pour la collecte des échantillons de lait à partir des trayons révélés positifs et négatifs au dépistage par le test CMT. C'est ainsi que notre enquête a porté sur un effectif de 60 vaches en lactation (soit 240 trayons dépistés) réparties comme suit : 33 vaches appartenant à quatre élevages de Ouaguenoun, 19 vaches issus de deux élevages de Ouacif et 8 dans deux élevages à Azeffoun (Figure 10).



**Figure 10 :** Situation géographique des élevages investigués dans l'étude

### 2.2.3. Enquête sur les mammites au sein des élevages

#### 2.2.3.1. Prospection des élevages

Au fur et à mesure des visites de fermes, des fiches de renseignement conçues spécialement pour repérer les facteurs animaux et environnementaux en relation avec la qualité physico-chimique et microbiologique et leurs impacts sur les caractéristiques technologiques du lait cru, ont été remplies, suivant les révélations du chargé d'élevage tout en tenant compte de nos constations sur place. Les volets, descriptif des élevages, usage des antibiotiques et les caractéristiques de la traite ont été développés dans la fiche d'élevage (**Annexe I**).

### 2.2.3.2. Examen clinique des mamelles

Les différents quartiers des mamelles ont été examinés via inspection visuelle puis palpation pour révéler des symptômes de l'inflammation associés ou pas à des éventuelles lésions du pis. De plus, du lait de chaque quartier est prélevé et inspecté pour d'éventuels changements de couleur et de consistance.

### 2.2.3.3. Dépistage des mammites subcliniques

Chez les vaches en phase post-colostrale, une fois le pis nettoyé d'une manière grossière, c'est selon les procédures données par **Quin et al. (1994)**, que le diagnostic de la mammite subclinique par le Californian Mastitis Test (CMT) a été réalisé (**Figure 11**).

Pour chaque trayon, une fois les premiers jets éliminés, 2mL de lait sont trait dans la coupelle correspondante de la palette de CMT, auxquelles une quantité égale du Teepol (RAIDEX, Allemagne) est rajoutée. Un doux mouvement circulaire dans un plan horizontal est assujetti à la palette pendant quelques secondes. Notons que le réactif de teepol fait éclater les cellules et réagit avec leur ADN en formant un gel dont la viscosité est d'autant plus élevée que la teneur en cellules est importante. L'absence de gel indique un lait normal, tandis que la présence de gel avec un lait modifié indique une mammite (**Remy, 2010**). Une fois la manipulation terminée, on nettoie le plateau à l'eau claire avant de passer à la vache suivante.

Le résultat de la réaction marque le niveau de destruction des cellules somatiques et de la coagulation des acides nucléiques. Une vache est considérée atteinte d'une mammite subclinique si elle présente au minimum un trayon positif au CMT (**Annexe II**).



**Figure 11** : Degrés de la réaction Teepol-lait.

## **2.2.4. Collecte des prélèvements du lait**

### **2.2.4.1. Prélèvements de lait-quartier**

**Pour les analyses microbiologiques :** Les prélèvements de lait sont collectés, avant la traite (matin/soir), selon les instructions de National Mastitis Council (NMC, 1990). Seuls les trayons positifs au CMT ont été prélevés pour analyses bactériologiques. Le quartier révélé positif au CMT est lavé par l'eau de robinet puis séché par des lavettes uniques jetables. Après avoir lavé soigneusement nos mains, des gants jetables sont enfilés. L'extrémité du trayon est ensuite désinfectée avec du coton imbibé d'alcool éthylique à 70°, en débutant par le trayon le plus éloigné. La date, le numéro de l'animal et le quartier prélevé sont les mentions notées sur les tubes stériles avant chaque collecte d'échantillon de lait. Après élimination des premiers jets, le bouchon est ôté avec la main droite pour être tenu entre l'index et le médium de la main gauche. Le couple, tube et bouchon ont alors leur ouverture dirigée vers le bas, et ce afin d'éviter toute contamination. Sitôt, le trayon saisi de la main droite, est ramené en position latérale pour être trait presque horizontalement dans le tube de prélèvement. Ce dernier en position oblique au moment où le lait gicle, est porté entre le pouce et l'index de la main gauche avec un bouchon porté par l'index et le médium orienté vers le bas. Enfin, le tube est rebouché avant redressement, puis placé immédiatement dans une glacière.

A l'inverse de l'ordre de désinfection par l'alcool éthylique, l'échantillonnage des quatre trayons a débuté par le trayon le plus proche et terminé par le plus éloigné. Les prélèvements transportés dans une glacière à 4°C sont acheminés aussi rapidement que possible au laboratoire puis conservés au frais jusqu'au moment de l'analyse.

**Pour les analyses physico-chimiques :** Les prélèvements de lait-quartier destinés aux analyses physico-chimiques ont été effectués sur les trayons atteints de mammite subclinique et les trayons sains. Les échantillons sont collectés aseptiquement dans des pots stériles de 50mL selon le protocole décrit ci-dessus.

### **2.2.4.2. Prélèvements de lait de mélanges**

Effectuer un prélèvement de lait cru de tank au niveau des fermes et bien le conserver sert à contrôler sa qualité à la production. Après avoir lavé soigneusement nos mains, des gants jetables sont enfilés. Une bonne homogénéisation du lait de tank, collecté auprès des

différentes vaches de l'exploitation, est nécessaire afin de prélever un échantillon représentatif. Pour chaque exploitation, un flacon en verre stérile de 180 mL préalablement étiquetés portant la date et le code de l'exploitation est utilisé. Une fois le bouchon bien enclenché, placer le flacon dans une glacière à 4°C et expédier les échantillons au laboratoire le plus rapidement possible pour analyse. Un échantillon représentatif s'avère donc essentiel pour des raisons de santé publique, ainsi que commerciale. D'une part, la dimension microbiologique se révèle être l'une des priorités pour s'assurer que le consommateur ne court aucun risque. D'autre part, la physico-chimie permet de déterminer la composition et propriétés du lait de mélanges. Ensembles, ils conditionnent les caractéristiques technologiques du lait et des produits laitiers.

### **2.3. Analyse des échantillons de lait au laboratoire**

#### **2.3.1. Analyses microbiologiques de lait-quartier mammitieux**

##### **2.3.1.1. Culture bactérienne et isolement**

Après homogénéisation des échantillons de lait au vortex, pendant cinq secondes, les milieux: gélose nutritive (TM MEDIA, Inde) additionnée de 5% de sang humain frais, gélose Baird-Parker (Condalab, Espagne) additionné de 0,5% de tellurite de potassium (Institut Pasteur, Algérie) et 5% du jaune d'œuf et la gélose MacConkey (HIMEDIA, Inde) contenues respectivement dans des boîtes Pétri d'une part, ainsi que le bouillon cœur-cerveille (BHIB) (Condalab, Espagne) d'autre part, ont étéensemencés par 0,01mL de lait mammitieux chacun. Les boîtes et les bouillonsensemencés, sont ensuite incubés à 37°C pendant 24h à 48h.

A la lecture, un prélèvement est considéré positif une fois une croissance minimale de 100 UFC/mL est détectée. Tout échantillon montrant plus de deux différents types de colonies est considéré contaminé (NMC, 1990). De plus, toutes les colonies d'aspect caractéristique ou non caractéristique sont soumises à un test de confirmation. En cas de culture négative, les échantillons du même prélèvement enrichis sur bouillon cœur-cerveille (BHIB) sont cultivés selon le même protocole précédent.

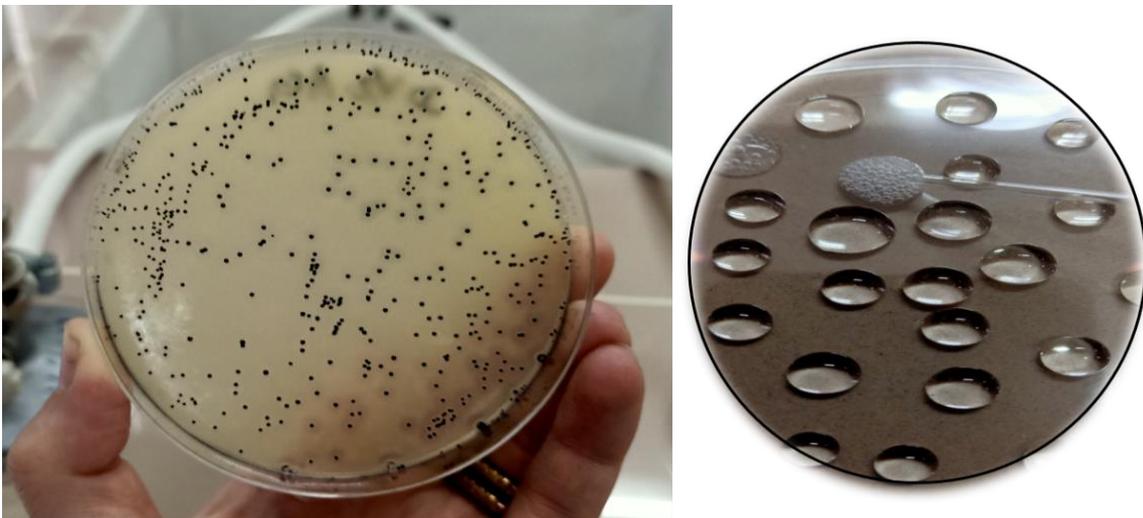
L'isolement est effectué sur gélose Baird-Parker supplémenté de tellurite de potassium et du jaune d'œuf. A partir des primo-cultures positives non contaminées, une colonie est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur, puis étalée en stries sur la surface de la gélose préalablement coulée sur boîte Pétri. Les boîtes ainsiensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 à 48h.

Après incubation, les colonies caractéristiques de Staphylocoques font objet d'une étape de purification sur milieu approprié.

### 2.3.1.2. Identification des Staphylocoques

#### ✚ Test de la catalase

Il s'agit de mettre en évidence la présence de cette enzyme dans les bactéries. Pour cela, on racle à l'aide d'une pipette Pasteur une colonie isolée de la souche à tester à partir de la gélose Baird-Parker et on la dissocie dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur un fond propre et sec. Si la bactérie possède une catalase, il se produit un dégagement d'oxygène : on observe immédiatement une effervescence. Sinon, aucune réaction ne se produit (**Figure 12**).



**Figure 12** : Mise en évidence de la présence de la catalase

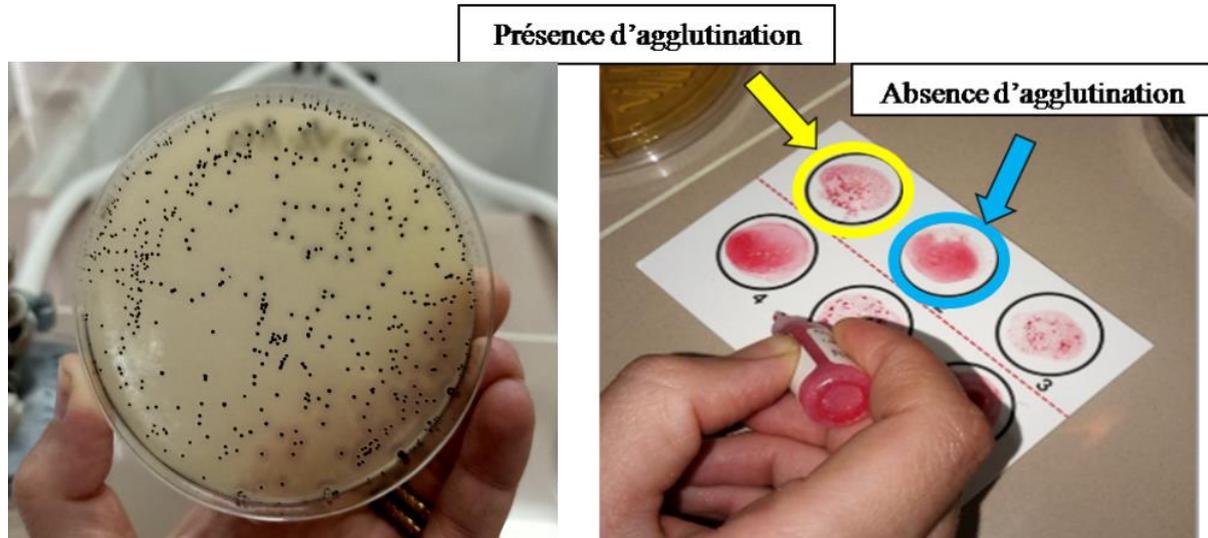
#### ✚ Test de Pastorex™ Staph Plus

Test rapide d'agglutination sur lame pour la détection simultanée du facteur d'affinité pour le fibrinogène, de la protéine A et des polysaccharides capsulaires de *S. aureus*. Le réactif est composé du :

**Test de Latex** : un flacon de 1mL de latex rouge sensibilisé par une solution d'albumine bovine, du fibrinogène, des IgG et des anticorps monoclonaux anti-polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus* ;

**Contrôle négatif** : un flacon compte-gouttes de 1mL de réactif témoin négatif du latex rouge sensibilisé par une solution d'albumine bovine.

La technique d'analyse consiste à mélanger une colonie de bactéries reconnues catalase positive avec une goutte du réactif sur une lame d'agglutination. L'apparition d'agglutinats indique que la souche est un *S. aureus* (**Figure 13**).



**Figure 13** : Test d'agglutination sur lame

#### **✚ Test de la coagulase**

Ce test permet la recherche de la coagulase, exo-enzyme capable *in vitro* de coaguler le plasma de lapin (substitué par le plasma humain dans notre cas). Dans un tube contenant environ 0,5 mL de bouillon cœur-cerveau, préalablement ensemencé et incubé pendant 24 heures, un volume équivalent de plasma humain y est rajouté puis est incubé dans une étuve à 37°C pendant 4 heures. Les Staphylocoques à coagulase positive coagulent le plasma au bout de quelques minutes à quelques heures, alors que le milieu reste liquide pour les bactéries à coagulase négative.

#### **✚ Galerie biochimique API Staph**

Système standardisé (Biomerieux, France) pour diagnostic *in vitro* et contrôle microbiologique. Il comprend des tests biochimiques miniaturisés répartis sur 20 microtubes contenant des substrats déshydratés, qui seront inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure et jeune (18-24h à 37°C) sur gélose au sang, des colonies isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une anse à boucle. Une suspension bactérienne homogène est préparée en déchargeant l'anse à boucle dans 6 mL de l'ampoule API Staph Medium. L'opacité de cette suspension doit être égale à 0,5 McFarland, et doit être utilisée extemporanément.

- **Préparation et inoculation de la galerie**

- ✓ Le couvercle et le fond d'une boîte d'incubation sont réunis, puis un volume d'environ 5 mL d'eau distillée est réparti dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. La référence de la souche est inscrite sur la languette latérale de la boîte.
- ✓ La galerie est placée dans la boîte d'incubation et ses tubes sont remplis à l'aide d'une seringue avec API Staph Mediumensemencé. Les tests ADH et URE sont additionnés d'huile de paraffine stérile en remplissant leurs cupules pour former un ménisque convexe.
- ✓ A la fin, la boîte est renfermée puis incubée à 37°C pendant 18-24 heures.

- **Lecture et interprétation**

Après incubation, lire les réactions conformément au **tableau I** de lecture (**Annexe III**) en ajoutant une goutte des réactifs VP1, VP2, NIT1 et NIT 2. L'identification est obtenue à partir du profil numérique porté sur la fiche de résultats, et ce à l'aide du logiciel d'identification Apiweb™.

### **2.3.1.3. Sensibilité des isolats aux antibiotiques**

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton (Condalab, Espagne), en suivant les recommandations de standardisation du National Committee for Clinical Laboratory Standards. Les isolats de Staphylocoques ont été testés vis-à-vis de 12 molécules antibiotiques (**Annexe IV**). Pour valider les résultats du test de l'antibiorésistance, le contrôle des disques d'antibiotiques et la qualité de la gélose Mueller-Hinton utilisée ; une souche de référence *S. aureus* ATCC 259223 a été utilisée.

Pour des résultats interprétables et reproductibles, la réalisation d'un antibiogramme nécessite l'utilisation d'un inoculum standardisé qui est obtenu à partir d'une culture bactérienne pure

de 18 à 24h sur milieu d'isolement approprié. Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une anse à boucle préalablement stérilisée, qui est par la suite déchargée dans 3 à 4 mL d'eau physiologique stérile. Cette suspension bactérienne est homogénéisée ; son opacité qui doit être approximativement de 0,5 McFarland, est ajustée jusqu'à atteindre une densité optique de 0,08 à 0,1 à 625 nm.

La technique utilise un écouvillon qui, une fois imbibé de suspension bactérienne, est frotté à la surface de la gélose dans trois directions différentes afin de couvrir sa totalité. Le nombre de disques par gélose, leurs positions et la distance entre ces derniers sont des paramètres sur lesquels une attention particulière doit être portée. Une fois appliqués à l'aide de pinces bactériologiques stériles, les boîtes sont immédiatement incubées. Après 24h d'incubation à 37°C, les mesures des diamètres des zones d'inhibition ont été interprétées selon les recommandations de Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2020). Les critères d'interprétation de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie ont été utilisés pour l'oxacilline (CA-SFM, 2013), l'acide fusidique et la kanamycine (CA-SFM, 2022) (Annexe IV).

### **2.3.2. Analyse microbiologique des laits de mélanges**

Les analyses microbiologiques des échantillons du lait de collecte ont porté sur la recherche et le dénombrement de la Flore Aérobie Mésophile Totale (FAMT), des Coliformes Fécaux (CF) et la détection des résidus d'antibiotiques. La recherche de *Staphylococcus aureus* a été réalisée sur gélose Baird-Parker additionnée de tellurite de potassium et du jaune d'œuf puis identifié selon le protocole préalablement détaillé.

#### **✚ Solution mère et préparation des dilutions décimales**

La suspension mère et les dilutions décimales doivent être préparées, conformément aux méthodes fixées par la réglementation en vigueur (JORA, 2019).

Etant un produit liquide, le lait cru de mélanges constituera d'emblée la solution mère (SM=1). La préparation des dilutions décimales se fait par la mise en évolution d'un millilitre de solution mère (lait de mélanges) préalablement homogénéisée, aseptiquement, à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 mL d'Eau Peptonnée Tamponnée (CMS MED Laboratory, Algérie). A partir de la suspension ainsi obtenue au 1/10<sup>ème</sup> (10<sup>-1</sup>), des dilutions convenables en progression 1/100<sup>ème</sup> (10<sup>-2</sup>),

1/1000<sup>ème</sup> ( $10^{-3}$ ), ...etc sont effectuées. Au moment de la réalisation des dilutions décimales, il est impératif de changer de pipette entre chaque dilution.

### **2.3.2.1. Dénombrement de la Flore Aérobie Mésophile Totale (FAMT)**

La recherche et le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale a été réalisée sur gélose standard de numération PCA (Plat Count Agar, Biokar, France) et ceci après ensemencement aseptique en masse de 1 mL des dilutions décimales  $10^{-6}$  à  $10^{-3}$ . La lecture des boîtes est faite après 72h d'incubation à 30°C suivant la méthode officielle décrite dans le **JORA N°65. (2019)**. Les résultats sont exprimés en unité formant colonies par mL de lait (UFC/mL).

### **2.3.2.2. Dénombrement des coliformes fécaux**

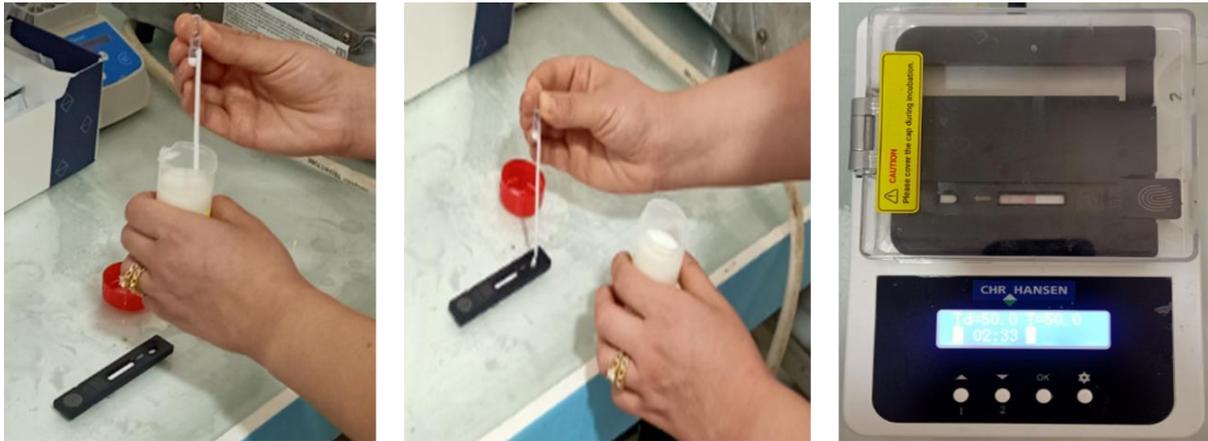
Le dénombrement des coliformes fécaux a été réalisé sur gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (HIMEDIA Laboratories, Inde). L'ensemencement est effectué aseptiquement en masse à partir du lait de mélanges (SM) et des dilutions décimales  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-1}$ . L'incubation est faite à une température de 44°C pendant 24h. Les résultats sont exprimés en UFC/mL.

### **2.3.2.3. Détection des résidus d'antibiotiques**

La détection des résidus d'antibiotiques dans les laits crus de mélanges a été réalisée en ayant recours à un test rapide : MilkSafe <sup>TM</sup> FAST 3BTC antibiotic test (CHR HANSEN, France), en une étape, en se basant sur la technologie d'immunochromatographie à l'or colloïdal pour la détection des résidus des bêta-lactamines, y compris la céphalexine, et les tétracyclines. La durée du test est de 3 minutes.

- **Procédure du test**

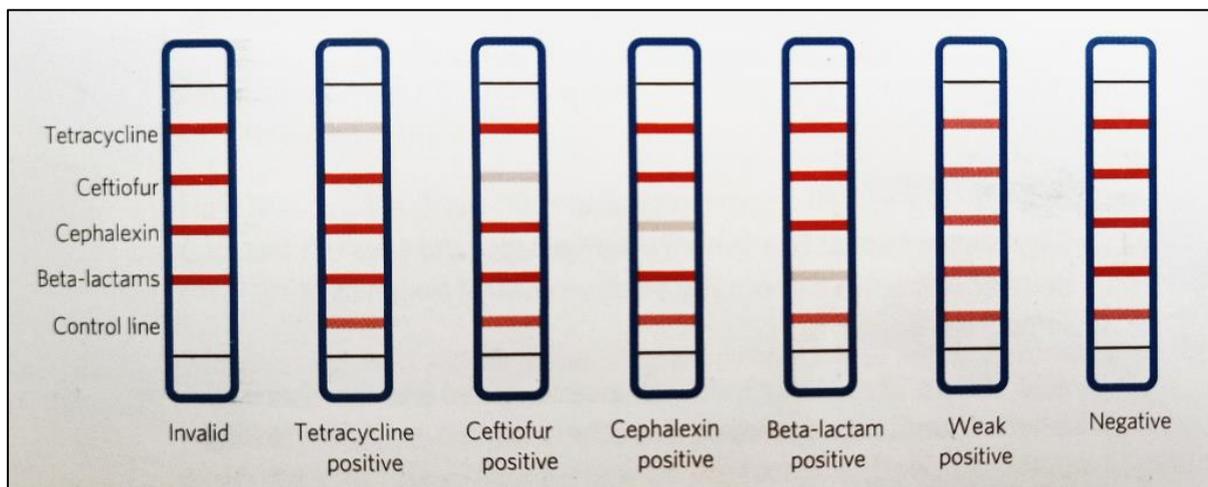
Un nombre requis de poches de test est sorti du réfrigérateur puis la cassette est placée sur une surface horizontale. Un volume de 200µL de l'échantillon de lait cru de mélanges préalablement homogénéisé est pipeté puis déposé sur la zone marquée de la cassette (**Figure 14**). Cette dernière est ensuite insérée dans l'incubateur et incubée à  $50\pm 2^\circ\text{C}$ . Après 3 minutes, la cassette est retirée de l'incubateur et les résultats sont interprétés.



**Figure 14 :** Procédure du test de détection des résidus d'antibiotiques dans le lait cru de mélanges

• **Interprétation des résultats**

Le résultat du test est immédiatement interprété visuellement via les indicateurs colorés sur la bandelette. Il faut vérifier si la ligne de commande inférieure (ligne C) est présente. S'il y a une ligne C normale, comparer l'intensité de couleur de chaque ligne d'essai (ligne T) à la ligne C et interpréter le test (**Figure 15**). S'il n'y a pas de ligne C visible, le test est jugé invalide.



**Figure 15 :** Diagramme d'interprétation de la détection des résidus d'antibiotiques

- *Test négatif* : toutes les lignes de test sont plus fortes que la ligne de contrôle.
- *Test positif* : toute ligne de test est plus faible ou absente que la ligne de contrôle.
- *Test faible positif* : toute ligne de test est la même que la ligne de contrôle.
- *Test invalide* : aucune ligne de contrôle n'est présente.

### **2.3.3. Mesure des paramètres physico-chimiques à l'aide du Lactoscan SA**

L'analyse a concernée à la fois les laits de mélanges collectés au sein des fermes, les laits-quartier CMT positifs et CMT négatifs. La mesure des paramètres physico-chimiques a été réalisée à l'aide d'un analyseur de chimie moderne (Lactoscan SA, Bulgarie), adapté à l'analyse de chaque type de lait. De conception portative et compacte, cet analyseur ultrasonique est simple en fonctionnement, entretien, étalonnage et installation. De plus, son fonctionnement ne fait recours à aucun produit chimique dangereux et ne nécessite qu'une petite quantité d'échantillon. Il permet d'obtenir une précision dans la mesure quelle que soit l'acidité du lait, tandis que pour la température de l'échantillon on peut utiliser du lait de 5°C à 40°C. Il permet d'analyser du lait rapidement (60 secondes) et avec précision et fiabilité. Une seule analyse permet de déterminer les taux de : matières grasses, extrait sec dégraissé, densité, lactose, sels, taux de mouillage, T° de l'échantillon, point de congélation, pH et la conductivité.

### **2.3.4. Contrôles électrophorétiques des protéines totales des laits analysés**

L'électrophorèse est une méthode de séparation de particules chargées électriquement par migration différentielle sous l'action d'un champ électrique. Du fait de leur caractère amphotère, les protéines peuvent se comporter comme des anions ou des cations et se déplacer de ce fait soit vers l'anode ou la cathode. Selon leurs caractéristiques physico-chimiques, elles se matérialiseront sur l'électrophorègramme par des bandes de migration plus ou moins distinctes.

#### **✚ Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)**

L'électrophorèse en gel est une des méthodes performantes pour séparer des macromolécules, et ce en tirant partie à la fois de leur mobilité électrophorétique et de la filtration sur gel. Le polyacrylamide, gel finement réticulé, constituant une matrice de séparation en électrophorèse et qui présente les caractéristiques générales suivantes :

- obtenu à partir de monomères, est de grande pureté, résistant et transparent ;
- inerte pour les pH et les forces ioniques de tampons utilisé en séparation de protéines ; les adsorptions sont nulles.

Ces gels peuvent varier en composition. Ils sont constitués du monomère acrylamide ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ ) qui est l'unité de base, et d'un autre monomère bifonctionnel réticulant,

le N, N'-méthylène-bis-acrylamide ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ ), qui est l'agent pontant.

La réaction de polymérisation est en général initiée par du persulfate d'ammonium en présence de l'accélérateur TEMED (N, N, N', N'-tétraméthyl-éthylène diamine) qui catalyse la formation de radicaux libres à partir du persulfate.

Le réseau tridimensionnel du gel est formé par un mécanisme de polymérisation de type vinylique qui conduit à la formation de nombreuses chaînes enroulées au hasard. La structure détermine un ensemble de micro-canaux dans lesquels ces molécules protéiques vont pouvoir se déplacer sous l'effet plus ou moins d'un tamisage moléculaire. La taille des pores, dépend de la concentration en monomères et en comonomères.

La densité, la viscosité, l'élasticité et la résistance mécanique du gel sont déterminées selon la concentration en monomères ainsi que le degré de polymérisation et de pontage définis par les indices T et C calculés comme suit :

$$\mathbf{T (\%)} = \mathbf{(a+b/v) \times 100}$$

$$\mathbf{C (\%)} = \mathbf{(b/a+b) \times 100}$$

**T (%)** : concentration totale en monomère ; **C** : proportion d'agent réticulant ;  
**a (g)** : acrylamide ; **b(g)** : N, N'-méthylène-bis-acrylamide ; **v (mL)** : volume du tampon

#### Préparation des échantillons de laits pour l'électrophorèse

- **Ecrémage**

L'écémage des échantillons de laits entiers est réalisé par centrifugation à 4000g pendant 10 minutes dans une centrifugeuse réfrigérée. A la fin de la centrifugation, on constate la formation d'une couche en surface correspondant à la crème du lait, qu'on racle et écarte délicatement à l'aide d'une spatule. Le lait résultant dit écrémé, est filtré à travers un papier filtre afin d'éliminer totalement la matière grasse.

- **Dissolution des échantillons dans leur tampon**

Les échantillons de laits écrémés sains et mammiteux à analyser sont mis en solution à raison de 50 $\mu\text{L}$  dans un volume de 100 $\mu\text{L}$  de tampon d'échantillon approprié (**Annexe V**).

Le dodécyle sulfate de sodium « SDS 10%, p/v », détergent anionique et puissant agent dénaturant ; en présence d'un agent réducteur chargé de rompre les ponts disulfures, 2-mercaptoéthanol (4%, v/v), et à température élevée (3 à 4 mn à 100°C), permet de solubiliser

ces protéines et de se fixer à ces dernières en leur conférant une charge négative, d'où élimination du facteur de séparation selon la charge. En effet, les différents composés ne seront différenciés par migration électrophorétique que selon leur poids moléculaire.

Après refroidissement dans un bain d'eau froide, 100 $\mu$ L d'une solution de glycérol 50% (v/v) (IDEAL LABO, Algérie) et quelques graines de bleu de bromophénol y sont ajoutées. Ce dernier déterminant le front de migration des protéines et permettant également de repérer la fin de l'électrophorèse.

- **Conduite de l'électrophorèse en présence du SDS et de 2-ME (PAGE-SDS)**

Les électrophorèses sont réalisées selon la méthode de **Laemmli et Favre (1973)** en conditions dissociantes et dénaturantes (**Annexe V**), optimisée au laboratoire, conduite sur mini cuves verticales (HOEFER SE 200, USA), tel qu'il est sommairement montré sur la **figure 16**.

La PAGE-SDS utilise un système biphasique, comprenant deux gels : gel de concentration faiblement réticulé qui n'exerce aucun effet de tamisage sur les protéines et tend plutôt à les concentrer, en les mettant sous forme de fines bandes qui arrivent au gel de séparation en même temps. La séparation a lieu au cours de la migration dans le deuxième gel, de séparation, selon leur poids moléculaire. Pour cela, nous avons utilisé un gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7%) en tampon (TRIS, 0,5M ; pH 6,8) et un gel de séparation (T=12% et C=2,7%) en tampon (TRIS, 1,50M ; pH 8, 8). Le tampon d'électrode étant composé de (TRIS, 49mM ; glycine, 384mM ; SDS 1%, p/v ; pH 8,3).

#### **Préparation du gel de polyacrylamide**

Le gel est préparé en mélangeant les solutions d'acrylamide et de bis-acrylamide avec une solution tampon. L'ensemble est dégazé pendant 2 à 3 minutes puis additionné des agents initiateurs (persulfate d'ammonium et de TEMED). Le mélange est immédiatement coulé entre une plaque en verre et une autre en alumine de la cuve d'électrophorèse. Un peigne y est introduit en haut de la cuve et n'est retiré qu'après polymérisation du gel et formation donc des puits où se fera le dépôt des échantillons. Ces plaques sont ensuite plongées dans un tampon d'électrode approprié.

### ✚ Dépôt des échantillons

Après avoir monté les deux plaques renfermant le gel sur l'unité d'électrophorèse et rempli les cuves inférieure et supérieure de tampon d'électrode, les échantillons préalablement préparés sont déposés à raison de 5 $\mu$ L à l'aide d'une micro-seringue Hamilton dans chaque puit. Enfin, la migration des protéines sériques est réalisée à température ambiante sous une tension continue de 250V, un courant constant de 20mA et sous flux énergétique de 10W pendant environs 3 heures en moyenne.

Dépôt des échantillons pour la migration électrophorétique



Electrophorèse des protéines totales sur mini cuves verticales  
A : Générateur de courant ; B : Cuve de migration



**Figure 16** : Electrophorèse des protéines totales en présence du SDS et de 2-ME (PAGE-SDS)

### ✚ Révélation des bandes de migration électrophorétique

A la fin de la migration et après démoulage du gel, on lui fait subir une série d'opérations successives, notamment :

- **la fixation** : par immersion du gel dans une solution d'acide trichloracétique (TCA) 12% (p/v) pendant 45 minutes ;
- **la coloration** : le gel est ensuite immergé pendant 2 à 4 heures dans une solution de coloration contenant du bleu de Coomassie à 0,2% (p/v) dissous préalablement dans une solution constituée du mélange eau distillée (1volume), méthanol (1volume) et TCA à 2% (p/v) ;
- **la décoloration** : réalisée par immersion du gel dans des bains successifs formés par une solution contenant (eau/ méthanol/ acide acétique) dans les proportions respectives 3,12/ 1,5/ 0,37 (v/v/v).

### 2.3.5. Détermination de l'activité coagulante

Pour le suivi de l'activité coagulante nous avons eu recours à la méthode visuelle de **Berridge. (1945)** modifiée par **Collin *et al.* (1977)**. C'est la méthode la plus ancienne, qui consiste à déterminer visuellement, dans des conditions standardisées, le temps d'apparition des flocons de micelles de caséines (taille de l'ordre de 200 $\mu$ m) (**Jeantet *et al.*, 2017**). Cette transformation s'observe mieux sur un film fin de lait dans un tube en rotation, disposé sur un fond noir.

En essayant de reproduire le protocole de la coagulation se faisant à l'échelle industrielle à petite échelle, expérimentale, nous avons préparé un échantillon de référence auquel nos échantillons de laits sains et mammiteux ont été comparés. La méthode consiste à ajouter 10 $\mu$ L de solution enzymatique à 2 mL de substrat standard (poudre de lait reconstituée) à 38°C puis noter le temps de coagulation. Pour une meilleure fiabilité des résultats, l'opération a été répétée deux fois.

La préparation de la solution enzymatique consiste en la dissolution de 22 mg de l'enzyme coagulante : Chymosine Bovine Recombinante dans 5mL d'eau distillée, suivie d'une agitation magnétique (**Figure 17**).

La préparation du substrat standard consiste en la dissolution de la poudre de lait de type (*low heat*) à 10% (p/v) dans une solution de CaCl<sub>2</sub> (0,01M) et ajustement du pH à 6,5 par l'ajout d'une solution de NaOH (0,1).



**Figure 17** : Préparation des solutions de CaCl<sub>2</sub> (0,01M), NaOH (0,1), enzymatique et du substrat standard

Le substrat standard est ensuite reparti dans 2 tubes à essais, à raison de 2mL/tube. L'addition de l'extrait coagulant est réalisée à raison de 10  $\mu$ L/2mL du substrat standard. Une homogénéisation immédiate et rapide est nécessaire. Dans le bain Marie, les trois retournements successifs du mélange après 30 secondes correspondent au temps zéro.

Ensuite on passe aux échantillons de lait sains et mammites sélectionnés, qu'on a réparti aussi dans des tubes à essai à raison de 2mL chacun, auxquels on a additionné 10 $\mu$ L de solution enzymatique avant chaque mise dans le bain Marie à 38°C, avec homogénéisation immédiate et rapide pour le suivi de leur temps de coagulation à l'aide d'un chronomètre.

## **2.4. Traitement des données**

### **2.4.1. Synthèse des données et conception d'une carte**

Les données brutes ont été saisies sur Microsoft Excel, un logiciel tableur, de calculs et d'analyse de données publié par Microsoft Office pour Windows (2010 ; Microsoft Corp., Redmond, WA, USA). La carte montrant la répartition géographique des élevages investigués dans l'étude a été créée à l'aide de Microsoft PowerPoint 2010, disponible dans le logiciel Microsoft Office. Pour l'amélioration de la qualité d'images on a eu recours au logiciel Photoshop.7.0.1

### **2.4.2. Analyse statistique**

Les données brutes sur Microsoft Office Excel ont été importées dans le logiciel SPSS version 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) pour analyse statistique. Des statistiques descriptives initiales ont été effectuées pour résumer les données, tandis que la comparaison entre les moyennes a été effectuée à l'aide du test Student. L'analyse de la corrélation de Pearson a été utilisée pour établir la relation entre la conductivité et les caractéristiques de coagulation dans le lait. Enfin, les pourcentages de résistance aux antibiotiques ont été comparés à l'aide du test de Chi-deux ( $\chi^2$ ). Les résultats ont été jugés significatifs lorsque  $p < 0,05$ .



# *Résultats*

### 3. Résultats

#### 3.1. Enquête sur les motifs de refoulement au sein de la laiterie

##### 3.1.1. Lait de collecte et analyses

Pour mieux connaître les caractéristiques physico-chimiques et les motifs d'acceptation et/ou de refoulement du lait de mélanges provenant directement des fermes et présenté à la laiterie, nous avons exploité les données d'analyses de 999 échantillons de lait de collecte sur 113 jours, durant la période allant du 01 Mai 2023 au 21 Août 2023. Au regard du tableau ci-dessous, la moyenne journalière des laits de tank reçus et assujettis aux analyses était de  $8,84 \pm 2,26$  [min : 4 et max : 17] (**Tableau 7**).

**Tableau 7** : Distribution dans le temps des laits de collecte issus directement des fermes

	N <sup>bre</sup> de jours	N <sup>bre</sup> de tanks	Moyenne $\pm$ DS	Min-Max
Mai	31	239	7,70 $\pm$ 1,41	5-10
Juin	30	294	9,8 $\pm$ 1,95	5-13
Juillet	31	265	8,54 $\pm$ 1,43	6-11
Août	21	201	9,57 $\pm$ 3,59	4-17
<b>Total</b>	113	999	8,84 $\pm$ 2,26	4-17

**DS** : Déviation Standard

Les laits de collecte reçus au niveau de la laiterie étaient soumis à un ensemble d'analyses dont la recherche des résidus d'antibiotiques grâce au test rapide : MilkSafe<sup>TM</sup> FAST 3BTC antibiotic test, de détection des résidus des bêtalactamines et tétracyclines. Les résultats exploités dans la présente enquête se limitent à la détection de résidus sans discrimination des familles des antibiotiques recherchés. En raison de rupture de stock, la recherche des résidus a été annulée pendant 19 jours et rendue sélective pendant 14 jours (**Tableau 8**).

**Tableau 8** : Distribution dans le temps de la recherche des résidus d'antibiotiques

	N <sup>bre</sup> de jours	Dépistage total (%)	Dépistage Partiel (%)	Absence total de dépistage (%)
Mai	31	13 (41,93)	6 (19,35)	12 (38,70)
Juin	30	18 (60)	5 (16,66)	7 (23,33)
Juillet	31	31(100)	0 (0)	0 (0)
Août	21	18 (85,71)	3 (14,28)	0 (0)
<b>Total</b>	113	80 (70,79)	14 (12,38)	19 (16,81)

### 3.1.2. Acidité des laits de mélanges

L'analyse des données de la laiterie a révélé que sur 999 échantillons de lait de tank reçus, 38 (3,80%) ont présenté une acidité supérieure à 18°D. Parmi les échantillons ayant une acidité ≤18°D, 82,93% (797/961) ont fait objet de recherche des résidus d'antibiotiques. Par ailleurs, les propriétés physico-chimiques ont été examinées dans 906 échantillons de lait (742 négatifs au test de résidus d'antibiotiques + 164 non testés) à l'aide d'un Lactoscan SA. Ainsi, sur les 999 laits analysés, 112 (11,21%) ont été refoulés (**Tableau 9**).

**Tableau 9** : Analyse du lait de collecte et taux de refoulement au sein de la laiterie

Analyses effectuées	Analysés	Non analysés	Refoulés (%)
Tanks	999	-	-
Détermination de l'acidité titrable	999	0	38 (3,80)
Recherche des résidus d'antibiotiques	797	164	55 (6,90)
Analyse au Lactoscan SA	906	0	19 (2,09)
Négatifs aux résidus d'antibiotiques	742	0	13 (1,75)
Non analysés aux résidus d'antibiotiques	164	0	6 (3,65)
<b>Total</b>	999	-	112 (11,21)

### 3.1.3. Critères d'acceptation et motifs de refoulement

L'absence de résidus d'antibiotiques dans le lait de collecte est l'une des exigences de satisfaction de la qualité. La pénurie en test durant les mois de Mai et Juin a contraint la laiterie d'accepter 32,28% (154/477) des tanks ayant un statut inconnu en résidus d'antibiotiques. Par ailleurs, la quasi-totalité des laits retenus (99,02% : 406/410) en Juillet et Août en étaient exempt (**Tableau 10**).

**Tableau 10** : Variation dans le temps de la qualité du lait de collecte présenté à la laiterie

	N	Refoulés (%)	Acceptés		
			Statut ATB inconnu (%)	Qualité satisfaisante (%)	Total (%)
Mai	239	12 (5,02)	94 (39,33)	133 (55,64)	227 (94,97)
Juin	294	43 (14,62)	60 (20,40)	190 (64,62)	250 (85,03)
Juillet	265	39 (14,71)	0 (0)	226 (85,28)	226 (85,28)
Août	201	18 (8,95)	4 (1,99)	180 (89,55)	184 (91,54)
<b>Total</b>	999	112 (11,21)	158 (15,81)	729 (72,97)	887 (88,78)

Les contrôles de routine au sein de la laiterie ont révélé des cas de non-conformité du lait de mélanges à l'origine du refoulement de 112 tanks. Les motifs invoqués étaient par ordre

décroissant : la présence de résidus antibiotiques, l'acidité anormale, le mouillage frauduleux et enfin la faible teneur en matière grasse. Plus de 72,32% (81/112) des refoulements ont été enregistrés durant les mois de Juin et Juillet. Ces derniers marquent des taux élevés de rejets pour chacun des motifs : détection de résidus d'antibiotiques, acidité et mouillage respectivement (**Tableau 11**).

**Tableau 11** : Distribution des fréquences de refoulement des laits de collecte

Motifs	Mai	Juin	Juillet	Août	Total (%)
Acide	11	13	9	5	38 (33,92)
Résidus ATB	1	22	21	11	55 (49,11)
Mouillage	0	8	8	2	18 (16,07)
MG	1	0	0	0	1 (0,89)
<b>Refoulés</b>	13 (11,60)	43 (38,39)	38 (33,92)	18 (16,07)	112 (100)

### 3.1.4. Contamination par les résidus d'antibiotiques

La recherche des résidus d'antibiotiques était dépendante de la disponibilité du test au sein de la laiterie. Ainsi, 797 échantillons de laits de collecte ont été testés durant les 94 jours de disponibilité à raison de  $8,47 \pm 2,53$  tests/jour. Les 55 échantillons positifs donnent une prévalence de 6,90 (55/797) et une fréquence journalière d'apparition au sein de la laiterie de 58,51% (55/94). Le mois de Juin était marqué par les taux les plus élevés de prévalence (10,18%) et de fréquence (95,65%) (**Tableau 12**).

**Tableau 12** : Fréquence de diagnostic des résidus d'antibiotiques dans le lait de collecte

	Jours T+P	Test ATB	Moyenne Test/Jour $\pm$ DS	Min-Max	Positifs (%)	Fréquence (%)
Mai	19	134	7,05 $\pm$ 1,58	4-10	1 (0,74)	5,26
Juin	23	216	9,39 $\pm$ 2,59	1-12	22 (10,18)	95,65
Juillet	31	256	8,25 $\pm$ 1,43	5-10	21 (8,2)	67,74
Août	21	191	9,09 $\pm$ 3,7	3-17	11 (5,75)	52,38
<b>Total</b>	94	797	8,47 $\pm$ 2,53	1-17	55 (6,90)	58,51
<b>T+P</b> : Jours où il y a eu détection des résidus d'antibiotiques.						

### 3.1.5. Qualité physico-chimique du lait orienté vers la transformation

Durant la période d'étude, le recours par la laiterie aux analyses physico-chimiques de routine a permis d'accepter 88,78% (887/999) des tanks et d'en refouler 11,21% (112/999). Les laits

retenus présentent des moyennes de taux butyreux et protéique de  $32,48 \pm 1,6$  g/L et  $30,08 \pm 0,53$  g/L respectivement. Il est très instructif de remarquer que parmi les laits retenus 17,81% (158/887) avaient un statut inconnu quant aux résidus d'antibiotiques en raison de la rupture de stock (**Tableau 13**).

**Tableau 13** : Physicochimie du lait accepté pour la transformation au sein de la laiterie

Statut	Acceptés (n=887)		Exempts de résidus ATB (n=729)		ATB douteux (n=158)	
	Moyenne±DS	Min-Max	Moyenne±DS	Min-Max	Moyenne±DS	Min-Max
pH	6,66±0,06	6-6,82	6,66±0,07	6-6,82	6,65±0,05	6,48-6,8
Acidité	16,78±0,67	16-18	16,74±0,65	16-18	16,98±0,68	16-18
Densité	1028,11±0,56	1026-1031	1028,11±0,56	1026-1031	1028,11±0,59	1027-1030
MG(g/L)	32,48±1,6	30-37	32,43±1,62	30-37	32,7±1,5	30-36
MP (g/L)	30,08±0,53	28-32	30,06±0,5	28-32	30,19±0,63	28,2-32

MG : Matière grasse ; MP : Matière protéique.

### 3.2. Enquête sur la qualité du lait et mammites chez les vaches laitières

#### 3.2.1. Description des élevages

Notre investigation sur la qualité du lait de mélanges au sein des fermes a concerné 12 élevages disposant de 160 vaches en lactation, à raison de 4 à 23 vaches par élevage. Etant la principale source de revenu pour les éleveurs, ces derniers orientent systématiquement leurs productions de lait aux unités de transformation. Bien que, le sol des bâtiments est bétonné et la traite des vaches est mécanique, les pratiques de traite et de la collecte du lait montrent des niveaux d'hygiène variable d'un élevage à un autre. Le **tableau 14** ci-dessous rend compte des variations des indices de la qualité hygiénique des élevages.

**Tableau 14 :** Etat d'hygiène de la traite et de la collecte du lait au sein des élevages

Fermes	Etable	Vache	Mamelle	Mains des trayeurs	Ustensiles	S.S	I.Q.H
A	3	2	3	2	3	13	Q3: <sup>3</sup>
B	2	2	3	2	2	11	Q3: <sup>1</sup>
C	3	3	3	3	3	15	Q3: <sup>5</sup>
D	2	2	2	1	2	9	Q2: <sup>4</sup>
E	2	2	2	2	2	10	Q2: <sup>5</sup>
F	2	2	1	1	1	7	Q2: <sup>2</sup>
G	3	3	3	2	2	13	Q3: <sup>3</sup>
H	2	2	3	2	2	11	Q3: <sup>1</sup>
I	2	2	2	2	2	10	Q2: <sup>5</sup>
J	3	3	3	2	2	11	Q3: <sup>1</sup>
K	3	3	3	2	2	11	Q3: <sup>1</sup>
L	1	1	1	1	1	5	Q1: <sup>5</sup>

0 : Très propre ; 1 : Propre ; 2 : Acceptable ; 3 : Sale ; 4 : Très sale ; SS : Score de Saleté ; I.Q.H : Indice de la Qualité Hygiénique ;  
 Q1 : [SS1-SS5] ; Q2 : [SS6-SS10] ; Q3 : [SS11-SS15] ; Q4 : [SS16-SS20] ; Q<sup>1 à 5</sup> : Degré d'hygiène dans la classe.

### 3.2.2. Enquête sur la qualité du lait de mélanges des élevages

#### 3.2.2.1. Qualité physico-chimique

L'analyse des paramètres physicochimiques a permis de révéler des valeurs moyennes du pH et de la conductivité de  $6,01 \pm 0,28$  et  $5,32 \pm 0,48$  respectivement. Les mesures de la densité du lait ont indiqué une valeur moyenne de  $1029,12 \pm 1,41$ . Seul trois laits de mélanges ont montré des densités conformes aux normes AFNOR (1030-1032). Une valeur très basse de densité de 1025,52 associées à un niveau de mouillage de 12,88% a été retrouvée dans le lait appartenant à l'élevage K. La valeur moyenne de la matière grasse est de  $33,9 \pm 7,1$  g/L avec des teneurs allant de 23 g/L à 48,7 g/L selon les fermes. Les teneurs basses <30 g/L ont été enregistrées dans les fermes L, K, D, E alors qu'une teneur élevée était enregistrée dans la ferme F de l'ordre de 48,7g/L. La valeur moyenne de la matière protéique est de  $30,9 \pm 1,5$  g/L variant de 26,7g/L à 32,5 g/L selon les fermes. Pour le lactose, on enregistre une valeur moyenne  $46,4 \pm 0,23$  allant de 40g/L à 48,7g/L. La valeur moyenne de l'extrait sec était de  $84,6 \pm 4,4$  [Min 72,9g/L ; Max : 88,7g/L] (Tableaux 15 ; 16).

**Tableau 15 :** Analyse physico-chimique des laits crus de mélanges au sein des fermes

Propriétés et caractéristiques du lait	Moyenne ± DS	Min-Max
pH	6,01±0,28	5,29-6,4
Conductivité	5,32±0,48	4,39-6,12
Densité	1029,12±1,41	1025,52-1031,53
Eau ajoutée	1,08±3,71	0-12,88
Extrait sec dégraissé	84,6±4,4	72,9-88,7
Matière grasse	33,9±7,1	23,0-48,7
Matière protéique	30,9±1,5	26,7-32,5
Lactose	46,4±2,3	40-48,7
Sels	6,9±0,3	5,9-7,3

**Tableau 16 :** Variation inter-cheptel de la physico-chimie des laits de mélanges crus

Fermes	pH	Conductivité	Densité	Eau ajoutée	MG	MP	Lactose	Sels	ESD
A	6,17	5,78	1028,66	0	38,7	30,9	46,1	7	84,4
B	6,24	5,22	1028,80	0	33,9	30,7	46	6,9	83,7
C	5,81	5,67	1028,55	0	34,8	30,5	45,7	6,8	83,3
D	6,04	5,57	1028,78	0,19	28,3	30,2	45,3	6,7	82,4
E	6,07	5,49	1030,06	0	28,4	31,4	47,1	7	85,9
F	6,16	4,86	1029,46	0	48,7	32,5	48,7	7,3	88,7
G	5,97	5,54	1028,94	0	36,1	31	46,4	6,9	84,6
H	5,29	6,12	1030,19	0	39,4	32,5	48,7	7,3	88,6
I	6,06	5,18	1029,37	0	37,2	31,4	47,2	7	85,9
G	5,76	5,36	1029,69	0	34	31,5	47,3	7	86,1
K	6,16	4,39	1025,52	12,88	24,5	26,7	40	5,9	72,9
L	6,4	4,69	1031,53	0	23	32,4	48,6	7,2	88,6

MG : Matière grasse ; MP : Matière protéique ; ESD : Extrait sec dégraissé.

### 3.2.2.2. Qualité microbiologique

L'analyse microbiologique du lait de mélanges a révélé que la charge microbienne totale était importante pour les 12 échantillons avec une valeur moyenne de  $7,03 \pm 0,83 \log_{10}$  UFC/mL. Tous les échantillons avaient une charge microbienne supérieure à  $5 \log_{10}$  UFC/mL et dépassaient la norme fixée par la réglementation nationale (JORA, 1998) qui est de  $5 \log_{10}$  UFC/mL. L'analyse a révélé une contamination des échantillons en coliformes fécaux avec une valeur moyenne de  $4,84 \pm 0,72 \log_{10}$  UFC/mL. Ce niveau de contamination dépasse largement les normes en vigueur qui sont de l'ordre de  $3 \log_{10}$  UFC/mL. La présence de *S.*

*aureus* a été constatée dans les laits de mélanges appartenant à 3 fermes. Deux de ces dernières enregistrent des cas de mammites subcliniques à *S. aureus*. Bien que des cas de mammites subcliniques aient été observés dans 8 fermes, l'analyse du lait de mélanges n'a pas permis d'isoler *S. aureus*. Aucun des laits testés n'était contaminé par les résidus d'antibiotiques (Tableau 17 ; 18).

**Tableau 17 :** Analyse microbiologique et résidus d'antibiotiques des laits crus de mélanges

Unité épidémiologique	N	%	Moyenne/élevage ± DS	Min-Max
Nombre de vaches	160	100	13,33±6,27	4-23
Vaches ayant des mammites subcliniques	75	46,87	6,25±4,41	2-17
Nombre de quartiers	640	100	53,33±25,08	16-92
Lait quartier additionné au lait de mélanges	630	98,43	52,5±24,62	16-91
Quartiers avec mammites subcliniques	132	20,62	11,00±7,87	4-27
FAMT	--	--	7,03±0,83 log <sub>10</sub> UFC/mL	5,07-7,93
Coliformes fécaux	--	--	4,84±0,72 log <sub>10</sub> UFC/mL	3,61-5,99

**Tableau 18 :** Valeurs moyennes des germes isolés (log<sub>10</sub> UFC/mL) et dénombrés dans les laits crus

Fermes	Quartiers			Lait de mélanges			Résidus d'ATB
	ILM	MSC	%	FAMT (log <sub>10</sub> UFC/mL)	Coliformes fécaux (log <sub>10</sub> UFC/mL)	<i>S. aureus</i>	
A	91	27	29,67	6,76	4,50	-	-
B	51	14	27,45	6,41	3,85	+	-
C	69	26	37,68	7,23	4,72	-	-
D	23	5	21,73	7,93	5,99	+	-
E	16	4	25	7,46	4,89	+	-
F	24	9	37,5	7,32	4,93	-	-
G	75	9	12	6,70	4,63	-	-
H	67	12	17,91	7,80	5,81	-	-
I	72	4	5,55	6,27	4,65	-	-
J	28	5	17,85	7,69	4,79	-	-
K	66	8	12,12	7,75	5,73	-	-
L	48	9	18,75	5,07	3,61	-	-
<b>Total</b>	630	132	20,95	--	--	3	0

**ILM :** Inclus dans le lait de mélanges ; **MSC :** Mammites subcliniques.

### 3.2.3. Enquête sur les mammites des vaches laitières

#### 3.2.3.1. Mammites chez les vaches laitières

Les mamelles de 160 vaches en lactation ont été étudiées dans la présente étude, chacune comportant 4 quartiers indépendants pour un total 640 trayons. Parmi ces derniers 21,25% (136/640) se sont révélés atteints d'une mammite. Seul 4 trayons chez 4 vaches présentaient des symptômes de mammite clinique aiguë avec des modifications du lait, un gonflement et une douleur de la mamelle. La mammite subclinique, définie comme l'apparition d'une gélification allant du score 1 au score 3 après analyse du lait quartier à l'aide de CMT, était présente dans 20,62% (132/640) des échantillons de lait quartier (**Tableau 19**).

**Tableau 19** : Dépistage des mammites et leurs conséquences sur la mamelle chez les vaches

Dépistage / Constat	Trayons		Vaches	
	Dépistage	Pourcentage (%)	Dépistage	Pourcentage (%)
Atrophie	6	0,93	6	3,75
Clinique	4	0,62	4	2,5
CMT score 3	47	7,34	31	19,37
CMT score 2	61	9,53	45	28,12
CMT score 1	24	3,75	18	11,25
CMT score 0	498	77,81	84	52,50
<b>Total</b>	640	100	--	--

#### 3.2.3.2. Caractérisation des mammites au sein des élevages

Dans tous les élevages investigués, au moins une vache par élevage est atteinte de mammite. Dans la présente étude, sur 160 vaches en lactation dépistées pour mammites, 77 (48,12%) ont présentées au moins un quartier affecté, 136 (21,25%) trayons mammitieux ont été recensés. Par ailleurs, 6 trayons non fonctionnels ont été diagnostiqués chez 6 vaches indiquant ainsi des antécédents d'atteinte par des mammites sévères. Soixante-quinze vaches (46,87%) ont montré une mammite subclinique. La survenue des cas de mammites cliniques a été observée dans 25% (3/12) des élevages investigués. De nos élevages ayant 4 à 23 vaches en lactation, on peut noter des prévalences individuelles intra-cheptel qui oscillent de 16,66% à 83,33%. Une moyenne de  $6,41 \pm 4,56$  vaches et  $11,33 \pm 8,13$  trayons par ferme ont été affectés par les mammites. De plus, des moyennes de  $6,25 \pm 4,45$  vaches et  $11 \pm 7,87$  trayons par ferme étaient affectés par les mammites subcliniques (**Tableau 20**).

**Tableau 20** : Prévalence et variation inter-cheptel des mammites chez les vaches laitières

Unité épidémiologique	N	Pourcentage	Moyenne ± DS	Min-Max
Nombre de fermes	12	--	--	--
<b>Echelle individuelle</b>				
Nombre de vaches	160	100	13,33±6,27	4-23
Vaches ayant des mammites	77	48,12	6,41±4,56	2-17
Vaches ayant des mammites subcliniques	75	46,87	6,25±4,41	2-17
Vaches ayant des mammites cliniques	4	2,50	0,33±0,65	0-2
<b>Echelle quartier</b>				
Nombre de quartiers	640	100	53,33±25,08	16-92
Quartiers avec mammites	136	21,25	11,33±8,13	4-27
Quartiers avec mammites subcliniques	132	20,62	11,00±7,87	4-27
Quartiers avec mammites cliniques	4	0,62	0,33±0,65	0-2
Quartiers atrophies	6	0,93	0,50±0,52	0-1

### 3.2.3.3. Variation individuelle et inter-quartiers des mammites

Sur les 75 vaches atteintes de mammites subcliniques, 132 trayons sont affectés. Il s'avère que les quartiers postérieurs sont plus affectés (62,87%) que les antérieurs. Une moyenne de  $1,76 \pm 0,90$  (136/77) trayons par vache étaient atteints de mammites selon la distribution donnée dans le tableau ci-après. La majorité des vaches atteintes de mammites ont exposées un ou deux trayons affectés (84,41%) (**Tableau 21**).

**Tableau 21** : Variation individuelle et inter-trayons de la prévalence des mammites

Trayons	Mammites N (%)	Mammites subcliniques N' (%)
<b>Position des trayons</b>		
Antérieur gauche	26 (19,11)	26 (19,69)
Antérieur droit	25 (18,38)	23 (17,42)
Postérieur gauche	45 (33,08)	44 (33,33)
Postérieur droit	40 (29,41)	39 (29,54)
<b>Nombre de trayons</b>		
1 trayon	36 (26,47)	35 (26,51)
2 trayons	29 (21,32)	28 (21,21)
3 trayons	6 (4,41)	7 (5,30)
4 trayons	6 (4,41)	5 (3,78)

### 3.2.4. Analyse microbiologique et isolement de *Staphylococcus*

#### 3.2.4.1. Culture et isolement bactérien

Parmi les 132 échantillons de laits issus des trayons atteints de mammites subcliniques analysés bactériologiquement, 4 (3,03%) se sont révélés négatifs, un échantillon de lait était bactériologiquement contaminé et 127 (96,21%) ont montré une culture positive à un ou deux types de bactéries. En effet 83 (62,87%) des laits trayons ont permis l'isolement d'un seul type de bactéries alors que 44 (33,33%) ont montré deux types (**Tableau 22**).

**Tableau 22** : Espèces bactériennes isolées par échantillon de lait de mammite subclinique

Culture	Echantillon de lait	Pourcentage (%)
0 germes	4	3,03
1 germe	83	62,87
2 germes	44	33,33
>2 germes	1	0,75
<b>Total</b>	132	100

#### 3.2.4.2. Mammites subcliniques à Staphylocoques

Soixante-quinze espèces de Staphylocoques seules ou en synergie avec un autre germe ont été isolées à partir de 127 prélèvements de laits positifs à la culture. Elles se répartissent comme suit : 38 souches de SNA (29,92%) et 37 souches de *S. aureus* (29,13%). En effet, la répartition des staphylocoques incriminés seuls ou en association avec une autre bactérie dans les infections intra-mammaires subcliniques étaient de 52 (69,33%) et 23 (30,66%) respectivement (**Tableau 23**).

**Tableau 23** : Fréquence d'isolement bactérien des laits issus de trayons mammitieux

<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i>		<i>S. non aureus</i>		Total (%)
	Nbr.	%	Nbr.	%	
Culture pure (1 type de colonies)	37	100	15	39,47	52 (69,33)
En association avec un autre (2 types)	0	0	23	60,52	23 (30,66)
<b>Total</b>	37	100	38	100	75 (100)

#### 3.2.4.3. Identification des Staphylocoques

Après isolement des colonies suspectes, l'identification a porté sur le test de la catalase, le test de la coagulase et des galeries biochimiques respectivement. Parmi les colonies suspectes, 37 souches ont été identifiées *Staphylococcus aureus*. Or, les galeries biochimiques ont

permis d'identifier les espèces suivantes : *S. chromogenes* (17,33%), *S. haemolyticus* (8%), *S. hyicus* (8%), *S. xylosus* (5,33%), *S. siuri* (4%), *S. epidermidis* (2,66%), *S. capitis* (2,66%), *S. auricularis* (1,33%) et *S. hominis* (1,33%) (**Tableau 24**).

**Tableau 24** : Espèces de staphylocoques isolées dans les laits mammitieux subcliniques

<i>Staphylococcus</i>	Nombre	Pourcentage (%)
<i>S. aureus</i>	37	49,33
<i>Staphylococcus non aureus</i>	38	50,66
<i>S. chromogenes</i>	13	17,33
<i>S. haemolyticus</i>	6	8
<i>S. hyicus</i>	6	8
<i>S. xylosus</i>	4	5,33
<i>S. siuri</i>	3	4
<i>S. epidermidis</i>	2	2,66
<i>S. capitis</i>	2	2,66
<i>S. auricularis</i>	1	1,33
<i>S. hominis</i>	1	1,33
<b>Total</b>	75	100

#### 3.2.4.4. Prévalence des mammites subcliniques à *Staphylococcus*

Le lait des vaches affectées par les mammites subcliniques est mélangé à d'autres laits destinés à la consommation et la transformation. Dans notre étude, parmi les 12 élevages ayant exposé des cas de mammites, 11 (91,66%) ont montré au moins un trayon, chez une vache, infecté par *Staphylococcus*. Ces derniers étaient isolés dans 56,81% (75/132) des trayons mammitieux appartenant à 75 vaches. Cependant, *Staphylococcus aureus* a été isolé dans 83,33% (10/12) des élevages investigués (**Tableau 25**).

**Tableau 25 :** Prévalence des mammites subcliniques à *Staphylococcus* chez les vaches

U.E	Fermes	Vaches	Trayons
Mammites subcliniques	12	75	132
<i>Staphylococcus spp.</i>	11 (91,66)	52 (69,33)	75 (56,81)
<i>S. aureus</i>	10 (83,33)	28 (37,33)	37 (28,03)
<i>S. non aureus</i>	11 (91,66)	29 (38,66)	38 (28,78)

UE : Unité épidémiologique.

### 3.2.4.5. Résistance aux antibiotiques

Tous les isolats testés aux antibiotiques étaient sensibles aux quinolones (ofloxacin). De même les SNA sont tous sensibles aux aminosides (kanamycine et gentamycine) et aux phénicolés (chloramphénicol). Trois souches de Staphylocoques ont exprimé une résistance à la céfoxitine (mécilline). Par ailleurs, des taux élevés de résistance sont enregistrés vis-à-vis de la pénicilline, la tétracycline, l'érythromycine et la clindamycine chez les Staphylocoques à des taux respectifs de 40%, 34,66%, 33,33% et 30,66% (**Tableau 26**).

**Tableau 26 :** Résistance aux antibiotiques des Staphylocoques impliqués dans les IMI chez les vaches

Classe d'ATB	Antibiotique	Total (75)		<i>S. aureus</i> (37)		<i>S. non aureus</i> (38)		P-valeur
		Nbr.	%	Nbr.	%	Nbr.	%	
Bétalactamines	Pénicilline	30	40	15	44,54	15	39,47	P=0,9
	Oxacilline	2	2,66	1	2,70	1	2,63	P=0,9
	Céfoxitine	3	4	2	5,40	1	2,63	P=0,5
Aminosides	Kanamycine	1	1,33	1	2,70	0	0	P=0,3
	Gentamycine	1	1,33	1	2,70	0	0	P=0,3
Cyclines	Tétracyclines	26	34,66	12	32,43	14	36,84	P=0,6
Macrolides	Erythromycine	25	33,33	7	18,91	18	47,36	P=0,009
Lincosamides	Clindamycine	23	30,66	7	18,91	16	42,10	P=0,02
Quinolones	Ofloxacin	0	0	0	0	0	0	ND
Fusidanines	Acide fusidique	9	12	1	2,70	8	21,05	P=0,01
Sulfamides	Trimethoprim sulfaméthoxazole	7	9,33	2	5,40	5	13,15	P=0,2
Phénicolés	Chloramphénicol	1	1,33	1	2,70	0	0	P=0,3

ND : Non défini.

### 3.2.4.6. Profils de résistance aux antibiotiques

Au total, 75 isolats de *Staphylococcus* ont été obtenus à partir des échantillons de laits issus de trayons affectés par les mammites subcliniques. Les résultats de sensibilité aux antibiotiques ont montré une sensibilité à tous les antibiotiques testés chez 28 (37,33%) isolats, tandis que 47 isolats (62,66%) étaient résistants à au moins un antibiotique (*S. aureus* vs SNA : P=0,12). La résistance à plus de trois familles d'antibiotiques a été constatée chez 23 (30,66%) isolats de *Staphylococcus*. Il n'existe pas de différence significative (p=0,09) de la prévalence de la multi-résistance entre *S. aureus* et SNA (**Tableau 27**). Parmi les 17 profils de résistance impliqués dans l'infection intramammaire, une diversité élevée est associée aux souches de SNA. Quatre profils de résistance communs ont été détectés chez les souches *S. aureus* et de SNA. Les profils de résistance fréquemment rencontrés dans la présente étude sont [PEN], [E-TE-CD] et [P-E-TE-CD] détectés respectivement dans 5/11, 4/11 et 4/11 fermes (**Tableau 28**).

**Tableau 27** : Multi-résistance aux antibiotiques des Staphylocoques impliqués dans les IMI bovines

Souche	Nbr d'isolats	Nbr d'isolats résistants à au moins un ATB N (%)	Nbr d'isolats résistants aux classes d'ATB							MTR <i>Staphylococci</i> N (%)	Fermes d'origine des MTR
			0	1	2	3	4	5	6		
<i>S. aureus</i>	37	20 (54,05) <sup>a</sup>	17	9	3	3	4	0	1	8 (21,61) <sup>b</sup>	C,H,J,L
<i>S. non aureus</i>	38	27 (71,05) <sup>a</sup>	11	5	7	7	5	2	1	15 (39,47) <sup>b</sup>	A, B,C,E,G,H,J
<b>Total</b>	75	47 (62,66)	28	14	10	10	9	2	2	23 (30,66)	A,B,C,E, G,H,J,L

**Tableau 28** : Profils de résistance de *Staphylococcus* impliqués dans les IMI bovines

Nombre d'ATB	Profils de résistance	<i>Staphylococcus spp.</i>			Fermes	
		Total	<i>S. aureus</i>	<i>S. non aureus</i>	Nbr.	Origine
9 antibiotiques	P,OX,FOX,E,TE, CN,K,CD,FA	1	1	0	1	C
6 antibiotiques	P,E,TE,SXT,CD,FA	1	0	1	1	C
5 antibiotiques	P,OX,FOX,E,FA	1	0	1	1	H
	P,E,TE,SXT,CD	2	0	2	1	C
4 antibiotiques	P,FOX,TE,C	1	1	0	1	J
	P,E,TE,CD	7	3	4	4	A,C,J,L
	E,TE,SXT,CD	2	1	1	2	G,H
3 antibiotiques	P,E,SXT	1	0	1	1	H
	E,TE,CD	7	2	5	4	B,C,E,G
2 antibiotiques	P,TE	3	3	0	2	A,G
	P,FA	3	0	3	2	K,L
	TE,FA	1	0	1	1	K
	E,CD	3	0	3	2	C,F
1 antibiotique	P	10	7	3	5	A,D,E,F,J
	TE	1	1	0	1	J
	SXT	1	1	0	1	A
	FA	2	0	2	1	A

### 3.3. Enquête sur l'aptitude à la transformation du lait mammiteux

#### 3.3.1. Caractérisation des mammites subcliniques

Sur les 60 vaches en lactation dépistées, 28 vaches ont présenté au moins un trayon mammiteux. La mammite a été diagnostiquée sous ses deux formes : subclinique et clinique. Notons que parmi les vaches atteintes, la coexistence de ces deux formes a été constatée chez une vache ayant présentée quatre trayons mammiteux dont trois (03) atteints de mammite subclinique et un (01) trayon atteint de mammite clinique modérée. De plus, une autre vache avait présenté sur un quartier les signes de l'inflammation ainsi qu'une modification de l'aspect macroscopique du lait. Il convient de signaler que ce dernier étant déclaré atteint de mammite clinique n'a pas fait objet d'analyses approfondies dans notre étude.

D'un point de vue prévalence de mammites subcliniques, les troupeaux étaient atteints avec 45% (27/60) de vaches affectées et 20,83% (50/240) de quartiers affectés (**Tableau 29**).

La plupart des vaches atteintes de mammite subclinique 48,1% (13/27) n'avaient qu'un seul quartier atteint, alors que 29,6% (8/27) l'avaient sur deux quartiers. 11,1% (3/27) des vaches, avaient les trois quartiers atteints et enfin 11,1% (3/27) avaient une atteinte des quatre quartiers.

**Tableau 29** : Dépistage des mammites subcliniques chez les vaches laitières et caractéristiques associées au lait-quartier

Dépistage de la mammite	Total	MSC/MC	Sain	P-valeur
Fermes	8	8 (100%) / 1 (12,5%)	0	/
Vaches	60	27 (45%) / 2 (3,33%) *	32 (53,33%)	/
Quartiers	240	50 (20,83%) / 2 (0,83%)	188 (78,33%)	/
<b>Echantillons de lait analysés</b>				
Analyse bactériologique des CMT positifs	50	50 (100%)	0	/
Analyse physico-chimique	74	49 (66,21%)	25 (33,78%)	/
Analyse de l'aptitude à la coagulation du lait	31	17 (54,83%)	14 (45,16%)	/
<b>Analyse physico-chimique</b>				
	<b>Moyenne±DS</b>	<b>Moyenne±DS</b>	<b>Moyenne±DS</b>	<b>P-valeur</b>
<b>Caractéristiques du lait</b>				
pH	6,53±0,24	6,56±0,23 <sup>a</sup>	6,44±0,22 <sup>b</sup>	P<0,001
Conductivité	5,27±0,03	5,47±0,62 <sup>c</sup>	4,93±0,38 <sup>d</sup>	P<0,001
Densité	33,12±4,67	33,15±5,49	32,90±3,07	P=0,75
<b>Composants du lait (g/100g)</b>				
Matière grasse	36,5±5,8 g/L	35,8±6,4 g/L	37,4±4,3 g/L	P=0,08
Protéines totales	30,5±4,8 g/L	30,6±5,5g/L	30,1±3,6g/L	P=0,52
Lactose	46,1±6,9 g/L	46,1±1,5 g/L	45,9±4,3 g/L	P=0,9
Sels	7,0±2,3 g/L	6,5±2,4 <sup>a</sup> g/L	7,7±0,19 <sup>b</sup> g/L	P=0,001
Extrait sec dégraissé	83,3±11,9 g/L	83,6±1,4 <sup>b</sup> g/L	8,24±0,79 <sup>c</sup> g/L	P<0,001
<b>NB.</b> * : Une vache a montré l'atteinte de 3 quartiers avec une mammite subclinique et 1 quartier avec une mammite clinique ; <b>MSC</b> : Mammite subclinique ; <b>MC</b> : Mammite clinique.				

### 3.3.2. Analyse bactériologique et infection intramammaire

Les analyses bactériologiques n'ont concerné que les échantillons de lait de quartiers révélés positifs au test de CMT.

Au moins une espèce bactérienne a été isolée de 92% (46/50) des cultures d'échantillons de lait-quartiers positifs au CMT. Cinquante-deux isolats bactériens (une à deux souches ayant poussé sur gélose au sang) ont été récupérés des 46 échantillons de laits positifs. Les échantillons montrant deux espèces bactériennes représentent 12% (6 sur 50).

L'agent pathogène du pis, le plus fréquemment isolé était le *Staphylococcus* dans 64% (32/50) des échantillons de lait quartiers positifs au CMT, donnant ainsi une prévalence quartier de 13,33% (32/240).

La fréquence d'isolement des SNA (*Staphylococcus non aureus*) et de *S. aureus* dans les échantillons de lait est représentée par 50% et 18% respectivement (**Tableau 30**).

**Tableau 30** : Prévalence et isolement bactérien des laits issus de quartiers mammitéux

Analyses	N <sup>bre</sup> d'échantillons	Fréquence %	Prévalence %	N <sup>bre</sup> d'isolats bactériens
Dépistage de lait quartier	240	--	--	--
Echantillons positifs au CMT	50	100	20,83	--
Cultures négatives d'échantillons positifs au CMT	4	8	1,66	0
Cultures positives d'échantillons positifs au CMT	46	92	19,16	52
Cultures positives avec un seul type de colonies	40	80	16,66	40
Cultures positives avec deux types de colonies	6	12	2,5	12
Culture avec une bactérie indéterminée	16	32	6,66	16
Culture avec <i>S. aureus</i>	9 <sup>xx</sup>	18	3,75	9
Cultures avec SNA ( <i>Staphylococcus non aureus</i> )	25 <sup>**</sup>	50	10,41	27

\*\* : Cultures avec deux colonies distinctes pour les SNA.

xx : Culture contenant simultanément des colonies SNA et *S. aureus*.

### 3.3.3. Sensibilité des Staphylocoques aux antibiotiques

L'étude de la résistance aux antibiotiques a révélé que seulement 8,3% des isolats staphylococciques (3/36) étaient sensibles à tous les antibiotiques testés.

Des niveaux élevés de résistance ont été associés à la pénicilline et l'érythromycine avec des taux de 83,3% et 61,1% respectivement. De plus, trois isolats de Staphylocoques ont montré une résistance à la céfoxitine.

Une multi-résistance aux antibiotiques a été observée chez 77,7% des isolats staphylococciques testés, mais en proportions différentes entre les *S. aureus* (88,8%) et SNA (74,1%).

Sur les 24 profils de résistance caractérisés, une grande diversité de profils a été détectée, à savoir 17 profils pour SNA et 7 profils pour les isolats de *S. aureus* (**Tableau 31**).

**Tableau 31** : Profils de résistance aux antibiotiques des Staphylocoques responsables de mammites subcliniques

Résistance aux antibiotiques	Staphylocoques		<i>S. aureus</i>		SNA	
	N	Taux	N <sup>bre</sup>	Profils de résistance	N <sup>bre</sup>	Profils de résistance
Total	36	--	9	N <sup>bre</sup> =7	27	N <sup>bre</sup> =17
6 antibiotiques	2	5.5	1	{P,FOX,E,VA,FA,CD}	1	{P,OX,FOX,E,FA,CD}
5 antibiotiques	3	8.3	0	-	3	{P,OX,TE,E,CD}, {P,TE,E,FA,CD}, {P,SP,TE,E,CD}
4 antibiotiques	5	13.8	0	--	5	{P,E,FA,CD}, {P,TE,E,CD}, {P,C,E,CD}
3 antibiotiques	11	30.5	3	{P,TE,E}, {P,C,CD}	8	{P,FOX,OX}, {P,TE,E}, {P,E,CD}, {P,TE,FA}, {P,E,FA}, {TE,E,CD}
2 antibiotiques	7	19.4	4	{P,E}, {P,C},{P,SP}, {P,TE}	3	{P,E}
1 antibiotique	5	13.8	0	--	5	{P}, {E}, {C}
SENSIBLE	3	8.3	1	--	2	--

**P** : Pénicilline ; **OX** : Oxacilline ; **FOX** : Céfoxitine ; **E** : Erythromycine ; **TE** : Tétracycline ; **CD** : Clindamycine ; **FA** : Acide Fusidique ; **VA** : Vancomycine ; **SP** : Spiramycine ; **C** : Chloramphénicol.

### 3.3.4. Caractéristiques physico-chimiques des laits-quartiers

Sur 74 échantillons de lait quartier analysés, 49 sont atteints de mammites subcliniques et 25 sont pris comme étant leurs témoins négatifs (**Tableau 29**). Les moyennes globales des composants du lait étaient de : 46,1±6,9 g/L pour le lactose, 30,5±4,8 g/L pour les protéines totales, 36,5±5,8g/L pour la matière grasse, 83,3 ±11,9 g/L pour l'extrait sec dégraissé, et 119,8±17,7 g/L de matières solides totales dans tous les échantillons.

Les échantillons de lait positifs au CMT ont montré des valeurs plus élevées de conductivité (p<0,001) et de pH (p<0,001). De plus, la mammitte subclinique a engendré l'augmentation de la teneur en extrait sec dégraissé (p<0,001) et la diminution de la teneur en substances minérales (p=0,001). En revanche, aucune différence n'a été observée quant à la teneur en matière grasse du lait (p=0,08), les protéines totales (p=0,52) et le lactose (p=0,9) entre les quartiers infectés et sains (**Tableau 29**).

### 3.3.5. Electrophorèse des protéines totales des laits sain et mammitieux

Appliqué aux protéines totales des 74 échantillons de laits analysés, l'électrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes (PAGE-SDS), ressort des profils de migration qui montrent le déplacement différentiel des différentes entités moléculaires.

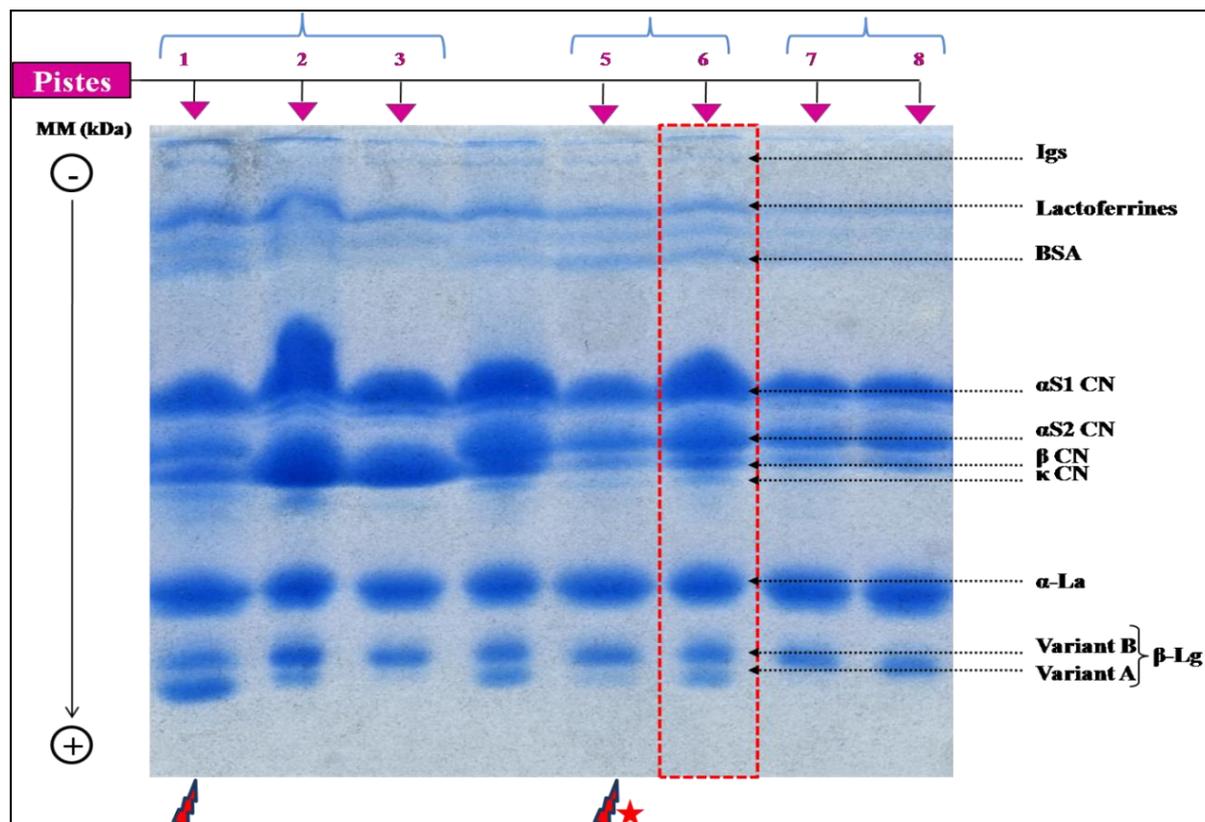
Le comportement de ces protéines, matérialisé par la nature et l'intensité des bandes de migration est différent. En effet, les protéines totales du lait bovin en PAGE-SDS migrent en 11 bandes correspondant dans l'ordre croissant de leur mobilité électrophorétique aux : Igs<PP3<Lactoferrines<BSA< $\alpha$ S1-CN< $\alpha$ S2-CN< $\beta$ -CN< $\kappa$ -CN< $\alpha$ -La< $\beta$ -Lg avec ses deux variants B et A respectivement, ce qui est le cas du lait sain de la vache V<sub>4</sub>.PG<sup>-</sup> utilisé comme base de référence, auquel sera comparée la migration des autres échantillons de laits analysés. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux et leurs figures de gels respectives placés en **Annexe VI**.

Allant de la base, qu'au moins un témoin négatif est associé à chaque vache présentant de 1 à 3 trayons mammites et qu'un témoin négatif appartenant au même élevage, issu d'une vache saine est utilisé comme référence pour les vaches présentant les 4 trayons infectés, nous avons sélectionné 3 gels à discuter (**Figures 18, 19, 20**).

Les échantillons de lait mammites et sains des pistes 1 et 2, 3 respectivement (**Figure 18**), issus de la même vache V<sub>2</sub> de la région de Ouaguenoun, présentent des profils plus ou moins différents, marqués par une nette intensification des bandes correspondant aux Igs, lactoferrines ainsi que la BSA du lait de mammites subclinique par rapport au lait sain, ainsi qu'une dégradation des caséines dans l'ordre  $\kappa >> \beta > \alpha$ S2.

Il convient de signaler que les profils des laits sains, ne sont pas parfaitement identiques avec une augmentation de la proportion massique des caséines solubles, principalement  $\kappa >> \beta > \alpha$ S2 (Piste 2), la disparition de bandes correspondant aux  $\beta$ -CN et  $\kappa$ -CN et une bande à peine visible du variant A de la  $\beta$ -Lg (Piste 3).

Pour la vache V<sub>4</sub> du même élevage, le lait mammites (Piste 5) donne un profil relativement similaire à celui de son témoin négatif. Toutefois, nous relevons une baisse en terme de densité et proportion de la bande correspondant à  $\alpha$ S2-CN, la disparition de la  $\kappa$ -CN ainsi qu'une diminution d'intensité de la bande du variant A de la  $\beta$ -Lg. Les deux échantillons de laits mammites et sain des pistes 7 et 8 respectivement issus de la région de Ouacif, révèlent deux profils quasiment identiques en terme de migration et intensité des bandes, avec absence de la  $\kappa$ -CN et le variant A de la  $\beta$ -Lg.



**Figure 18** : Profils électrophorétiques 1 des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).  
 1: V<sub>2</sub>.AD<sup>+</sup>, 2: V<sub>2</sub>.AG<sup>-</sup>, 3: V<sub>2</sub>.PD<sup>-</sup>, 5: V<sub>4</sub>.PD<sup>+</sup>, 6: V<sub>4</sub>.PG<sup>-</sup>, 7: O<sub>1</sub>.PD<sup>+</sup>, 8: O<sub>1</sub>.PG<sup>-</sup>.

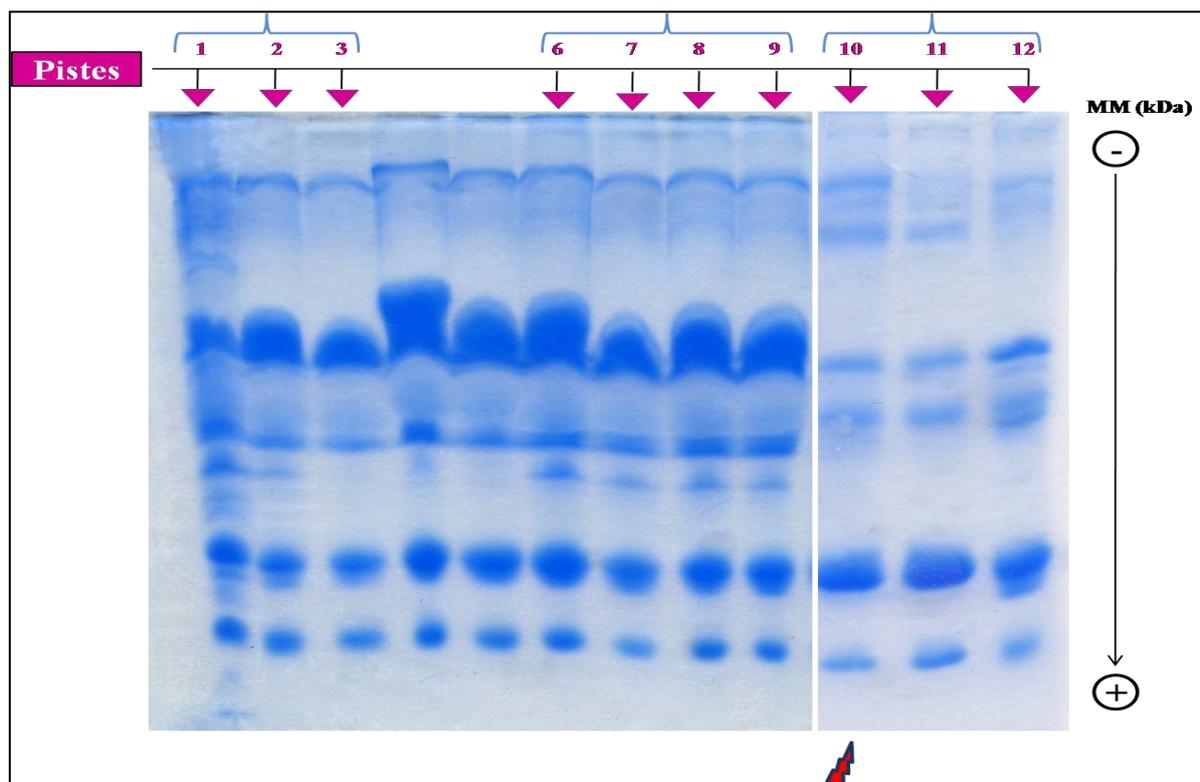
Le profil électrophorétique de trois vaches issues d'un même élevage à Ouacif (**Figure 19**) révèle pour :

La vache O<sub>3</sub>, aux échantillons de lait mammitieux en pistes 1 et 2, un profil différent de celui du lait sain en piste 3. Le plus remarquable c'est l'apparition de plusieurs bandes au niveau de l'emplacement de migration de la αS1-CN, β-CN, κ-CN et l'α-La (Piste 1) et à un degré moindre au niveau de la piste 2.

Les échantillons des 4 trayons atteints de la vache O<sub>5</sub> ayant migré dans les puits 6, 7, 8 et 9, se caractérisent par des profils similaires, marqués par des bandes de migration des Igs, lactoferrines et BSA bien focalisées et plus intenses que les deux témoins de référence du même élevage. En revanche, les caséines αS1-CN deviennent diffuses et non focalisées.

Les deux échantillons de lait issus de trayons atteints de la vache O<sub>6</sub> (Pistes 10 et 11), comparativement à leur témoin négatif (Piste 12), se distinguent par la disparition des bandes

$\beta$ -CN,  $\kappa$ -CN et l'intensification à des degrés différents de la bande  $\alpha$ -La, les lactoferrines et BSA des laits mammites.

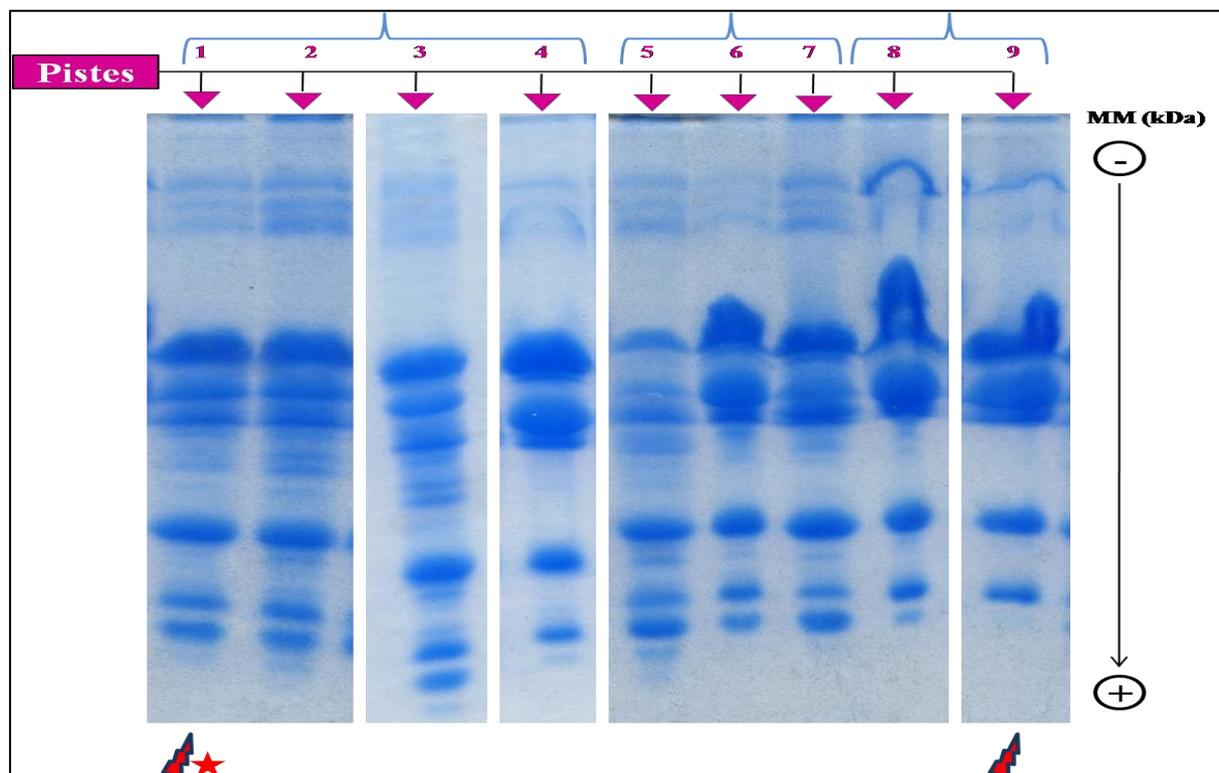


**Figure 19** : Profils électrophorétiques 2 des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).  
 1: O<sub>3</sub>.AG<sup>+</sup>, 2: O<sub>3</sub>.PG<sup>+</sup>, 3: O<sub>3</sub>.AD<sup>-</sup>, 6: O<sub>5</sub>.AD<sup>+</sup>, 7: O<sub>5</sub>.AG<sup>+</sup>, 8: O<sub>5</sub>.PD<sup>+</sup>, 9: O<sub>5</sub>.PG<sup>+</sup>, 10: O<sub>6</sub>.PD<sup>+</sup>,  
 11 : O<sub>6</sub>.PG<sup>+</sup>, 12: O<sub>6</sub>.PD<sup>-</sup>.

Les échantillons des pistes 1,2,3 et 4 (**Figure 20**) de la même vache KV<sub>5</sub> atteinte de mammites subclinique, montrent des profils ayant perdu leurs comportements dans un gel d'électrophorèse constaté par des bandes d'intensités différentes correspondant aux lactoferrines et BSA, en plus de la migration en bandes non focalisées avec apparition de plusieurs autres dans les emplacements correspondant aux CN,  $\alpha$ -La et  $\beta$ -Lg. De plus, on remarque la disparition des bandes de  $\kappa$ -CN.

Pour la vache KV<sub>4</sub>, comparativement à l'échantillon de lait sain (Piste 6), on constate une intensification des bandes de lactoferrines et BSA (Pistes 5 et 7) avec un profil montrant des bandes contigües et intenses dans la zone de migration des CN surtout  $\alpha$ S<sub>2</sub> et  $\beta$ -CN (Piste 7) et un profil avec des bandes moins intenses mais avec plusieurs fragmentations au niveau des bandes de  $\beta$ -CN et  $\kappa$ -CN ainsi que l' $\alpha$ -La et la  $\beta$ -Lg.

Enfin, l'échantillon de lait mammitieux (Piste 9) de la vache KV<sub>1</sub> marque une différence significative comparativement à son témoin négatif (Piste 8) où on note une migration sous forme de plages ayant perdues leurs propriétés de migrer et de se focaliser avec disparition des bandes  $\kappa$ -CN et le variant A de la  $\beta$ -Lg. Notons que le témoin négatif dans ce cas se caractérise par une augmentation de la proportion massique de la CN soluble  $\alpha$ S1-CN.



**Figure 20** : Profils électrophorétiques 3 des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).

1: KV<sub>5</sub>PG<sup>+</sup>, 2: KV<sub>5</sub>AG<sup>+</sup>, 3: KV<sub>5</sub>PD<sup>+</sup>, 4: KV<sub>5</sub>AD<sup>+</sup>, 5: KV<sub>4</sub>PG<sup>+</sup>, 6: KV<sub>4</sub>AG<sup>+</sup>, 7: KV<sub>4</sub>AD<sup>+</sup>, 8: KV<sub>1</sub>PD<sup>-</sup>, 9: KV<sub>1</sub>AD<sup>+</sup>.

### 3.3.6. Aptitude à la coagulation du lait

Afin de mettre en évidence la différence de l'aptitude à la coagulation des échantillons de laits analysés, trente et un échantillons dont 17 mammitieux et 14 sains ont été sélectionnés. La moyenne du temps de coagulation enregistrée à partir des échantillons de lait de mammitie subclinique ( $1093,9 \pm 781,9''$ ) était plus élevée ( $p < 0,001$ ) que celle des échantillons de lait sains ( $325,3 \pm 177,5''$ ). De plus, l'activité de coagulation des échantillons de laits de mammitie subclinique était plus faible ( $2,55 \pm 1,49$  UP) que celle des échantillons de laits sains ( $7,80 \pm 4,46$  UP). Comparativement à l'activité de coagulation du lait standard « poudre de lait reconstituée à 0% MG », l'activité enregistrée sur les laits sain et mammitieux s'avère

supérieure. L'augmentation de la conductivité due à l'infection intramammaire, a été fortement associée à un allongement du temps de coagulation ( $R=0,69 : p<0,001$ ). L'activité de coagulation était inversement proportionnelle à la conductivité ( $R=-0,38 : p=0,03$ ) (Tableau 32).

**Tableau 32 :** Comparaison de l'activité de coagulation des échantillons de laits mammites et sains

/	Code	Temps de coagulation					Moyenne	AC (UP)
<b>Témoin standard</b>	T <sub>1</sub>	852					865	2,31
	T <sub>2</sub>	878						
<i>S. aureus</i>	<b>Témoin positif</b>	<b>Conductivité</b>	<b>TC (s)</b>	<b>AC (UP)</b>	<b>Témoin négatif</b>	<b>Conductivité</b>	<b>TC (s)</b>	<b>AC (UP)</b>
	V <sub>4</sub> .PD <sup>+</sup>	5,41	1618	1,23	V.AG <sup>-</sup>	5,09	146	13,69
	KV <sub>5</sub> .PG <sup>+</sup>	6,50	3536	0,56	KV <sub>4</sub> .AG <sup>-</sup>	5,51	511	3,91
	O <sub>1</sub> .PD <sup>+</sup>	4,9	425	4,70	O <sub>2</sub> .PD <sup>-</sup>	5,27	365	4,87
	O' <sub>1</sub> .PG <sup>+</sup>	4,34	426	4,16	O' <sub>1</sub> .PD <sup>-</sup>	4,35	277	7,22
	O' <sub>3</sub> .AG <sup>+</sup> A	4,60	336	5,95	O' <sub>3</sub> .AD <sup>-</sup>	4,50	252	7,93
	O' <sub>4</sub> .AG <sup>+</sup> A	4,97	1143	1,74	O' <sub>4</sub> .PD <sup>-</sup>	4,75	264	7,57
	8. AG <sup>+</sup>	5,13	795	2,51	9. AD <sup>-</sup>	5,17	693	2,88
	T <sub>1</sub> .PG <sup>+</sup>	5,43	1434	1,39	T <sub>2</sub> .PD <sup>-</sup>	4,93	278	7,19
SNA	O <sub>6</sub> .PD <sup>+</sup>	5,65	1245	1,60	O <sub>7</sub> .PD <sup>-</sup>	4,27	155	17,39
	V <sub>1</sub> .PD <sup>+</sup>	5,39	930	2,15	V <sub>1</sub> .PG <sup>-</sup>	4,75	172	7,35
	KV <sub>1</sub> .AG <sup>+</sup>	4,44	656	3,04	KV <sub>1</sub> .PD <sup>-</sup>	5,46	303	6,60
	6. AG <sup>+</sup>	4,86	551	3,62	6. PD <sup>-</sup>	5,65	134	14,92
	V <sub>2</sub> .AD <sup>+</sup>	6,79	1898	1,05	V <sub>2</sub> .AG <sup>-</sup>	4,61	594	3,35
	O <sub>4</sub> .AD <sup>+</sup>	5,65	637	2,27	O <sub>4</sub> .PG <sup>-</sup>	5,1	450	4,44
	O' <sub>4</sub> .PG <sup>+</sup>	4,77	1105	1,80	-	-	-	-
	O <sub>2</sub> .PG <sup>+</sup>	5,31	470	4,25	-	-	-	-
/	<b>Moyenne</b>	5,25	1093,9	2,55	<b>Moyenne</b>	4,95	325,3	7,80
	<b>DS</b>	0,65	781,9	1,49	<b>DS</b>	0,43	177,5	4,46

**T1 :** Témoin standard *low heat* 0% MG ; **TC :** Temps de coagulation ; **AC :** Activité de coagulation ; **UP :** Unité présure ; **DS :** Déviation standard.



## 4. Discussion

### 4.1. Qualité et motifs de refoulement des laits de collecte

Dans la pratique du contrôle industriel rapide du lait de mélanges reçu et l'examen sommaire de sa composition, il est nécessaire de déterminer l'acidité titrable, la densité, la teneur en matière grasse au litre et de détecter la présence de résidus d'antibiotiques. Deux au moins le sont également pour certaines applications industrielles. Dans la présente étude, on a enregistré 112 refoulements de laits de tanks. Les motifs invoqués étaient par ordre décroissant : la présence de résidus antibiotiques, l'acidité anormale, le mouillage frauduleux et enfin la faible teneur en matière grasse.

#### 4.1.1. Lait acide

L'acidité titrable est un paramètre important de la qualité du lait livré par les collecteurs, car elle fournit une indication de l'acidification bactérienne, de l'état de fraîcheur ou d'éventuelles adultérations (**Schmidt et al., 1996**). Les données de cette laiterie-fromagerie ont indiqué un taux de refoulement de 3,80% (38/999) par rapport à une acidité supérieure à 18°D. Parmi les 112 tanks refoulés dans la période de l'étude, 38 (33,92%) ont présenté un lait acide. Ce taux est inférieur à 37% et 50% rapportés par **Meklati et al. (2023)** dans l'étude menée à Boumerdes et Blida respectivement.

Il n'est pas rare de trouver des fermes produisant du lait dont l'acidité titrable dépasse 18°D, sachant que cette dernière augmente avec le temps et sa charge microbienne, en particulier lorsque les conditions d'hygiène et d'entreposage ne sont pas conformes aux lignes directrices requises (**Matallah et al., 2017**). Par conséquent, la transformation du lactose en acide lactique permet d'avoir un indicateur du degré de conservation (**El Marnissi et al., 2013**). L'augmentation de l'acidité pourrait être liée à la saisonnalité, qui contribue jusqu'à 10 % de la variation de la composition du microbiote du lait cru, avec une plus grande diversité dans les échantillons prélevés au printemps/été (**Yap et al., 2021**). Les échantillons de lait cru collectés en Mai et Juin ont une charge et une diversité d'espèces plus élevées (**Yuan et al., 2022**). De même, une plus grande variation des communautés bactériennes dans les échantillons d'été a été constatée (**Liang et al., 2022**). Les différences de conditions climatiques et de facteurs géographiques peuvent expliquer les variations de composition bactérienne du lait cru (**Yuan et al., 2022**). En conséquence, ce type de lait livré par les

collecteurs primeurs est systématiquement refusé et donc refoulé sans saisie, pénalité ou destruction.

#### **4.1.2. Contamination par les résidus d'antibiotiques**

En santé animale, 96% des utilisations d'antibiotiques en volume, soit 400 tonnes en 2020, concernent les animaux dont les sous-produits sont destinés à la consommation humaine (ANSES, 2021). Or, la présence de leurs résidus dans ces derniers constitue une menace potentielle pour la santé. Le traitement des données, a dévoilé que 17,81% (158/887) des laits retenus avaient un statut inconnu quant aux résidus d'antibiotiques vu les ruptures de stocks en tests enregistrées à répétition durant la période d'étude. Ces pénuries pourraient être dues au développement de technologies de test avancées, la population croissante, la sensibilisation croissante des consommateurs et des acteurs de l'industrie à la sécurité alimentaire ainsi que les cadres réglementaires stricts. De plus, les coûts associés à l'adoption de tests rapides, précis et rentables, le manque de méthodes de tests standardisés et un personnel non formé à cet effet dans les laiteries peuvent entraver la bonne détection de la large gamme de résidus d'antibiotiques.

Il nous semble toutefois bon de relever certaines remarques ayant porté sur la détection des résidus d'antibiotiques. Ces derniers peuvent être détectés par l'utilisation de tests rapides, mais les laiteries ne disposent pas toutes et toujours de ce type de test et c'est seulement en cas d'accidents technologiques qu'il est possible de suspecter une contamination. La laiterie participant à notre étude disposait parfois de l'équipement de dépistage rapide uniquement pour les résidus de bêtalactamines et tétracyclines, sans vérification des autres classes d'antibiotiques. Certains métabolites des  $\beta$ -lactamines peuvent échapper à la détection lorsqu'ils sont présents à de faibles concentrations dans le lait de vache (Meklati *et al.*, 2022). De ce fait, il existe un risque majeur pour la santé du consommateur si des composés ou leurs métabolites d'autres familles d'antibiotiques étaient présents dans le lait.

Cinquante-cinq sur 797 (6,90%) échantillons de lait testés présentaient des résidus d'antibiotiques ; témoignant de l'utilisation importante d'antibiotiques en médecine vétérinaire Algérienne. Ces antimicrobiens sont souvent utilisés en élevage bovin laitier à des fins : thérapeutique, prophylactique, métaphylactique et comme additif alimentaire ou promoteur de croissance (Dibner *et al.*, 2005 ; Guardabassi *et al.*, 2008 ; Bowater *et al.*, 2009 ; Nickell et White, 2010).

En Algérie, **Debeche et al. (2018)** ont signalé dans leur étude réalisée dans la région de M'sila que les antibiotiques les plus utilisés par les vétérinaires sont les oxytétracyclines, les sulfamides, les pénicillines et l'amoxicilline, avec des pourcentages respectifs de 23,6%, 15,5%, 13,8% et 8,0%. Cependant, **Tarzaali et al. (2008)**, **Baazize-Ammi et al. (2019)** et **Meklati et al. (2023)** ont rapporté que les bêtalactamines étaient la première famille d'antibiotiques utilisée tout en restant la plus prépondérante. Les tétracyclines, représentées par l'oxytétracycline arrivaient en 2<sup>ème</sup> place, suivies par les aminoosides et les macrolides. En revanche, **Mimoune et al. (2021)**, ont trouvé la tendance inverse, confirmant ainsi l'existence d'un effet géographique dans l'utilisation des antibiotiques (**Debeche et al., 2018**).

Dans cette étude, la prévalence des résidus d'antibiotiques dans le lait cru était supérieure à 3,25% rapportée par **Debeche et al. (2018)** dans la région de M'sila. Cependant, les résultats obtenus étaient légèrement inférieurs à ceux déclarés par **Meklati et al. (2023)** dans les régions de Blida, Alger et Boumerdes, **Aoues et al. (2019)** dans la région de Blida et **Zeghilet et al. (2022)** dans la région de Constantine avec des pourcentages respectifs de 8,03%, 11% et 9,17%. Nos résultats étaient nettement inférieurs aux proportions de 46,78% rapportée par **Titouche et al. (2013)** dans la même région, de 89% et 97,3% rapportées par **Tarzaali et al. (2008)** et **Ben-Mahdi et Oslimani. (2009)** respectivement.

Les résidus qui subsistent dans le lait, ont un effet cumulatif pour la santé des consommateurs, à l'origine de risques toxicologiques et le développement de bactéries résistantes aux antibiotiques (**Persoons, 2011**). En outre, la présence de ces résidus peut entraîner des problèmes au niveau technologique. Un lait contenant des antibiotiques devient un milieu hostile aux germes, non apte à la transformation. Lors de l'ensemencement par un levain ou ferment, les bactéries meurent ou s'affaiblissent occasionnant ainsi des défauts de fermentation. La législation Algérienne stipule que le lait réservé à la consommation humaine ne doit pas contenir de substances antibiotiques (**JORA, 1993**). Ce règlement a depuis évolué, introduisant la notion de LMR (Limites Maximales en Résidus) (**JORA, 2014**), avec des détails ultérieurs sur la dénomination et le seuil de chaque substance pouvant être présente dans le lait (**JORA, 2016**).

En raison des ressources limitées en matière de dépistage et de l'absence de législation restrictive, seuls quelques collecteurs se renseignent régulièrement sur d'éventuels traitements antibiotiques avant de collecter le lait de chaque ferme. Il n'y a actuellement aucune mesure disciplinaire (sanctions financières ou destructions de lait) dans le pays. Par conséquent, d'une part, certains éleveurs ont tendance à orienter le lait des vaches subissant un traitement

antibiotique vers l'alimentation des veaux ce qui constitue un point critique (**Hamlaoui et al., 2021**) et d'autre part, ce lait rejeté est destiné à la fabrication artisanale de lait fermenté (Lben, Raib), très apprécié par la population locale en accompagnement de certains aliments traditionnels. Depuis quelques années, de plus en plus d'agriculteurs choisissent de transformer leur production en lait fermenté et de le vendre eux-mêmes plutôt que le canal officiel qui est moins lucratif. Les collecteurs primeurs sont également impliqués dans la vente directe de ces produits aux consommateurs via le réseau informel (**Belhadia et al., 2014**). Ce dernier qui échappe à tout contrôle et dont les produits sont généralement de qualité douteuse, occupe une position de premier plan dans le secteur laitier (**Meklati et al., 2020**). Il joue en effet, un rôle important dans l'incorporation des produits rejetés par le réseau régulier.

La présence de résidus d'antibiotiques peut être expliquée par le non-respect du protocole de traitement, la non identification des animaux traités (**Aoues et al., 2019**), la traite des animaux traités (**Le Breton, 2007**) ou la méconnaissance des délais d'attente (**Mensah et al., 2014**). Ce dernier pourrait dépendre du niveau d'instruction des éleveurs qui reste faible dans l'ensemble (**Mohamed Cherif, 2005**), de la communication entre médecin vétérinaire et éleveurs ou un acte volontaire de la part de l'éleveur par ignorance des risques réels de ce geste (**Gadilaghine, 2005**). La présence des résidus d'antibiotiques pourrait être liée à l'inexistence d'un cadre de contrôle adéquat, et à l'absence de tarification du lait en fonction de sa qualité hygiénique, contrairement aux pratiques rencontrées dans les pays développés, grâce à la politique des prix payés aux éleveurs, modulée en fonction de différents critères de qualité (**De Bordeaux, 2000**).

#### **4.1.3. Pratiques frauduleuses**

D'après les résultats, la densité du lait de mélanges de qualité satisfaisante acceptée varie de 1026 comme minima à 1031 comme maxima. La valeur de densité moyenne enregistrée ( $1028,11 \pm 0,56$ ) était légèrement inférieure à la plage (de 1030 à 1034) établie par **JORA (1993)**.

Cette valeur de la densité se rapproche des valeurs de densité du lait cru de collecte rapportées par **Titouche et al. (2017)**, à savoir :  $1028 \pm 0,5$ ,  $1029 \pm 0,3$  et  $1029 \pm 0,1$  de différentes laiteries de la région de Tizi-Ouzou, ainsi que les valeurs de densité rapportées par **Meklati et al. (2023)** et qui sont de  $1029 \pm 1,09$  et  $1029 \pm 1,92$  observées à Alger et Boumerdes respectivement. En revanche, notre valeur est inférieure à celle enregistrée dans leur même étude à Blida ( $1031 \pm 0,91$ ).

La densité du lait varie selon les taux de matière sèche et de matière grasse, elle diminue avec l'augmentation de matière grasse (**Le Mens, 1985**). Certains éleveurs sont enclins à ajouter des volumes élevés d'eau au lait pour augmenter la marge bénéficiaire au détriment de la qualité. Cela peut présenter des risques chimiques ou microbiens pour la santé et réduire la qualité nutritionnelle et de transformation et la valeur commerciale du lait (**Swai et Schooman, 2011**).

En Algérie, la teneur en matière grasse est un critère de paiement du lait selon sa qualité à la livraison. Notre étude a indiqué une teneur moyenne en matière grasse du lait de collecte de  $32,43 \pm 1,62$  g/L avec 30g/L comme minima et 37g/L comme maxima. Cette valeur est légèrement supérieure à celle enregistrée à Boumerdes ( $31,9 \pm 2,62$  g/L) et légèrement inférieure à celle enregistrée à Alger ( $33 \pm 3,11$  g/L) dans l'étude menée par **Meklati et al. (2023)**. Une plus faible teneur pourrait s'expliquer par un régime très déséquilibré, en raison du prix élevé des aliments sur le marché local, exacerbé depuis de nombreuses années par la production fourragère nationale marginale (**Meklati et al., 2020**) ou par une pratique frauduleuse par écrémage du lait.

### 4.2. Qualité du lait et mammites chez les vaches laitières

La production de lait de bonne qualité est un défi majeur dans les secteurs laitiers à l'échelle mondiale. La maîtrise de la sécurité sanitaire de la filière laitière doit commencer d'abord à la ferme et se poursuit jusqu'à l'assiette du consommateur.

#### 4.2.1. Qualité du lait de mélanges au sein des fermes

##### 4.2.1.1. Qualité physico-chimique

Au sein de la même race de vaches, les principaux facteurs de variation des caractéristiques des laits de troupeaux sont la saison, le stade de lactation, le niveau et la nature des apports alimentaires (**Bony et al., 2005 ; Siboukeur, 2007**). La densité du lait varie selon la richesse en matière sèche et est inversement proportionnelle au taux de matière grasse (**Le Mens, 1985**). Nos résultats ont indiqué une densité moyenne de  $1029,12 \pm 1,41$ . Seuls trois laits de mélanges ont montré des densités conformes aux normes **AFNOR** (1030-1032). Une valeur très basse de densité de 1025,52 est associée à un mouillage frauduleux, où une addition de 12,88% d'eau a été pratiquée au sein d'un élevage. En ce qui concerne la matière grasse, une teneur moyenne de  $33,9 \pm 7,1$  g/L a été détectée sur l'ensemble des élevages. Nos résultats corroborent avec la valeur rapportée ( $33,4 \pm 4,1$  g/L) par **Matallah et al. (2017)** dans leurs

étude sur les vaches du nord-est Algérien. Un écrémage frauduleux pourrait être suspecté dans les élevages dont les laits de mélanges avaient des teneurs inférieures à 30 g/L de matière grasse.

La teneur du lait en lactose, principal sucre du lait, substrat de fermentation pour les bactéries lactiques, était dans l'intervalle normal pour un lait cru, soit 40-50 g/L (**Labioui et al., 2009**). La moyenne des valeurs enregistrée dans notre étude ( $46,4 \pm 0,23$  g/L) était supérieure à la valeur de  $35,9 \pm 3,31$  g/L rapportée par **Malallah et al. (2017)**. En revanche la teneur moyenne en protéines des laits issus de nos élevages ( $30,9 \pm 1,5$  g/L) était inférieure à celle ( $32,8 \pm 3,0$  g/L) rapportée dans son enquête (**Matallah et al., 2017**).

### 4.2.1.2. Qualité microbiologique

Le lait a un nombre relativement faible de bactéries lorsqu'il quitte la mamelle, mais la charge microbienne augmente après la traite, en raison d'une exposition possible à divers contaminants exogènes (**Tadesse et Bacha, 2014**), qui pourraient être à l'origine de la détérioration de la qualité du lait et avoir de graves effets sur la santé des consommateurs (**Berhanu et al., 2021**). La contamination peut avoir comme sources : le pis et le corps des vaches, les ustensiles de traite mal lavés, les mauvaises pratiques de traite et le transport non hygiéniques (**Tadesse et Bacha, 2014 ; Abera et Angaw, 2015**). En outre, la qualité de l'eau utilisée pour laver l'équipement de traite et les mains du manutentionnaire y contribuent également (**Abera et Angaw, 2015 ; Knight-Jones et al., 2016**). De plus, une mauvaise connaissance, une mauvaise attitude et une mauvaise pratique des manutentionnaires de lait peuvent contribuer à la contamination du lait cru (**Mansouri-Najand et Rezaii, 2015 ; Munera-Bedoya et al., 2017 ; Gwandu et al., 2018**).

#### 4.2.1.2.1. Flore aérobie mésophile totale (FAMT)

L'analyse microbiologique du lait de mélanges a révélé que la charge microbienne totale était importante pour les 12 fermes avec une valeur moyenne de  $7,03 \pm 0,83 \log_{10}$  UFC/mL. Tous les échantillons avaient une charge microbienne supérieure à la norme fixée par la réglementation nationale (**JORA, 1998**) qui est de  $10^5$  UFC/mL ( $5 \log_{10}$  UFC/mL). L'augmentation de la FAMT dans notre étude est probablement due à la multiplication des microorganismes surtout avec l'élévation de la température ambiante qui atteignait plus de 40°C à Tizi-Ouzou où notre étude a été réalisée. Cette forte charge en FAMT observée dans les échantillons du lait de mélanges pourrait être le résultat d'une multiplication microbienne intense, favorisée par la

non maîtrise des conditions d'hygiène lors de la traite et du stockage du lait. En plus, l'augmentation de la distance entre les fermes et les unités de collecte pourrait prolonger la durée de livraison, entraînant ainsi une augmentation intense de la charge microbienne totale (**Gran et al., 2002**). Cette situation est d'autant plus critique avec la rupture de la chaîne de froid. Les mauvaises pratiques de nettoyage et de désinfection de l'équipement de traite et de stockage du lait pourraient être aussi une source non négligeable de la contamination microbienne du lait cru à la ferme (**Millogo et al., 2010**). **Bonfoh et al. (2006)** ont pu signaler que le mauvais nettoyage des récipients en contact du lait à la ferme laisse des niveaux résiduels de contamination de l'ordre  $4.1 \log_{10}$  UFC/mL. La charge microbienne élevée du lait résulte aussi bien de l'âge du produit, mais aussi de la température de son stockage (**Faye et Loiseau, 2000**).

#### 4.2.1.2.2. Coliformes thermotolérants (fécaux)

L'analyse a révélé une contamination des échantillons par les coliformes fécaux d'une valeur moyenne de  $4,84 \pm 0,72 \log_{10}$  UFC/mL. Ce niveau de contamination dépasse largement la norme en vigueur fixée à  $3 \log_{10}$  UFC/mL ( $10^3$  UFC/mL), mais concorde avec la valeur rapportée ( $4.29 \pm 0.23 \log_{10}$  UFC/mL) par **Kaouche-Adjlane et al. (2014)**. L'abondance des coliformes thermotolérants dans le lait de mélanges reflète l'absence des dispositions sanitaires requises au cours de la traite pour la récolte du lait et probablement une contamination au cours du stockage. Les principaux vecteurs sont liés aux téguments de la peau des trayons, souillés par les déjections des vaches et le matériel de traite inadéquat et/ou mal nettoyé (**Mhone et al., 2011**). L'hygiène des étables, du sol et de l'eau utilisée ainsi que celle des mains des trayeurs sont autant de facteurs favorisant la contamination fécale du lait de mélanges par les coliformes (**Chye et al., 2004 ; Farougou et al., 2011**). Notons que notre enquête a été réalisée durant la période de canicule (Juin et Juillet 2023) et que des contaminations élevées en période estivale ont été rapportées par plusieurs auteurs (**Afif et al., 2008 ; El Marnissi et al., 2013**).

#### 4.2.1.2.3. Contamination par *S. aureus*

Le taux de contamination du lait cru de mélanges par *S. aureus* au niveau des élevages laitiers était de 25% (3/12). Cette prévalence semble moins importante que celles rapportées par **Aggad et al. (2009)** ainsi que **Ghazi et Niar. (2011)**, qui ont annoncé des taux de contaminations de 54,28% et 82% respectivement dans l'ouest Algérien. **Kaouche-Adjlane et al. (2014)** ont annoncé des prévalences de 33,3% et 56,7% au niveau des élevages et des

unités de transformation respectivement. Ces données concernant la prévalence de *S. aureus* dans le lait cru reflètent l'importance que tient cette bactérie dans la contamination microbienne de cette denrée alimentaire. *S. aureus* est la cause majeure des mammites cliniques et subcliniques et la raison principale pour les traitements antimicrobiens chez les vaches laitières. Bien que des cas de mammites subcliniques à *S. aureus* aient été observés dans 9 fermes, l'analyse du lait de mélanges indique qu'il est exempt de *S. aureus* et de résidus d'antibiotiques. Plusieurs sources de contamination du lait par *S. aureus* à la ferme ont été soulignées, incluant les conditions d'hygiène inappropriées durant la traite et le stockage (**Jamali et al., 2015**).

### 4.2.2. Mammites subcliniques chez les vaches laitières

#### 4.2.2.1. Prévalence et importance des mammites

La mammite est l'une des maladies connues pour être répandue dans divers systèmes de production laitière. Elle affecte la qualité et la quantité du lait et provoque des changements pathologiques dans le tissu glandulaire du pis. Elle a plusieurs conséquences négatives, notamment une baisse du rendement laitier, une augmentation des taux de réforme et des frais de traitement, et une accélération de la possibilité de décès (**Fulasa et Deressa, 2021**). Dans la présente étude, aucun élevage bovin n'a été épargné des formes actives de mammite. Nos résultats ont indiqué une prévalence individuelle globale de 48,12%, à raison de 46,87% de mammites subcliniques et une plus faible prévalence (2,50 %) de mammites cliniques avec des signes visibles de mamelles enflammées et des anomalies dans le lait. Sur le plan quartier, la prévalence globale des formes subclinique et clinique était de 20,62% (132/640) et de 0,62% (4/640) respectivement. Une fréquence d'atteinte élevée a été constatée sur les quartiers postérieurs (62,87%) par rapport aux antérieurs (37,12%). Ce dernier constat est similaire aux résultats rapportés dans les études menées par **Barkema et al. (1997)** et **Bouaziz. (2005)**. Les formes sévères de mammites ont induit une perte systématique de production laitière de plus de 25% chez 6 (3,75%) vaches en lactation ayant présenté six quartiers non fonctionnels. La variation de l'ampleur pourrait être attribuée à la race, au cadre de l'étude, l'année de l'étude, la taille de l'échantillon, l'état épidémiologique et le système de gestion (**Girma et Tamir, 2022**).

Comparativement aux enquêtes réalisées dans les différentes régions d'Algérie, nos résultats se trouvent dans la plage des prévalences individuelles rapportées [33,7% - 52,2%] par différents auteurs (**Saidi et al., 2015 ; Akkou et al., 2016 ; Belkheir et al., 2016 ; Boufaida-**

**Asnoue et al., 2016**). La prévalence relativement élevée de la mammites bovine observée en Algérie pourrait être liée à un manque de mise en œuvre de stratégies régulières de prévention et/ou de contrôle de la mammites. Bien que la mammites clinique chez les vaches laitières soit facilement détectée et traitée, la forme subclinique passe presque toujours inaperçue pour les éleveurs et propage l'infection dans tout le troupeau (**Alebie et al., 2021 ; Girma et Tamir, 2022**).

#### **4.2.2.2. Prévalence des mammites subcliniques**

Bien que le test de CMT soit toujours utilisé dans la plupart des études en raison de sa commodité et sa validation dans des applications sur le terrain pour la détection des mammites subcliniques (**Ka ikçi et al., 2012**), aucun éleveur n'a recours à ce test ni aucun autre outil de routine pour le dépistage des vaches et la distinction des trayons sains de ceux atteints de mammites subclinique ; justifiant ainsi, la prévalence quartier relativement élevée (20,62%) rapportée dans notre étude. Compte tenu de l'étiologie bactérienne, la mammites est principalement causée par des agents pathogènes contagieux et environnementaux (**Kalinska et al., 2018**). La majorité des pathogènes incriminés dans les mammites cliniques sont d'origine environnementale. En revanche, les agents contagieux sont principalement liés aux infections subcliniques (**Abebe et al., 2016 ; Klass et Zadoks, 2018**).

La mammites subclinique est une inflammation insidieuse de la glande mammaire qui peut évoluer vers une forme clinique ou vice versa (**Niu et al., 2017**). Elle est transmise d'une vache avec une mamelle infectée à une vache saine. Un large éventail d'agents pathogènes contagieux sont présents dans les pis de vaches, notamment *Staphylococcus aureus* (**Kibebew, 2017**). Sous sa forme subclinique, la mammites revêt une importance vitale pour la santé publique car elle est liée à de nombreuses zoonoses dans lesquelles le lait devient un vecteur d'agents infectieux (**Galal Abdel Hameed et al., 2006 ; Titouche et al., 2022**) et de par le fait que le lait mammitieux se retrouve souvent mélangé aux laits de tank, en particulier dans des populations où certaines personnes pourraient consommer du lait cru ou des produits laitiers non pasteurisés comme le yaourt ou le fromage (**Awad et al., 2017**).

#### **4.2.2.3. Culture bactérienne**

Dans notre étude, 3,03% (4/132) des prélèvements de laits de mammites subclinique étaient bactériologiquement stériles. Ce résultat est proche des 5% de stérilité rapportée par **Saidi et al. (2013)**, mais reste inférieur à 9% et 11% rapportés par **Akkou. (2017)** et **Boufaida-**

**Asnoue et al. (2012)** respectivement en Algérie. Ces cultures négatives pourraient être liées aux facteurs ayant un impact sur la variation du comptage de cellules somatiques tels que le stade de lactation, l'âge, la saison, le stress et la variation diurne. En effet, des niveaux physiologiquement élevés de cellules somatiques en début et fin de lactation chez les vaches saines donnaient des faux positifs au dépistage par le test de CMT (**Schepers et al., 1997**). Les performances insuffisantes des techniques de bactériologie pour l'isolement de certaines bactéries telles que les mycoplasmes, pourraient engendrer des cultures stériles (**Dinsmore et al., 1992**).

Parmi les échantillons ayant montré des cultures positives (**NMC, 1999**), les Staphylocoques étaient impliqués à 59,05% (75/127) dans la contamination des laits quartiers, soit 49,33% des *S. aureus* et 50,66% des SNA. *S. aureus* est un agent pathogène prédominant causant les formes les plus virulentes de mammite bovine et constitue le plus grand défi pour la production laitière dans la plupart des pays avec un impact négatif important sur le bien-être des animaux, la productivité et la salubrité alimentaire (**Monistero et al., 2018 ; Elgharib et al., 2020**). Leur persistance dans les cellules peut constituer un réservoir d'infection récurrente de la mammite bovine (**Zhou et al., 2018**). Comparativement à des études Algériennes précédentes, on retrouve que *S. aureus* était impliqué dans les mammites subcliniques à des taux de 30,3% et 40% dans les régions Est et Centre de l'Algérie respectivement (**Boufaïda-Asnoue et al., 2012 ; Saidi et al., 2015**).

Tel que rapporté dans la présente étude, les SNA sont devenus l'isolat de mammite bovine les plus répandus dans de nombreux pays et pourraient donc être décrits comme des agents pathogènes émergents de la mammite (**Pyörälä et Taponem, 2009**). Leur prépondérance peut être due à une mauvaise hygiène de la traite. Les SNA colonisent généralement l'extrémité du trayon et le canal du trayon seulement et sont difficiles à associer à la mammite clinique ; cependant dans certaines circonstances, ils peuvent entraîner une augmentation du nombre de cellules somatiques et engendrer une mammite subclinique (**Pyörälä et Taponem, 2009**). Nos résultats de l'identification biochimique des staphylocoques ont montré une implication de 17,33% pour *S. chromogenes*, 8% pour *S. haemolyticus*, 8% pour *S. hyicus* et 5,33% pour *S. xylosus*, ce qui est en accord avec ceux de **Traversari et al. (2019)**, ayant indiqué le même ordre de prédominance soulignant ainsi leur importance en tant qu'agents causatifs potentiels d'IMI.

*Staphylococcus chromogenes* est l'une des espèces de SNA les plus fréquemment identifiées dans le lait mammitique (**Vanderhaeghen et al., 2014**). Elle est dotée de la capacité de

coloniser le canal du trayon, de se propager dans les troupeaux et provoquer des IMI persistantes (Supré *et al.*, 2011 ; Mork *et al.*, 2012 ; Piessens *et al.*, 2012 ; Quirk *et al.*, 2012 ; Fry *et al.*, 2014). Certaines souches de *S. chromogenes* sont même capables d'adhérer et d'entrer dans les cellules épithéliales mammaires chez les vaches (Souza *et al.*, 2016). Puisqu'il s'agit d'un colonisateur contagieux et commun de l'extrémité du trayon et du canal du trayon, le recours au tarissement progressif et l'utilisation des désinfectants pour trayons après la traite sont d'une grande valeur pour contrôler la maladie. Ces mesures de contrôle n'ont toutefois pas été adoptées par la plupart des éleveurs ayant participé à l'étude. A l'inverse de *S. xylosus* ayant un réservoir principalement environnemental, *S. haemolyticus* semble être une espèce polyvalente qui peut s'adapter à l'animal ainsi qu'à l'environnement (Piessens *et al.*, 2011). A cet effet, des mesures d'hygiènes strictes sont requises pour limiter leur impact sur la mamelle.

#### **4.2.2.4. Résistance aux antibiotiques**

D'un point de vue mammite bovine, l'échec de l'antibiothérapie est souvent dû à une infection chronique accompagnée de fibrose, une dose inadéquate d'antibiotiques et l'émergence de bactéries pathogènes multirésistantes (Seegers *et al.*, 2003). A cet effet, la sélection des antibiotiques pour la prise en charge de la mammite devrait être basée sur les résultats de l'antibiogramme plutôt que sur la thérapie empirique (Tiwari *et al.*, 2013). L'usage des antibiotiques chez les animaux de rente pourrait compromettre la santé publique et la sécurité alimentaire en raison de la contamination des aliments par les résidus d'antibiotiques, du risque de transmission de cette résistance à l'homme et de son influence sur l'efficacité thérapeutique (Gomes *et al.*, 2016 ; Ye *et al.*, 2017 ; Titouche *et al.*, 2022). Dans notre étude, seuls 37,33% des isolats étaient sensibles à tous les antibiotiques testés. Des niveaux élevés de résistance aux antibiotiques des Staphylocoques ont été associés à la pénicilline (40%), la tétracycline (34,66%), l'érythromycine (33,33%) et la clindamycine (30,66%).

Les  $\beta$ -lactamines, tels que la pénicilline, font partie des antibiotiques les plus largement utilisés pour le traitement des mammites (Aslantas et Demir, 2016 ; Ouakli *et al.*, 2022). Des niveaux élevés de résistance à la pénicilline ont déjà été signalés chez des souches de Staphylocoques associés à la mammite subclinique bovine dans différents pays. En Algérie 95,2%, 86,5% et 35% étaient les taux rapportés par Saidi *et al.* (2015) ; Akkou *et al.* (2016) et Boufaïda-Asnougne *et al.* (2016) respectivement. Des taux élevés de résistance à la

pénicilline ont été rapportés en Egypt 64,3% (**Elghammal et al., 2020**), en Bosnie (56,3%) (**Burovic, 2020**) et en Chine 58,5% (**Ren et al., 2020**). Ces variations pourraient être dues à des différences dans la réglementation sur l'utilisation des antimicrobiens adoptée par ces pays et la stratégie thérapeutique suivie par les vétérinaires (**Signorini et al., 2018**).

L'émergence de bactéries multi-résistantes, en particulier du SARM, est devenue un problème majeur de santé publique (**Li et al., 2015**). Son isolement dans le lait cru et les produits laitiers a été signalé dans le monde entier (**Titouche et al., 2022**). Nos tests de sensibilité aux antibiotiques ont montré trois Staphylocoques résistants à la céfoxitine (mécilline). Bien que les gènes *mecA* et/ou *mecC* n'ont pas été recherchés, pour des considérations techniques, on peut distinguer phénotypiquement deux souches de SARM.

La résistance à la tétracycline, l'érythromycine entre autres la clindamycine était aussi importante chez les Staphylocoques testés dans notre étude. Comparativement à *S. aureus*, des différences significativement élevée de résistance à l'érythromycine ( $p=0,009$ ), la clindamycine ( $p=0,02$ ) et l'acide fusidique ( $p=0,01$ ) ont été observées chez les isolats de SNA. La tétracycline est utilisée depuis de nombreuses décennies comme agent antimicrobien efficace et peu coûteux pour les animaux. Chez les Staphylocoques testés, sa résistance se rapproche de 29% rapporté par **Boufaida-Asnoune et al. (2016)** dans le Nord-Est de l'Algérie.

L'étude des profils de résistance aux antibiotiques a montré que 62,66% des Staphylocoques étaient résistantes à au moins un antibiotique. Selon le Centre Européen de Prévention et de Contrôle des maladies (ECDC), la résistance à au moins trois classes d'antibiotiques est considérée comme une multirésistance. Cette dernière a concerné 30,66% des isolats de *Staphylococcus* dans la mammite bovine subclinique. Enfin, nous avons caractérisé 17 profils de résistance appartenant à onze élevages, avec une diversité élevée dans les souches de SNA. Le spectre de résistance relativement élevé des Staphylocoques impliqués dans la mammite bovine est probablement dû à l'utilisation fréquente et à long terme d'antibiotiques en thérapeutique.

### 4.3. Composition et aptitude à la coagulation des laits mammiteux et sains

Le lait de mélanges livré à nos laiteries comprend un certain pourcentage de lait de mammite et ce pourcentage peut être parfois relativement élevé. La bibliographie fournie d'abondantes données sur les modifications de composition du lait imputables aux inflammations de la mamelle, les opinions étant cependant parfois assez divergentes. On est bien moins informés

des conséquences sur le plan technologique et de l'influence exercée sur la qualité des produits finis. Pour y répondre, nous nous sommes engagés à étudier à l'échelle quartier chez 60 vaches appartenant à 8 élevages, l'impact des mammites subcliniques sur la qualité physico-chimique et l'aptitude à la coagulation du lait cru. L'étude comparative des propriétés physico-chimiques et la composition en protéines a concerné 49 quartiers atteints de mammites subcliniques et 25 quartiers sains. L'aptitude à la coagulation a été étudiée sur 31 laits quartiers dont 17 atteints de mammites subcliniques et 14 laits sains.

### 4.3.1. Mammites subcliniques et composition du lait quartier

Les variations de la composition du lait dues à la mammite subclinique peuvent altérer le processus de transformation et la qualité des produits laitiers (**Le Maréchal *et al.*, 2011**). Nos données sur les cas de mammites subcliniques chez les vaches en lactation ont indiqué que l'infection intramammaire affecte négativement la composition du lait quartier. Il a été démontré que le degré des changements dépend de la réponse inflammatoire, de la pathogénicité bactérienne ainsi que de la gravité et de la quantité de tissus affectés dans la glande mammaire (**Pyörälä, 2003**).

Par rapport aux laits sains, les analyses des laits de mammites subcliniques montrent des valeurs plus élevées de conductivité ( $p < 0,001$ ) et de pH ( $p < 0,001$ ). La conductivité du lait est considérée comme un indicateur de la santé de la mamelle en raison des changements dans l'équilibre ionique associés à la réponse inflammatoire due à l'infection intramammaire (**Kandeel *et al.*, 2019**). Selon des études récentes menées par **Jeantet *et al.* en 2017**, le pH peut augmenter jusqu'à atteindre 7 à 7,2 dans le cas de mammites. Le bouleversement des équilibres minéraux est aussi associé à cette augmentation de pH (**Berthelot, 2018**).

Dans le cas de mammites subcliniques, l'augmentation de l'activité de la plasmine entraîne une altération fonctionnelle et sécrétoire des cellules épithéliales de la glande mammaire (**Ogola *et al.*, 2007 ; Le Maréchal *et al.*, 2011**) conduisant à une diminution de la matière grasse dans le lait (**Auldish *et al.*, 1995**). Les membranes enveloppant les globules gras se trouvent altérées, les teneurs en enzymes protéolytiques et lipolytiques augmentées, ainsi que la teneur en acides gras libres dénotant une lipolyse du lait, qui peut être multipliée par trois par rapport à un lait sain (**Berthelot, 2018**). En revanche, malgré cet effet négatif bien établi de la plasmine sur l'activité synthétique et sécrétoire des cellules épithéliales mammaires pendant l'infection intra-mammaire, les résultats de la littérature à propos de l'effet de la mammite subclinique sur la matière grasse sont contradictoires à nos résultats selon lesquels

les quartiers altérés par la mammite subclinique ont produit du lait avec une diminution non significative de matière grasse. Par conséquent, cela pourrait être dû à la diminution du volume de lait dans les glandes infectées (**Bansal et al., 2005**).

#### **4.3.2. Impact des mammites subcliniques sur les protéines du lait**

A travers une électrophorèse PAGE-SDS et les résultats d'analyses physico-chimiques, nous nous sommes intéressés aux protéines totales des laits sains et mammitiques. Les variations de migration entre les échantillons de laits sains pourraient s'expliquer par une infection mammaire antérieure (**Serieys, 2015**). La lactoferrine, la BSA et les IgG peu visibles dans le lait sain, apparaissent de manière beaucoup plus intense après infection due à un accroissement des teneurs en composants d'origine sanguine (**Cauty et Perreau, 2009**).

Pendant l'inflammation, l'augmentation significative de l'activité de la plasmine est liée à une évolution de la perméabilité de la barrière épithéliale (**Nickerson et Pankey, 1984**). Associé à cela, de nombreux activateurs de plasmine proviennent du sang et des bactéries. La concentration des activateurs des sérines protéases augmente considérablement (**Yamagata et al., 2001**). La  $\alpha$ 1-CN est faiblement hydrolysée par la plasmine. Il semblerait qu'elle ne lui soit pas accessible car elle aurait une position centrale au niveau de la micelle (**Farrell et al., 1993**). Très peu d'études ont abordé la dégradation des protéines laitières par les protéases de bactéries pathogènes. Les extraits d'enzymes extracellulaires de *S. aureus* sont capables de dégrader 9,6% de la caséine  $\beta$  (**Verdi et Barbano, 1991**). Et évidemment ces modifications s'observent différemment d'un lait mammitique à un autre selon la sévérité de l'infection.

Il a été observé que les échantillons de lait provenant de quartiers infectés ont des teneurs en protéines totales et en protéines de lactosérum plus élevées, mais une teneur en caséine plus faible par rapport aux échantillons de lait provenant de quartiers sains (**Forsbäck et al., 2010**). Le calcul des pourcentages de caséines et de protéines sériques n'a pas fait objet de notre étude. En effet, la perturbation de l'épithélium de la glande mammaire augmente la perméabilité de la barrière laitière et facilite le passage des protéines sériques dans le lait (**Ogola et al., 2007**). Pendant ce temps, les protéases provenant des bactéries et des leucocytes dans le lait mammitique provoquent la protéolyse des caséines, entraînant une diminution de la teneur en caséine du lait (**Le Roux et al., 2003 ; Ogola et al., 2007**). Il semble ici que la diminution de la teneur en caséine est compensée par une augmentation de la teneur en protéines sériques du lait, ce qui a entraîné finalement un effet non significatif de la mammite subclinique sur la teneur en protéines totales du lait.

### **4.3.3. Impact des mammites subcliniques sur l'activité de coagulation**

L'aptitude d'un lait à se coaguler est influencée par quatre caractéristiques propres au lait, qui sont : la teneur en caséines, la concentration en calcium et en phosphate de calcium, le pH et la dimension de la micelle. Intervient également, de façon significative, les proportions relatives des différentes caséines dans les micelles et la nature de leurs variants génétiques (**Pougheon, 2001**). Le processus de coagulation commence par l'hydrolyse de la  $\kappa$ -CN par la chymosine de la présure suivie de l'agrégation des micelles de caséine qui forment un réticulum piégeant la phase soluble et les globules gras (**Guinee, 2003**). Le nombre d'interactions secondaires dans le caillé augmente avec le temps conduisant à sa synérèse et à l'expulsion partielle du lactosérum.

Dans la présente étude, les échantillons de lait de mammité subclinique ont présenté un temps de coagulation plus long et une activité de coagulation plus faible que les échantillons de lait des quartiers sains. Ceci est en accord avec ce qui a été rapporté par **Waes et Bellegem en 1969** ainsi que **Jeantet et al en 2017** sur le fait que le lait de mammité peut se coaguler lentement et parfois même, pas du tout, selon le degré de l'inflammation.

La détérioration des propriétés de coagulation pourrait être attribuée principalement au pH plus élevé du lait et à la dégradation des caséines. En effet, une plus grande dégradation de la caséine a un effet important sur le comportement technologique du lait cru de vache ; tandis qu'un pH plus élevé du lait provoque une diminution de l'activité enzymatique impliquée dans la coagulation du lait, ce qui affecte négativement les propriétés de coagulation (**Stocco et al., 2015 ; Pegolo et al., 2021**).



# *Conclusion et Recommandations*

## **Conclusion et recommandations**

### **Conclusion**

Une collaboration active entre les éleveurs, les vétérinaires, les collecteurs primeurs et les industriels s'avère de plus en plus nécessaire pour satisfaire les exigences de la qualité dans la production et la transformation du lait cru produit en Algérie. Un lait apte à la consommation et à la transformation qui répond aux normes standard d'hygiène doit satisfaire des exigences relatives à la composition telles que les teneurs en eau, en matière grasse et en protéines et à la qualité telles que les teneurs en germes, en cellules somatiques et en résidus d'antibiotiques.

La qualité technologique du lait comprend aussi la composition et le niveau de flores microbiennes susceptibles de se développer au cours de la production, en passant par la conservation du lait et les conditions de stockage et de transformation. A Tizi-Ouzou, nous avons constaté que la qualité sanitaire des laits de mélanges au sein des fermes était globalement au-dessous des normes. Les variations étaient importantes dénotant un manque de respect des bonnes pratiques de production au niveau de la traite et du stockage de lait cru au sein des fermes ainsi que le transport ultérieur vers les laiteries. Un tiers des motifs de refoulement de lait de tanks au sein de la laiterie étaient dus à une acidité titrable anormale.

A la lumière de nos résultats, il s'avère que les mammites subcliniques demeurent l'une des pathologies dominantes qui sévissent dans les élevages bovins. La prospection des vaches en lactation au sein des élevages reflète le fardeau que représentent les infections intra-mammaires pour les éleveurs. L'impact sur la qualité technologique se justifie par les taux élevés en cellules somatiques associés aux laits issus de vaches atteintes de mammites subcliniques. L'analyse bactériologique des échantillons de lait mammitieux a montré que 56,81% des quartiers étaient infectés par des Staphylocoques, représentés majoritairement par *S. aureus*. A l'échelle quartier les résultats de notre étude ont montré que les laits atteints de mammites subcliniques présentent de faibles teneurs en matière grasse, une composition protéique déséquilibrée avec une désintégration des caséines- $\kappa$  et une faible aptitude à la coagulation par rapport aux laits sains. Ainsi, l'aptitude à la coagulation d'un lait de mélanges contenant du lait normal et du lait de mammite dépendra dans une large mesure du pourcentage et de la nature du lait de mammite entrant dans le mélange.

La dissémination progressive de l'antibiorésistance doit être considérée comme une menace majeure, en absence d'une politique claire et restrictive visant à réduire l'usage des agents

antimicrobiens non seulement chez l'homme, mais aussi chez l'animal. L'étude de la résistance des isolats de Staphylocoques vis-à-vis de quelques molécules d'antibiotiques a montré l'existence de résistance avec des proportions variables selon les différentes familles considérées. La multi-résistance aux antibiotiques a été observée dans 30,66 % des isolats de Staphylocoques. Ceci pourrait laisser prévoir de nombreux échecs thérapeutiques en médecine vétérinaire et humaine. L'apparition des résidus d'antibiotiques dans les laits de mélanges était à l'origine du refoulement de 6,90% des tanks réceptionnés au niveau de la laiterie. Une situation qui pourrait conduire aux accidents technologiques au sein des laiteries où le dépistage de résidus d'antibiotiques n'est pas réalisé. L'émergence de nombreuses entreprises artisanales et semi-artisanales qui ne maîtrisent pas les règles d'hygiène requises dans les différents maillons de la filière, pourrait entraîner la mise sur le marché de produits impropres à la consommation.

Enfin, nous rapportons à l'issue de notre étude, l'existence de variations dans la composition de lait de mélanges d'une ferme à une autre. Bien que ces variations puissent être liées à la gestion des élevages, le lait doit conserver intégralement ses propriétés nutritives et organoleptiques car il peut subir de nombreuses fraudes soit par addition ou par soustraction. Ces pratiques frauduleuses de mouillage et d'écémage ont été constatées aussi bien au niveau des fermes que des laiteries, ce qui est à l'origine du refoulement de quantités considérables de lait par les unités de transformation du lait.

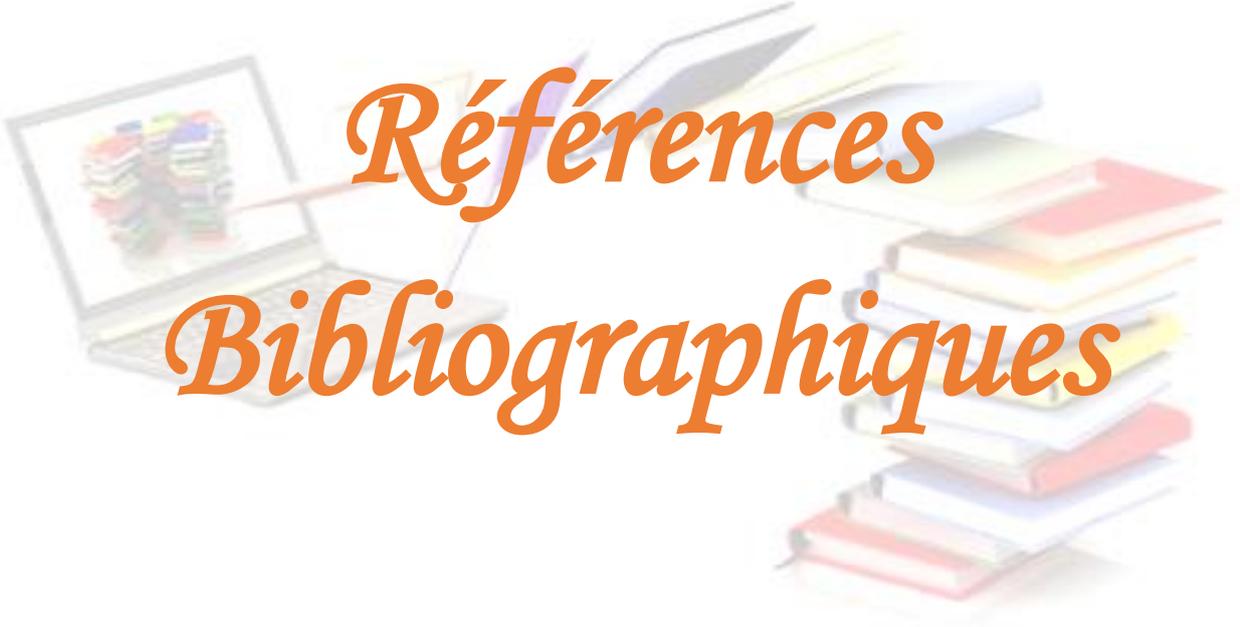
### **Recommandations**

L'amélioration de la qualité du lait cru produit localement repose essentiellement sur l'instauration d'une politique de qualité, visant la vulgarisation de bonnes pratiques d'élevages et d'hygiène, la mise en œuvre d'un contrôle laitier permanent et un encadrement zootechnique des éleveurs. Un ensemble de dispositions pratiques est requis pour produire du lait et des produits laitiers sûrs et qui conviennent à leurs utilisations prévues. Il s'agit :

- d'effectuer des prélèvements réguliers et de les analyser;
- de contrôler si les dispositions réglementaires à la production, au transport, la transformation et à la consommation ont été respectées ;
- de sensibiliser en permanence tous les acteurs concernés par la production du lait cru, la collecte, la transformation et la consommation;
- d'appliquer des sanctions sévères en cas de non-respect des réglementations et enfin d'instaurer une collaboration entre les différents services dans ce contrôle.

Le lait de mélanges livré à nos laiteries comprend un certain pourcentage de lait de mammite et ce pourcentage peut être parfois relativement élevé. La tâche actuelle de la technologie laitière consiste à limiter dans la mesure du possible l'influence éventuelle du lait de mammite sur la qualité des produits laitiers.

La vraie solution consiste à lutter par tous les moyens contre la mammite et les problèmes qu'elle pose. Il faut agir à deux niveaux : limiter les nouvelles infections et diminuer les taux des infections existantes. Les mammites subcliniques doivent faire l'objet d'un dépistage régulier et périodique dans les exploitations de bovins laitiers afin de construire une base de données et un historique de la santé de la mamelle pour chaque vache laitière de manière individuelle. Ainsi, on dispose de données permettant de prendre une décision quant à la conduite à tenir pour le traitement de mammites subcliniques et d'en prévenir d'autres dans l'exploitation. En définitif, dans le souci de garantir le plus fidèlement la qualité du lait cru commercialisé, de protection des consommateurs et des fabricants honnêtes de la concurrence déloyale, il est indispensable de rechercher et de lutter contre les fraudes.

An illustration featuring a laptop on the left with a colorful stack of books on its screen, and a physical stack of books on the right. The text 'Références Bibliographiques' is overlaid in the center in a stylized orange font.

*Références  
Bibliographiques*

## A

**Abebe R., Hatiya H., Abera M., Megersa B. et Asmare K. (2016).** Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, **12**:270. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0905-3>.

**Abera Y. et Angaw M. (2015).** Handling practice and microbial quality of raw cow's milk produced and marketed in Adigar Town, North Eastern Tigray. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, **5**:160-170.

**Afif A., Faid M. et Najimi M. (2008).** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc, *Reviews in Biology and Biotechnology*, Bio-Alliance Canada-Morocco, **7**:2-7.

**Aggad H., Mahzouz F., Ahmedammar Y. et Kihal M. (2009).** Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'Ouest Algérien. *Revue de Médecine vétérinaire*, **169**:590-595.

**Aiello S.E. (2002).** Le Manuel Vétérinaire Merck, Deuxième édition française, Merck and co, White house station USA, 1391-1393 et 1949-1950.

**Akkou M. (2017).** Caractérisation de *Staphylococcus aureus* isolé de mammites et impact sur les personnes à risque. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire. Alger. Algérie.

**Akkou M., Antri K., Bachtarzi M.A., Bes M., Tristan A., Dauwalder O., Kaidi R., Meugnier H., Tazir M., Etienne J., Laurent F. et Ramdani-Bougoussa N. (2016).** Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with bovine mastitis and nasal carriage of workers in contact to animals in Algeria. *Pakistan Veterinary Journal*, **36**:184-188.

**Alebie A., Molla A., Adugna W., Tesfaye A. et Ejo M. (2021).** Prevalence, isolation, identification and risk factors of major bacterial cause of camel subclinical mastitis. *BioMed Research International*, 6 p. <https://doi.org/10.1155/2021/5522331>.

**Ananthanarayan et Paniker. (2006).** Textbook of Microbiology. Edition Seventh, India. 665p.

**ANSES. (2021).** Surveillance des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2020. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ANMV-Ra-Antibiotiques2020.pdf>. Consulté le : 01/10/2022.

**Aoues K., Megateli S., Tabet M., Rezki I., Tefahi D. et Benrima A. (2019).** Détection des résidues d'antibiotiques dans le lait cru de vache collecté dans la région de Blida (Algérie). *Revue Agrobiologia*, **9**:1214-1222.

**Aslantaş O. et Demir C. (2016).** Investigation of the antibiotic resistance and biofilm-forming ability of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis cases. *Journal of Dairy Science*, **99**:8607–8613.

**Auldism M.J., Coats S., Rogers G.L. et McDowell G.H. (1995).** Changes in the composition of milk from healthy and mastitic dairy cows during the lactation cycle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **35**:427-36.

**Awad A., Ramadan H., Nasr S., Ateya A. et Atwa S. (2017).** Genetic characterization, antimicrobial resistance patterns and virulence determinants of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **20**:298-305.

## B

**Baazize-Ammi D., Dechicha A.S., Tassisst A., Gharbi I., Hezil N., Kebbal S., Morsli W., Beldjoudi S., Saadaoui M.R. et Guetarni D. (2019).** Screening and quantification of antibiotic residues in broiler chicken meat and milk in the central region of Algeria. *Rev. Sci. Tech. Int. Off. Epiz.* **38**: 863-877.

**Balandraud N., Mosnier C., Delaby L., Dubief F., Goron J.P., Martin B., Pomies D. et Cassard A. (2019).** Holstein ou Montbéliarde : des différences phénotypiques aux conséquences économiques à l'échelle de l'exploitation. *INRAE Productions Animales*, **31** :337-352.

**Bansal B.K., Hamann J., Grabowski N. et Singh K.B. (2005).** Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitis quarters, and its significance for mastitis diagnosis. *Journal of Dairy Research*, **72**: 144-152.

**Bardiau M., Detilleux J., Farnir F., Mainil J.G. et Ote I. (2014).** Associations between properties linked with persistence in a collection of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, **169**:74-9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.12.010>.

**Barkema H.W., Schukken Y.H., Lam T.J.G.M., Galligan D.T., Beibor M.L. et Brand A. (1997).** Estimation of interdependence among quarters of the bovine udder with subclinical mastitis and implications for analysis. *Journal of Dairy Science*, **80**:1592-1599.

**Barlow J. (2011).** “Mastitis Therapy and Antimicrobial Susceptibility: A Multispecies Review with a Focus on Antibiotic Treatment of Mastitis in Dairy Cattle”. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, **16**:383-407.

**Belhadia M., Yakhlef H., Bourbouze A. et Djermoun A. (2014).** Production et mise sur le marché du lait en Algérie, entre formel et informel : stratégies des éleveurs du périmètre irrigué du Haut-Cheliff. *New Mediterranean Journal*, **13**:41-50.

**Belkheir B., Ghozlane F., Benidir M., Benahmed N. et Bousbia A. (2016).** Dépistage de mammites subcliniques chez des vaches en zone montagnaise de Tizi-Ouzou. *Rencontres autour des Recherche sur les Ruminants*, **23**.

**Ben-Mahdi M.H. et Ouslimani S. (2009).** Mise en évidence de résidus d’antibiotiques dans le lait de vache produit dans l’Algérois. *Européen Journal of Scientific Research*, **36**:357-362.

**Berche P., Gaillard J. et Simonet M. (1988).** Collection de la Biologie à la Clinique. Bactériologie : Bactéries des Infections Humaines. Flammarion. Médecine-Sciences, Paris. 267-277.

**Berhanu L., Gume B., Kassa T., Dadi L.S., Tagegne D., Getnet M., Bediru H., Getaneh A., Suleman S. et Mereta S.T. (2021).** Microbial quality of raw cow milk and its predictors along the dairy value chain in Southwest Ethiopia. *International Journal of Food Microbiology*, **350**:109228

**Berridge N.J. (1945).** The purification and crystallization of rennin. *Biochem. Journal*, **39**: 179-187.

**Berthelot V. (2018).** Alimentation Des Animaux Et Qualité De Leurs Produits. Editions TEC & DOC. Agriculture d'Aujourd'hui, Lavoisier. Paris.

**Bertocchi L., Vitali A., Lacetera N., Nardone A., Varisco G. et Bernabucci U. (2014).** Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationship. *Animals*, **8** :667-74.

**Billa P.A. (2020).** Identification de biomarqueurs du statut nutritionnel dans le lait et étude nutriginomique de la glande mammaire de vache Holstein et Montbéliarde. Génétique, Physiologie, Pathologie, Nutrition, Microbiologie, Santé, Innovation. Thèse de Doctorat. Université Clermont Auvergne.

**Bittante G., Cipolat-Gotet C., Malchiodi F., Sturaro E., Tagliapietra F., Schiavon S. et Cecchinato A. (2015).** Effect of dairy farming system, herd, season, parity, and days in milk on modeling of the coagulation, curd firming, and syneresis of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, **98**:2759-74.

**Boisset S. et Vandenesch F. (2010).** Les Facteurs de Virulence Autres Que Les Entérotoxines. In : *Staphylococcus aureus*. Le Loir Y. Gautier M. Tec &Doc. Lavoisier. France. 244-268.

**Bokarewa M.I., Jin T. et Tarkowski A. (2006).** *Staphylococcus aureus* : Staphylokinase. *International Journal Biochemistry*. **38**:504-509.

**Bonfoh B., Roth C., Traore A.N., Fane A., Simbe C.F., Alfaroukh I.O., Nicolet J., Farah Z. et Zinsstag J. (2006).** Effect of washing and disinfecting containers on the microbiological quality of fresh milk sold on Bamako. *Food Control*, **17**:153-161.

**Bony J., Contamin V., Gousseff M., Metais J., Tillard E., Juanes X., Decruyenaere V. et Couln J.B. (2005).** Facteurs de variation de la composition du lait à la Réunion. *INRAE Productions Animales*, **18**:255-263.

**Bosi E., Monk J.M., Aziz R.K., Fondi M., Nizet V. et Palsson B. (2016).** Comparative genome-scale modelling of *Staphylococcus aureus* strains identifies strain-specific metabolic capabilities linked to pathogenicity. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **113**:3801-3809.

**Bouaziz O. (2005).** Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse de Doctorat, Université Mentouri de Constantine, Algérie. 213p.

**Boufaïda-Asnoue Z., Asnoue B., Butel M.J. et Ouzrout R. (2016).** Etiologie des mammites subcliniques en élevage bovins laitiers du Nord-Est de l'Algérie. *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants*, **23**.

**Boufaïda-Asnoue Z., Butel M.J. et Ouzrout R. (2012).** Prévalence des principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au Nord-Est de l'Algérie. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, **65** :5-9.

**Bouichou E.H. (2015).** Contribution à l'évaluation des Pratiques Frauduleuses dans le Lait à la Réception Gharb Chrarda bni Hsen. <https://www.researchgate.net/publication/329972559>.

**Bowater R.J., Stirling S.A. et Lilford R.J. (2009).** Is antibiotic prophylaxis in surgery a generally effective intervention? Testing generic hypothesis over a set of meta-analysis. *Annals of Surgery*, **249**:551-556.

**Brenes J.A., Goswami U. et Williams D.N. (2012).** The association of septic thrombophlebitis with septic pulmonary embolism in adults. *The Open Respiratory Medicine Journal*, **6**:14-9.

**Burovic J. (2020).** Isolation of bovine clinical mastitis bacterial pathogens and their antimicrobial susceptibility in the Zenica region in 2017. *Journal Veterinarska Stanica*, **5**:47–52.

## C

**CA-SFM. (2013).** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie : recommandations. Société Française de Microbiologie, Soussy CJ.

**CA-SFM. (2022).** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie : recommandations. Société Française de Microbiologie, Soussy CJ.

**Cauty I. et Perreau J.M. (2009).** Conduite Du Troupeau Bovin Laitier. Production, Qualité, Rentabilité. 2<sup>ème</sup> Ed., Editions France Agricole. Paris. 334p.

**Chartier C. (2009).** Pathologie Caprine : Du Diagnostic à la Prévention. Editeurs du Point Vétérinaire, Sine Qua Non. **325**:207-220.

**Charton C. (2017).** Caractérisation de l'adaptation de la glande mammaire des vaches laitières à l'allongement de l'intervalle entre traites. Biologie animale. Thèse de Doctorat. Agrocampus Ouest. Université Bretagne. Loire.

**Cheng A.G., McAdow M., Kim H.K., Bae T., Missiakas D.M. et Schneewind O. (2010).** Contribution of coagulase towards *Staphylococcus aureus* disease and protective immunity. *PLoS Pathogens*. **6** : e1001036.

**Chye F., Abdullah A. et Ayob M. (2004).** Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiology*, **21**:535-541.

**CLSI. (2020).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.

**Collin J.C., Grappin R. et Legreat Y. (1977).** Etude de la méthode de mesure, selon BERRIDGE, du temps de coagulation du lait additionné d'une solution enzymatique. *Revue Laitière Française*, **355**:389-394.

**Collomb A. (2011).** Caractérisation de la différence de sensibilité à l'infection par *Staphylococcus aureus* de deux lignées de souris. Thèse de Doctorat. Université Paul-Bâtier de Toulouse. France.

**Contreras A., Sierra D., Sanchez A., Corrales J.C., Marco J.C., Paape M.J. et Gonzalo C. (2007).** Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research*, **68**:145-53.

**Coulon J.B., Gasquib P., Barnouin J., Ollier A., Pradel P. et Pomies D. (2002).** Effect of mastitis and related germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. *Animal Research*. **51**:383-93.

## D

**Dagleish G.G. (2007).** Milk proteins : from classic concepts to new applications. In : « Science et Technologie du Lait ». 3eme edition. Les Presses de l'université Laval.

**Danielsen E.M., Hansen G.H. et Karlsdottir E. (2013).** *Staphylococcus aureus* enterotoxins A and B: Binding to the enterocyte brush border and uptake by perturbation of the apical endocytic membrane traffic. *Histochemistry and Cell Biology*. **139**:513-524.

**De Bordeaux E. (2000).** Productions animales herbivores. Edition Synthèse Agricole, 59-70.

**De Buyser M. et Sutrat L. (2005).** *Staphylococcus aureus*. In : Bactériologie Alimentaire : Compendium d'hygiène des Aliments. Federighi, M. Ed. Economica. 26-51.

**Debeche E.H., Ghozlane F. et Madani T. (2018).** Importance of some antibiotic residues in cow's milk in Algeria. Case of the M'sila Wilaya. *Livestock Research for Rural Development*, **30**,101.

**Demmad A. (2021).** 03 Développements de la filière lait : Contraintes et perspectives. EL MOUDJAHID, économie n°17293.

**Dibner J.J. et Richards J.D. (2005).** Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science*, **84**:634-643.

**Dinsmore R.P., English P.B., Gonzales R.N. et Sears P.M. (1992).** Use of augmented cultural techniques in the diagnosis of the bacterial cause of clinical bovine mastitis. *Journal of Dairy Science*, **75**:2706-2712.

**Divyakolu S., Chikkala R., Ratnakar K.S. et Spitharan V. (2019).** Hemolysins of *Staphylococcus aureus*: An Update on Their Biology, Role in Pathogenesis and as Targets for Anti-Virulence Therapy. *Advances in Infectious Diseases*, **9**:80-104.

**DSA (2022).** Direction locale des Services Agricoles de Tizi-Ouzou. 13 Mars 2022. <https://www.aps.dz/regions/137001-tizi-ouzou-fabrication-de-fromage-une-filiere-en-plein-essor#:~:text=Pas%20moins%20de%2036%20unit%C3%A9s,au%20niveau%20de%20la%20DSA>.

**Duflot B., Cassagnou M., Goscianski C., Osseni A., You G. et Rouyer B. (2022).** Economie de l'élevage- Dossier marchés mondiaux des produits laitiers : Année 2022-perspectives 2023, N°540.

## **E**

**El Marnissi B., Belkhou R., El Ouali Lalami A. et Bennani L. (2013).** Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben). *Les Technologies de Laboratoire*, **8** (33).

**Elgammal A.M., Hetta H.F., Elkelish A., Alkhalifah D.H.H., Hozzein W.N., Batiha G.E., El Nahhas N. et Mabrok M.A. (2020).** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): One health perspective approach to the bacterium epidemiology, virulence factors, antibiotic-resistance, and zoonotic impact. *Infection and Drug Resistance* **13**:3255-3265.

**Elgharib S.A., Dawood A. et Xie S. (2020).** Nanoparticles for treatment of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis, *Drug Delivery*, **27**:292-308.

## **F**

**Farougou S., Kpodékon T.M., Sessou P., Youssao I., Boko C., Yèhouenou B. et Sohounhloué D. (2011).** Qualité microbiologique du lait cru de vache élevée en milieu extensif au Bénin. Actes du 3ème Colloque des Sciences, Cultures et Technologies de l'UAC-Bénin ,1-14.

**Farrell H.M., Brown E.M. et Kumosinski T.F. (1993).** Three dimensional molecular modelling of bovine caseins. *Food Structure*, **12**:235-250.

**Fartas H., Bouzebda Z., AFRI F. et Khamassi S. (2017).** Prévalence et impact des mammites subcliniques sur la rentabilité de bovins laitiers dans l'extrême Est Algérien. *Livestock Research for Rural Development*, **29**:9.

**Fauchere J.L et Avril J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris. 213-217.

**Faye A. et Loiseau G. (2000).** Sources de contamination dans les filières laitières et exemple de démarche qualité. Acte de l'atelier international CIRAD-FAO, Montpellier, France.

**Fayolle L. (2015).** Le lactose, un indicateur de déficit énergétique chez la vache laitière ?. Thèse de Doctorat : Sciences Vétérinaires. Campus Vétérinaire de Lyon, 141p.

**Fisher E.L., Otto M. et Cheung G.Y.C. (2018).** Basis of virulence in enterotoxin-mediated staphylococcal food poisoning. *Frontiers in Microbiology*, **9** (436). <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00436>.

**Forsbäck L., Lindmark-Mansson H., Andrén A. et Svennersten-Sjaunja K., (2010).** Evaluation of quality changes in udder quarter milk from cows with low-to-moderate somatic cell counts. *Animal*, **4**: 617-626. <https://doi.org/10.1017/S1751731109991467>.

**Fry P.R., Middleton J.R., Dufour S., Perry J., Scholl D. et Dohoo I. (2014).** Association of coagulase-negative staphylococcal species, mammary quarter milk somatic cell count, and persistence of intramammary infection in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, **97**:4876–85.

**Fulasa T.T. et Deressa F.B. (2021).** Bovine Mastitis in Ethiopia, Intechopen Publisher, London, UK.

## **G**

**Gadilaghine V. (2005).** La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action G.T.V. Partenaire dans le Département de la Manche. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, Alfort, France, 106p.

**Galal Abdel Hameed K., Sender G. et Korwin-Kossakowska A. (2006).** Public health hazard due to mastitis in dairy cows. *Animal Science Paper and Reports*, **25**:73- 85.

**Gelasakis A.I., Mavrogianni V.S., Petridis I.G., Vasileiou N.G.C. et Fthenakis G.C. (2015).** “Mastitis in sheep- The last 10 years and the future of research” *Vet.Microbiol*, **181**:136-46.

**Gelé M., Minery J.M., Astruc P., Brunshwig M., Ferrand-Calmels G., Lagriffoul H., Larroque J., Legarto O., Leray P., Martin G., Miranda I., Palhière P. et Trossat M.B. (2014).** Phénotypage et génotypage à grande échelle de la composition fine des laits dans les filières bovine, ovine et caprine. *INRA Prod. Anim.*, **27**:255-268.

**George L.W., Divers T.J., Ducharm N. et Welcom F.L (2008).** Diseases of the teats and udder. In: “Divers T.J., Peek S.F. (EDTS)”, *Diseases of Dairy cattle*. Elsevier : Missouri, 327-394.

**Ghazi K. et Niar A. (2011).** Qualité hygiénique du lait cru des vaches dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret. *Tropicultura*, **29**:193-196.

**Girma A. et Tamir D. (2022).** Prevalence of bovine mastitis and its associated risk factors among dairy cows in Ethiopia during 2005-2022: A systematic review and meta-analysis. *Veterinary Medicine International*, 19. Doi:10.1155/2022/7775197.

**Gnanamani A., Hariharan P. et Paul-Satyaseela M. (2017).** *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach . *Frontiers in Staphylococcus aureus*. <http://dx.doi.org/10.5772/67338>

**Gomes F., Saavedra M.J. et Henriques M. (2016).** Bovine mastitis disease/pathogenicity: Evidence of the potential role of microbial biofilms, *Pathogenes and Disease*, **74** (3). ftw006. PMID: 26772653.

**Gordon L., Cloeckert A., Doublet B., Schwarz S., Agnès Bouju-Albert A., Ganière J. P., Le Bris H., Le Fleche-Mateos A. et Giraud E. (2008).** Complete sequence of the *floR*-carrying multiresistance plasmid pAB5S9 from freshwater *Aeromonas bestiarum*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **62**:65–71.

**Gran H.M., Mutukumura A.N., Wetlesen A., Narvhus J.A. (2002).** Smallholder dairy processing in Zambabwe: hygienic practices during milking and the microbiological quality of the milk at the farm and on delivery. *Food Control*, **13**:41-47.

**Guardabassi L., Williamson R. et Kruse H. (2008).** Guide to antimicrobial use in animals. Blackwell, Oxford.

**Guinard-Flament J., Decoopman N. et Resmond R. (2019).** Taux de Lactose du Lait et Lactosémie chez la Vache Laitière. Défis scientifiques Phase, Rennes, France.

**Guinee T.P. (2003).** Role of protein in cheese products. *In*: “Advanced Dairy Chemistry, Proteins: Basic Aspects”. 3rd ed. P. F. Fox and P. L. H McSweeney, ed. Springer link, **1**:1083-1159.

**Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004).** Pratiques des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR 2004. ISBN 2-12-445211-8.

**Gwandu S.H., Nonga H.E., Mdegela R.H., Katakweba A.S., Suleiman T.S. et Ryoba R. (2018).** Assessment of raw cow milk quality in smallholder dairy farms in Pemba Island Zanzibar, Tanzania. *Veterinary Medicine International*, **1**(10).

## **H**

**Haag A.F., Fitzgerald J.R. et Penadés J.R. (2019).** *Staphylococcus aureus* in Animals. *Microbiol Spectr.* **7**(3). doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0060-2019.

**Hamlaoui M.W., Hadeif A., Meklati F.R. et Bitat I. (2021).** Dry cow antimicrobials use to control mastitis in Northern Algeria. *Spermova* **11**:144-158.

**Hansen C. (2015).** Physio-anatomie et propédeutique de la glande mammaire. Symptomatologie, étiologie et thérapeutiques. Approches individuelles et de troupeau des mammites. Liège, Belgique. [http:// orbi.ulg.ac.be](http://orbi.ulg.ac.be).

**Hart M.E., Tsang L.H., Deck J., Daily S.T., Jones R.C., Liu H., Hart M.J. et Smeltzer M.S. (2013).** Hyaluronidase expression and biofilm involvement in *Staphylococcus aureus* UAMS-1 and its *sarA*, *agr* and *sarA agr* regulatory mutants. *Microbiology*. **159**:782-791.

**Hu Y., Xie Y., Tang J. et Shi X. (2012).** Comparative expression analysis of two thermostable nuclease genes in *Staphylococcus aureus*. *Foodborne Pathogens Disease*, **9**:265-71.

**Husvéth F. (2011).** Reproductional aspects of animal production 118.

## **I**

**Issa Ibrahim A., Bada-Alambédji R., Duprez J.N., Moula N., Bardiau M. et Mainil J.G. (2015).** Efficacy of antiseptics measures during manual milking on the prevalence of bacterial mastitis at the Sahelian experimental station of Toukounous (Niger). *African Journal of Microbiology Research*, **9**:348-354.

## **J**

**Jamali H., Paydar M., Radmehr B., Ismail S. et Dadrasnia A. (2015).** Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control*, **54**:383-388.

**Jeantet R., Croguennec T., Garric G. et Brule G. (2017).** Initiation à La Technologie Fromagère. 2<sup>ème</sup> Ed., Editions TEC & DOC, Lavoisier, Paris. 209p.

**JORA (1993).** Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 Août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. *Journal Officiel de la République Algérienne*, **69**:16-20.

**JORA (2014).** Décret exécutif n° 14-366 du 22 Safar 1436 correspondant au 15 Décembre 2014 fixant les conditions et les modalités applicables en matière de contaminants tolérés dans les denrées alimentaires. *Journal Officiel de la République Algérienne*, **74**:13-14.

**JORA (2016).** Arrêté interministériel du 15 Ramadhan 1437 correspondant au 20 Juin 2016 fixant les listes ainsi que les limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires ou de substances pharmacologiquement actives tolérées dans les denrées alimentaires d'origine animale. *Journal Officiel de la République Algérienne*, **68**:14-15.

**JORA (2019).** Arrêté interministériel du 25 Safar 1441 correspondant au 24 Octobre 2019 fixant la méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes par comptage des colonies à 30°C par la technique d'ensemencement en surface. *Journal Officiel de la République Algérienne*, **65**:21-26.

**JORA. (1998).** Arrêté interministériel N°35 du 27 Mai 1998. *Journal Officiel de la République Algérienne* N°35.

**Joshi L.R., Tiwari A., Devkota S.P., Khatiwada S., Paudyal S. et Pande K.R. (2014).** Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Dairy Farms of Pokhara, Nepal. *International Journal of Veterinary Science*, **3**:87-90.

## **K**

**Ka ikçi G., Çetin Ö., Bingöl E.B. et Gündüz M.C. (2012).** Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in quality parameters in the diagnosis of subclinical in dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, **36**:49-55.

**Kadariya J., Smith T.C. et Thapaliya D. (2014).** *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An ongoing Challenge in Public Health. *Biomed. Res. Int.* 827965.

**Kalińska A., Wójcik A., Slószarz J., Kruzińska B., Michalczyk M., Jaworski S., Wierzbicki M. et Golebiewski M. (2018).** Occurrence and aetiology of staphylococcal mastitis: a review. *Animal Science Papers and Reports*, **36**:263-273.

**Kandeel S.A., Megahed A.A., Ebeid M.H. et Constable P.D. (2019).** Ability of milk pH to predict subclinical mastitis and intramammary infection in quarters from lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, **102**:1417–1427.

**Kaouche-Adjlane S. (2019).** Factors of qualitative and quantitative variations in dairy production. Bibliographic review. *Revue Agriculture*. **10**:43-54.

**Kaouche-Adjlane S., Benhacine R., Ghozlane F. et Mati A. (2014).** Nutritional and Hygienic Quality of Raw Milk in the Mid-Northern Region of Algeria: Correlations and Risk Factors. *The Scientific World Journal*. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/131593>.

**Kibebew K. (2017).** Bovine mastitis: a review of causes and epidemiological point of view, *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, **7**:1-14.

**Klaas I.C. et Zadoks R.N. (2018).** An update on environmental mastitis: challenging perceptions. *Transboundary and Emerging Diseases*, **65**:166–185.

**Knight-Jones T.J., Hang’Ombe M.B., Songe M.M., Sinkala Y. et Grace D. (2016).** Microbial contamination and hygiene of fresh cow’s milk produced by smallholders in Western Zambia. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **13**:1-13.

**Kong C., Neoh H. et Nathan S. (2016).** Targeting *Staphylococcus aureus* Toxins: A Potential form of Anti-Virulence Therapy. *Toxins*. **8** (72).

## **L**

**Labioui H., Elmoualdi L., Benzakour A., El Yachioui M., Berny E. H. et Ouhssine M. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. Bulletin de la Société de Bordeaux, **148**:7-16.

**Laemmli U.K. et Favre H. (1973).** Maturation of the head of bacteriophage T4 I DNA packaging events. *Journal of Molecular Biology*, **80**:575-599.

**Larbaletrier A. (2015).** Traité Pratique De La Laiterie. Lait, crème, beurre, fromages, Edition MAXTOR. Paris. 266p.

**Larpent J.P. (2000).** Introduction à La Nouvelle Classification Bactérienne et Les Principaux Groupes Bactériens. Tec &Doc. Lavoisier. Paris, New york, London.

**Larsen M., Lapierre H. et Kristensen N.B. (2014).** Abomasal protein infusion in post-partum transition dairy cows: Effect on performance and mammary metabolism. *Journal of Dairy Science*, **97**:1-15.

**Le Breton M.H., Savoy-Perroud M.C. et Diserens J.M. (2007).** Validation and comparison of the Copan Milk Test and Delvotest SP-NT for the detection of antimicrobials in milk. *Analytica Chimica Acta*, **586**:280-283.

**Le Loir V., Baron F. et Gautier M. (2003).** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*, **2**:63-76.

**Le Loir Y. et Gautier M. (2010).** *Staphylococcus aureus*. Monographie de Microbiologie. Edition Tec & Doc. Lavoisier, Paris. 283p.

**Le Maréchal C., Thiéry R., Vautor E. et Le Loir Y. (2011).** Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products-A review. *Dairy Science and Technology*, **91**:247-282.

**Le Mens P. (1985).** Le Lait de Chèvre : Propriétés Physico-chimiques, Nutritionnelles et Chimiques. In : «Lait et Produits Laitiers : Vache, Chèvre, Brebis. De la mamelle à la laiterie ». Tom 2. Paris : TEC & Doc, Lavoisier, 354-367p.

**Le Roux Y., Laurent F. et Moussaoui F., (2003).** Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Veterinary Research*, **34**:629-45. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003021>.

**Lefebvre D. (2021).** Détection et caractérisation des entérotoxines staphylococciques dans les aliments par couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse. Thèse De Doctorat. Université Paris-Saclay.

**Legarto J., Gele M., Ferlay A., Hurtaud C., Lagriffoul G., Palhière I., Peyraud J.L., Rouillé B. et Brunshwig P. (2014).** Effets des conduits d'élevage sur la production du lait,

les taux butyreux et protéique et la composition en acides gras du lait de vache, chèvre et brebis évaluée par spectrométrie dans le moyen infrarouge. *INRAE Productions Animales*, **27**:269-82.

**Leonil J., Le Loir Y. et Lortal S. (2022).** Le Lait : Un Concentré De Bienfaits. 50 Clés Pour Comprendre Les Produits Laitiers. Editions Quae, Versailles Cedex, France.

**Li T., Lu H., Wang X., Gao Q., Dai Y., Shang J. et Li M. (2017).** Molecular characteristic of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis between 2014 and 2015. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **17**:127.

**Li Z., Peres A.G., Damian A.C. et Madrenas J. (2015).** Immunomodulation and disease tolerance to *Staphylococcus aureus*. *Pathogens*, **4**:793-815.

**Lindsay J.A. et Holden M.T.G. (2004).** *Staphylococcus aureus*: Superbug, super genome? *Trends in Microbiology*. **12**:378-385.

**Liu G.Y. et Nizet V. (2009).** Color me bad: microbial pigments as virulence factors. *Trends in Microbiology*, **17**:406-413.

**Lucy M.C., Verkerk G.A., Whyte B.E., Macdonald K.A., Burton L., Cursons R.T., Roche J.R. et Holmes C.W. (2009).** Somatotropic axis components and nutrient partitioning in genetically diverse dairy cows managed under different feed allowances in a pasture system. *Journal of Dairy Science*, **92**:526-539.

## M

**Malchiodi F., Cecchinato A., Penasa M., Cipolat-Gotet C. et Bittante G. (2014).** Milk quality, coagulation properties, and curd firmness modeling of purebred Holsteins and first and second generation crossbred cows from Swedish Red, Montbéliarde, and Brown Swiss bulls. *Journal of Dairy Science*, **97**:4530-4541.

**Mansouri-Najand L. et Rezai Z. (2015).** Risk factors affecting chemical and bacteriological quality of bulk tank milk in Kerman, Iran. *Veterinary Research Forum*, **6**:79-82.

**Matallah S., Matallah F., Djedidi I., Mostefaoui K.N. et Boukhris R. (2017).** Physico-chemical and microbiological qualities of milk from cows raised extensively in North-East Algeria. *Livestock Research for Rural development*, **29**,211.

**Meklati F.R., Meribai A., Titouche Y., Lyazidi T., Yezli-Meklati N., Abou-Mustapha M. et Ben-Mahdi M.H. (2023).** Physicochemical characteristics and antibiotic residue detection in raw cow's milk delivered to three milk processing industries in Algeria. *Veterinarska Stanica*, **54** (2). Doi: 10.46419/vs.54.2.2.

**Meklati F.R., Meribai A., Yezli N. et Ben-Mahdi M.H. (2020).** State of play of the dairy sector in Algeria: Between objectives and dependencies: An overview. *CABI Reviews*, **15**:1-8. Doi: 10.1079/PAVSNNR202015027.

**Meklati F.R., Panara A., Hadeif A., Meribai A., Ben-Mahdi M.H., Dasenaki M.E. et Thomaidis N.S. (2022).** Comparative assessment of antibiotic residues using Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) and a rapid screening test in raw milk collected from the North-Central Algerian dairies. *Toxics*, **10**:19. Doi: 10.3390/toxics10010019.

**Mensah S.E.P., Aboh A.B., Salifou S., Mensah G.A., Sanders P., Abiola F.A. et Koudandé O.D. (2014).** Risques dus aux résidus d'antibiotiques détectés dans le lait de vache produit dans le Centre Bénin. *Journal of Applied Bioscience*, **80**:7102-7112.

**Mhone T.A., Matope G. et Saidi P.T. (2011).** Aerobic bacterial, coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology*, **151**:223-228

**Millogo V., Svennersten Sjaunja K., Ouédraogo G.A. et Agenäs S. (2010).** Raw milk hygiene at farms, processing units and local markets in Burkina Faso. *Food Control.*, **21**: 1070–1074.

**Mimoune N., Seddiki S., Baazizi R., Saboundji I.E., Saidi R., Khelef D. et Kidi R. (2021).** Antibiotic residues in cow's milk. *Veterinarska stanica*, **52**:499-509.

**Mir Y. et Sadki I. (2018).** Evaluation de la conductivité électrique du lait comme moyen de détection précoce des mammites bovines dans différentes fermes au sud du Maroc. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.*, **6**:308-313.

**Mohamed Cherif A. (2005).** Suivi sanitaire et zootechnique au niveau d'élevage de vaches laitières. Mémoire de Magistère Université Mentouri Constantine, 150p.

**Monistero V., Graber H.U., Pollera C., Cremonesi P., Castiglioni B., Botti E., Caballos-Marquez A., Lasso-Rojas L., Kroemker V., Wente N., Petzer I.M., Santisteban C., Runyan J., Dos Santos M.V., Alves B.G., Piccinini R., Bronzo V., Abbassi M.S., BenSaid M. et Moroni P. (2018).** *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in eight countries: genotypes, detection of genes encoding different toxins and other virulence genes. *Toxins*, **10**(6):247.

**Monsallier F., Verdier-Metz I., Agabriel C., Martin B. et Montel M.C. (2012).** Variability of microbial teat skin flora in relation to farming practices and individual dairy cow characteristics. *Dairy Science and Technology*, **92**:265-78.

**Mørk T., Kvitle B. et Jørgensen H.J. (2012).** Reservoirs of *Staphylococcus aureus* in meat sheep and dairy cattle. *Veterinary Microbiology*, **155**:81-87.

**Múnera-Bedoya O.D., Cassoli L.D., Machado P.F. et Cerón-Muñoz M.F. (2017).** Influence of attitudes and behavior of milkers on the hygienic and sanitary quality of milk. *PLoS One*, **12** (9):1–13.

## **N**

**Nandy P., Roy S., Thakur A.R. et Chaudhuri S.R. (2013).** Comparative study on characterization of three staphylococcal isolates from varied origin. Available : <http://tspace.library.utoronto.ca/handle/1807/36824>.

**Nguyen M.T., Luqman A., Bitschar K., Hertlein T., Dick J., Ohlsen K., Bröker B., Schittek B. and Götz F. (2018).** Staphylococcal (phosphor) lipases promote biofilm formation and host cell invasion. *Int. J., Med. Microbiol.* **308**:653-663.

**Nickell J.S. et White B.J. (2010).** Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America*, **26**:285-301.

**Nickerson S.C. et Pankey J.W. (1984).** Neutrophil migration through test end tissues of bovine mammary quarters experimentally challenged with *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science*, **67**:826-34.

**Niu M., Ying Y., Bartell P. et Harvatine K. (2017).** The effects of feeding rations that differ in fiber and fermentable starch within a day on milk production and the daily rhythm of feed intake and plasma hormones and metabolites in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **100**: 187-198.

**NMC, 1990.** Microbiological Procedures for the Diagnosis of Udder Infection-3rd Edition.

## **O**

**Ogola H., Shitandi A. et Nanua J. (2007).** Effect of mastitis on raw milk compositional quality. *Journal of Veterinary Science*, **8**:237-42.

**Oliveira D., Borges A. et Simões M. (2018).** *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*. **10**:252.

**Oliver S.P., Murinda S.E. et Jayarao B.M. (2011).** Impact of Antibiotic Use in Adult Dairy Cows on Antimicrobial Resistance of Veterinary and Human Pathogens: A Comprehensive Review. *Foodborne pathogens and disease*, **8**:337-355.

**Omaleki L., Browning G.F., Allen J.L. et Barber S.R (2011).** The role of *Mannheimia* species in ovine mastitis. *Vet. Microbiol*, 153:67-72.

**Otto M. (2014).** *Staphylococcus aureus* toxins. *Current Opinion in Microbiology*, **17**:32-37.

**Ouakli N., Baazize-Ammi D., Djellata N., Yahimi A. et Kaidi R. (2022).** Staphylococcal subclinical mastitis in dairy cows in Blida region (Algeria). *Journal of Veterinary Medical Research*. **29**:52-57.

## **P**

**Pegolo S., Tessari R., Bisutti V., Vanzin A., Giannuzzi D., Giancesella M., Lisuzzo A., Fiore E., Barberio A., Schiavon E., Trevisi E., Piccioli Cappelli F., Gallo L., Ruegg P., Negrini R. et Cecchinato A. (2021).** Quarter-level analyses of the associations among subclinical intramammary infection and milk quality, udder health, and cheese making traits in Holstein cows. *J Dairy Sci*, **105**: 3490-3507.

**Perna A., Simonetti A., Intaglietta I. et Gambacorta E. (2014).** Effects of genetic type, stage of lactation, and ripening time on Caciocavallo cheese proteolysis. *Journal of Dairy Science*, **97**:1909-17.

**Perreau J.M. (2014).** Conduire Son Troupeau De Vaches Laitières. Editions France Agricole. Paris.

**Persoons D. (2011).** Antimicrobial use and resistance in Belgian broiler production. PhD Thesis, Ghent University, Belgium.

**Peton V. et Le Loir Y. (2014).** *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infect. Genet. Evol.*, **21**:602–615.

**Piessens V., De Vliegher S., Verbist B., Braem G., Van Nuffel A., De Vuyst L., Heyndrickx M. et Van Coillie E. (2012).** Intra-species diversity and epidemiology varies among coagulase negative *Staphylococcus* species causing bovine intramammary infections. *Veterinary Microbiology*, **155** (1):62–71.

**Piessens V., Van Coillie E., Verbist B., Supré K., Braem G., Van Nuffel A., De Vuyst L., Heyndrickx M. et De Vliegher S. (2011).** Distribution of coagulase-negative *Staphylococcus* species from milk and environment of dairy cows differs between herds. *Journal of Dairy Science*, **94**:2933–44.

**Pietrocola G., Nobile G., Rindi S. et Speziale P. (2017).** *Staphylococcus aureus* Manipulates Innate Immunity through Own and Host-Expressed Proteases. *Front. Cell. Infect. Microbio.*, **7**:166.

**Pougheon S. (2001).** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse de Doctorat. Université Paul-Sabatier. Toulouse.

**Pradal M. (2012).** La Transformation Fromagère Caprine Fermière : Bien Fabriquer Pour Mieux Valoriser Ses Fromages De Chèvre. Editions Tec &Doc. Lavoisier. Paris.

**Pyörälä S. (2003).** Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research*, **34**:564-578. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003026>.

**Pyörälä S. et Taponem S. (2009).** Coagulase-negative staphylococci- Emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*, **134**:3-8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.011>.

## Q

**Quartier V. (2016).** Sodiaal recherche 150 millions de litres de lait bio. *Réussir lait*, N° 299, 18

**Quin P.J., Carter M.E., Markey B. et Carter G.R. (1994).** Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe Publishing, London, UK. 95-101.

**Quirk T., Fox L.K., Hancock D.D., Capper J., Wenz J. et Park J. (2012).** Intramammary infections and teat canal colonization with coagulase-negative staphylococci after postmilking teat disinfection: species-specific responses. *Journal of Dairy Science*, **95**:1906–12. doi:10.3168/jds.2011-4898.

## R

**Remy D. (2010).** Les Mammites. Hygiène, Prévention, Environnement. Guides France Agricole. 260p.

**Ren Q., Liao G., Wu Z., Lv J. et Chen W. (2020).** Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from subclinical bovine mastitis in Southern Xinjiang, China. *Journal of Dairy Science*, **103**(4).

**Rezamand P., Hoagland T.A., Moyes K.M., Silbart L.K. et Andrew S.M. (2007).** Energy status, lipid-soluble vitamins, and acute phase proteins in periparturient Holstein and Jersey dairy cows with or without subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, **90**:5097-5107.

**Royster E. et Magner S. (2015).** Treatment of mastitis in Cattle. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* **31**(1):17-46.

## S

**Saidi R., Cantekin Z., Khelef D., Ergun Y., Solmaz H. et Kaidi R. (2015).** Antibiotic susceptibility and Molecular Identification of Antibiotic resistance genes of staphylococci isolated from bovine mastitis in Algeria. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **21**:513-520.

**Saidi R., Khelef D.J. et Kaidi R. (2013).** Subclinical mastitis in cattle in Algeria: frequency of occurrence and bacteriological isolates. *J. South. Afri. Vet. Associa.*, **84**: 929, 5 pages.

**Sakr A., Bregeon F., Mege J.L., Rolain J.M. et Blin O. (2018).** *Staphylococcus aureus* nasal colonization: An update on mechanisms, epidemiology, risk factors, and subsequent infections. *Frontiers in Microbiology*, **9** :1-15. Doi:10.3389/fmicb.2018.02419.

**Sanchez M.P., Govignon-Glon A., Croiseau P., Fritz S., Hoze C., Miranda G., Martin P., Barbatleerrier A., Letaief R., Rocha D., brochard M., Boussaha M. et Boichard D. (2017).** Within-breed and multi-breed GWAS on imputed whole-genome sequence variants reveal candidate mutations affecting milk protein composition in dairy cattle. *Genetics Selection Evolution*, **49**:68. Doi:10.1186/s12711-017-0344-z.

**Schepers A.J., Lam T.J., Schukken Y.H., Wilmink J.B. et Hanekamp W.J. (1997).** Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of Dairy Science*, **80**:1833-1840.

**Schmidt K.A., Stupar J., Shirley J.E., Adapa S. et Sukup D. (1996).** Factors affecting titratable acidity in raw milk. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*: vol.0: Iss2. 10.4148/2378-5977.3265 10.4148/2378-5977.3265

**Schwendel B.H., Wester T.J., Morel P.C.H., Tavendale M.H., Deadman C., Shadbolt N.M. et Otter D.E (2014).** Organic and conventionally produced milk-An evaluation of factors influencing milk composition. *Journal of Dairy Science*, **98**:721-746.

**Seegers H., Fourichon C. et Beaudeau F. (2003).** Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*. **34**(5):475–491.

**Serieys F. (2015).** Le Tarrissement Des Vaches Laitières. Une période clé pour la santé, la production et la rentabilité du troupeau. 2<sup>ème</sup> Ed., Editions France Agricole. Paris.

**Sharif A. et Muhammad G. (2009).** Mastitis control in dairy animals. *Pakistan Veterinary Journal*, **29**:145-148.

**Signorini M.L., Rossler E., Díaz David D.C., Olivero C.R., Romero-Scharpen, A., Soto L. P., Astesana D.M., Berisvil A.P., Zimmermann J.A., Fusari M.L., Frizzo L.S. et Zbrun M.V. (2018).** Antimicrobial resistance of thermotolerant *Campylobacter* species isolated from humans, food-producing animals, and products of animal origin: a worldwide meta-analysis. *Microbial Drug Resistance*, **24**:1174-1190.

**Singh V. et Phukan U.J. (2019).** Interaction of host and *Staphylococcus aureus* protease-system regulates virulence and pathogenicity. *Med. Microbiol. Immunol.* **208**:585-607.

**Sollid J.U.E., Furberg A.S., Hanssen A.M. et Johannessen M. (2014).** *Staphylococcus aureus* : Determinants of human carriage. *Infect. Genet. Evol.* **21**:531-541.

**Souza FN., Piepers S., Della Libera A.M.M.P., Heinemann M.B., Cerqueira M.M.O.P. et De Vliegher S. (2016).** Interaction between bovine-associated coagulase negative staphylococci species and strains and bovine mammary epithelial cells reflects differences in ecology and epidemiological behavior. *Journal of Dairy Science*, **99**:2867–74. doi:10.3168/jds.2015-10230.

**Srairi M.T., Benhouda H., Kuper M. et Le Gal P.Y. (2009).** Effect of cattle management practices on raw milk quality on farms operating in a two-stage dairy chain. *Trop. Anim. Health. Prod.*, **41**:259-272.

**Stocco G., Cipolat-Gotet C., Cecchinato A., Calamari L. et Bittante G. (2015).** Milk skimming, heating, acidification, lysozyme, and rennet affect the pattern, repeatability, and predictability of milk coagulation properties and of curd-firming model parameters: A case study of Grana Padano. *Journal of Dairy Science*, **98**:5052-5067.

**Supré K., Haesebrouck F., Zadoks RN., Vanechoutte M., Piepers S. et De Vliegher S. (2011).** Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. *Journal of Dairy Science*, **94**:2329–40.

**Swai E.S. et Schoonman L. (2011).** Microbial quality and associated health risks of raw milk marketed in the Tanga region of Tanzania. *Asian Pacific. Journal of Tropical Biomedicine*, **1**: 217-222.

## **T**

**Tadesse T. et Bacha K. (2014).** Microbiological quality and safety of raw milk collected from Kersa District, Jimma Zone, Southwest Ethiopia. *J. Biol. Chem. Res.*, **31**:546–561.

**Tam K. et Torres V.J. (2019).** *Staphylococcus aureus* secreted toxins and extracellular enzymes. *Microbiology Spectrum*. **7**: GPP3 – 0039-2018.

**Tarzaali D., Dechicha A., Gharbi S., Bouaissa M.K., Yamnaine N. et Guetarni D. (2008).** Recherche des résidus des tétracyclines et des bêta-lactamines dans le lait cru par le MRL Test (ROSA TEST) à Blida, Algérie. In : « 6èmes Journées Scientifiques Vétérinaires sur le médicament vétérinaire : Nouvelles Approches Thérapeutiques et Impact sur la Santé Publique ». E.N.V. Algérie. 23-24.

**Tatini S.R. (1973).** Influence of food environments on growth of *Staphylococcus aureus* and production of various enterotoxins<sup>1</sup>. *Journal of Milk and Food Technology*. **36**:559-563.

**Taylor V. (2006).** Indices de mammites : facteurs combines justifiant une intervention. L'avance de programme d'assurance de qualité du lait/ MAAARO [ag.info.omafra@ontario.ca](mailto:ag.info.omafra@ontario.ca)

**Thomer, L., Schneewind, O. et Missiakas, D. (2016).** Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. *Annual Review Pathology*, **23**:343-64.

**Titouche Y. (2017).** Risques de contamination microbienne du lait cru produit dans la wilaya de Tizi-Ouzou : caractérisation phénotypique et génotypique de *Staphylococcus aureus*. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

**Titouche Y., Akkou M., Houali K., Auvray F. et Hennekinne J.A. (2022).** Role of milk and milk products in the spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the dairy production chain. *Journal of Food Science*, **87**:3699-3723.

**Titouche Y., Hakem A., Houali K., Yebir B., Malki O., Chergui A., Chenouf N., Yahiaoui S., Labiad M., Chenim S., Kechih-Boumar S., Chirila F., Nadas G. et Fit N.I. (2013).** Detection of antibiotics residues in raw milk produced in Freha Area (Tizi-Ouzou), Algeria. Bulletin UASVM, *Veterinary Medicine*, **70** (1).

**Tiwari R., Chakraborty S., Dhama K., Rajagunalan S. et Singh S.V. (2013).** Antibiotic resistance - an emerging health problem: causes, worries, challenges and solutions – a review. *International Journal of Current Research*, **5**:1880–1892.

**Traversari J., Van Den B.H.P., Dolder C., Thomann A., Perreten V. et Bodmer M. (2019).** *Non-aureus Staphylococci* species in the teat canal and milk in four commercial Swiss dairy herds. *Frontiers in Veterinary Science*. **6**:186. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00186>.

**Trevisi E., Zecconi A., Cogrossi S., Razzuoli E., Grossi P. et Amadori M. (2014).** Strategies for reduced antibiotic usage in dairy cattle farms. *Research in Veterinary Science*, **96**(2):229-33.

## V

**Valero A., Pérez-Rodríguez F., Carrasco E., Fuentes-Alventosa J.M., García-Gimeno R.M. et Zurera G. (2009).** Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *International Journal of Food Microbiology*, **133**:186-194.

**Van Belkum A., Verkaik N.J., de Vogel C.P., Boelens H.A., Verveer J., Nouwen J.L., Verbrugh H.A. et Wertheim H.F. (2009).** Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. *J Infect Dis*, **199**(12):1820-6. PMID: 19419332.

**Vanderhaeghen W., Piepers S., Leroy F., Van Coillie E., Haesebrouck F. et De Vliegher S. (2014).** Invited review: effect, persistence, and virulence of coagulase negative *Staphylococcus* species associated with ruminant udder health. *Journal of Dairy Science*, **97**:5275–93. doi:10.3168/jds.2013-7775.

**Vedrine M. (2019).** Rôle de l'antigène O dans la reconnaissance d'*Escherichia coli* par les cellules épithéliales mammaires bovines et modulation par le CD14 soluble. Thèse de Doctorat. Université de Tours.

**Verdi R.J. et Barbano D.M. (1991).** Effect of coagulants, somatic cell enzymes, and extracellular bacterial enzymes on plasminogen activation. *Journal of Dairy Science*, **74**:772-782.

**Vinet M.J. (2021).** Recherche de conditions de synthèses en flux continu et d'analyses rapides d'huile de tournesol ozonée pour la lutte antibactérienne contre les mammites. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse.

**Vuillemard J.C. (2018).** Science et Technologie Du Lait. 3<sup>ème</sup> édition. Les Presses de l'Université Laval.

## W

**Waes G. et Bellegem V. (1969).** Influence de la mammite sur les propriétés technologiques du lait et sur la qualité des produits laitiers. *Le Lait, INRA Editions*, **49** :485-486.

**Wattam A.R., Abraham D., Dalay O., Disz T.L., Driscoll T., Gabbardj.L. et Patric A. (2014).** The bacterial bioinformatics database and analysis resource. *Nucleic Acids Research*, **42**:581-591.

**Williamson J.H. et Lacy-Hulbert S.J. (2013).** Effect of Disinfecting Teats Post-Milking or Pre-and Post-Milking on Intramammary Infection and Somatic Cell Count. *New Zealand Veterinary Journal*, **61**:262-268.

**Wolter R. et Ponter A. (2012).** Alimentation De La Vache Laitière. 4<sup>ème</sup> Ed., Editions France Agricole. Paris.

## X

**Xia G., Kohler T. et Peschel A. (2010).** The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, **300** (2-3):148-54.

## Y

**Yamagata K., Matsumura K., Inoue W., Shiraki T., Suzuki K., Yasuda S., Sugiura H., Cao C., Watanabe Y. et Kobayashi S. (2001).** Coexpression of microsomal-type prostaglandin E synthase with cyclooxygenase-2 in brain endothelial cells of rats during endotoxin-induced fever. *Journal of Neuroscience*, **21**:2669-77.

**Yap M., Gleeson D., O'Toole P.W., O'Sullivan O. et Cotter P.D. (2021).** Seasonality and Geography Have a Greater Influence than the use of Chlorine-Based Cleaning Agents on the Microbiota of Bulk Tank Raw Milk. *Applied Environmental Microbiology*. **87**(22). PMID: 34469196.

**Ye Q., Wu Q., Zhang S., Zhang J., Yang G., Wang H., Huang J., Chen M., Xue L. et Wang J. (2017).** Antibiotic-resistant extended spectrum  $\beta$ -lactamase- and plasmid-mediated

ampc-producing Enterobacteriaceae isolated from retail food products and the pearl river in Guangzhou, China. *Frontiers in Microbiology* **8** (96).

**Yenew C., Tadele F., Minuye B., Sisay E., Asmamaw T., Mulatu S. et Demissie B. (2022).** Raw cow milk nutritional content and microbiological quality predictors of South Gondar zone dairy farmers in Ethiopia, 2020. *Heliyon*, **8** (10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11020>.

**Yennek B. (2010).** Effet des facteurs d'élevage sur la production et la qualité du lait de vache en régions montagneuses. Mémoire de Magister. Alimentation animale et produits animaux. Université de Mouloud Mammeri, 141p.

**Yuan H., Han S., Zhang S., Xue Y., Zhang Y., Lu H. et Wang S. (2022).** Microbial properties of raw milk throughout the year and their relationships to quality parameters. *Foods*, **11**,3077. PMID: 36230153.

## **Z**

**Zeghilet N., Bouchoucha B. et Bouaziz O. (2022).** beta-lactam and tetracycline antibiotic residues in cow milk in the Constantine region, Algeria. *Veterinarska stanica*, **53**:305-311.

**Zhou K., Li C., Chen D., Pan Y., Tao Y., Qu W., Liu Z., Wang X. et Xie S. (2018).** A review on nanosystems as an effective approach against infections of *Staphylococcus aureus*. *Interantional Journal of Nanomedicine*, **13**:7333–47.

**Ziebandt A.K., Kusch H., Degner M., Jaglitz S., Sibbald M.J.J.B., Arends J.P., Chlebowicz M.A., Albrecht D., Pantucek R., Doskar J., Ziebuhr W., Bröker B.M., Hecker M., Van Djil J.M. et Engelmann S. (2010).** Proteomics unconvers extreme heterogeneity in the *Staphylococcus aureus* exoproteome due to genomic plasticity and variant gene regulation. *Proteomics*, **10**:1634-1644.



100 Typewriter © 2017

## ANNEXE I : Fiche de renseignements au sein des fermes

## FICHE D'ENQUÊTE AU SEIN DES ELEVAGES

## I. INFORMATIONS GENERALES

Lieu : ..... Le : ..... /...../2023

Exploitation : ..... Depuis : .....

Animaux élevés : Bovins  Ovins  Caprins   
 Canins  Equins  Oiseaux

Race des vaches : ..... Nb<sup>re</sup> d'enclos : .....

Catégories	Vaches	Vaches en lactation	Mâles	Veaux
Nombre de têtes	.....	.....	.....	.....

Type d'élevage	Laitier		Viandeux		Mixte	
Revenu primaire laitier	Oui		Non			
Type de logement	Moderne		Traditionnel			
Type de sol	Bétonné		Terre battue		Autre	
Type de stabulation	Entravée		Libre			

## II. INFORMATIONS SUR LE PERSONNEL

FERME	Nombre	Sexe	Age	Niveau d'études				Formations qualifiantes	
				Sans	Primaire	Secondaire	Universitaire	Oui	Non
Propriétaire									
Professionnels									
Trayeurs									

## III. HYGIENE ET PRATIQUES DE TRAITE

HYGIENE DE LA PRODUCTION LAITIERE A L'ETABLE						
Score	Etable	Vaches	Pis	Mains des Trayeurs	Ustensiles à lait	
					Plastique	Métallique
Score 0						
Score 1						
Score 2						
Score 3						
Score 4						

**0** : Très propre ; **1** : Propre ; **2** : Acceptable, **3** : Sale, **4** : Très sale.

Eau d'abreuvement des vaches	Robinet		Source		Forage	
Eau pour lavage des trayons et des mains	Froide		Tiède			
Fréquence de nettoyage de l'étable : .....						
Eau pour nettoyage des ustensiles à lait	Eau froide		Eau tiède			
Nettoyage des ustensiles avec du savon	Oui		Non			
Fréquence de nettoyage des ustensiles	1 fois/J		2 fois/J		A chaque utilisation	
<b>PRATIQUES DE TRAITE</b>						
Mode traite	Manuel		Mécanique			
Réalisation de la traite dans une salle spéciale	Oui		Non			
Fréquence de traite	1 fois /jour		2 fois/jour			
Personnes responsables de la traite	Les mêmes		Différentes			
Lavage des mains	Avant la traite		Après la traite		Avant et après la traite	
Nettoyage systématique de la mamelle	Oui		Non			
Utilisation des désinfectants	Oui		Non			
Utilisation de lavettes	Non		Oui: collectives		Oui : individuelles	
Elimination des premiers jets	Oui		Non			
Trempage des trayons	Oui		Non			
Contrôle annuel de la machine à traire	Oui		Non			
Egouttage régulier en fin de traite	Oui		Non			
Traite séparée des vaches à MSC	Oui		Non			

USAGE DES ANTIBIOTIQUES				
Délais d'attente pour consommation ou vente du lait après traitement antibiotique : ..... jours				
Nombre de vétérinaires assurant le suivi à la ferme : .....				
Nombre d'interventions vétérinaires par an (J0-1an) : .....				
Acquisition d'intrants récents ( $\leq 1$ an)	Non	Oui	Nombre : .....	
Traitement des mammites cliniques	Oui	Non		
Mammites rebelles au traitement ATB	Oui	Non		
Séparation des veaux de leurs mères	Oui	Non		
Utilisation de Pénicilline/Streptomycine	Oui	Non		
Connaissance et utilisation du test CMT	Oui	Non		
Traitement ATB des mammites au tarissement	Oui	Non		
Dépistage des mammites subcliniques	Oui	Non		
Tarissement	Progressif	Brusque		
Consommation du lait issu de vaches traitées pour mammites	Oui	Non		
Destination du lait	Familiale	Industrie	Mixte	



## ANNEXE II : Dépistage des mammites subcliniques

Test de CMT (Schalm test) : s'effectue avant la traite et implique le contrôle de tous les quartiers. Les mamelles sales doivent être nettoyées.

## Technique de réalisation du TEST de CMT : Californian Mastitis Test

Procédure	Interprétation des résultats	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Traire pour chaque quartier quelques jets (sans écume !) de lait dans la palette du test ;</li> <li>• Incliner la palette de manière à ne laisser que 2 à 3 mL de lait par récipient (niveau marqué) ;</li> </ul>		 <p data-bbox="1027 517 1394 640"><b>Négatif (-)</b> (pas de réaction) jusqu'à env. 250'000 cellules Le mélange lait-solution du test conserve la même fluidité.</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ajouter une quantité équivalente de solution test dans chaque récipient ;</li> </ul>		 <p data-bbox="1027 786 1394 931"><b>Légèrement positif ou + &lt; 1.5 millions de cellules / mL</b> Formation de stries visibles uniquement lorsque la palette est en mouvement.</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mélanger par rotation horizontale pendant 30 secondes le lait et la solution test ;</li> <li>• Évaluer la fluidité du mélange en inclinant la palette ;</li> </ul>		 <p data-bbox="1027 1055 1394 1200"><b>Moyennement positif ou ++ &lt; 5 millions de cellules / mL</b> Formation nette d'une couche visqueuse. Possible de faire couler le mélange par portions.</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Interpréter les résultats.</li> </ul>		 <p data-bbox="1027 1335 1394 1547"><b>Fortement positif ou +++</b> &gt; 5 millions de cellules / mL Formation d'une couche de gel restant collée. Plus possible de faire couler le mélange par portions.</p>

Vu la subjectivité de différenciation entre le degré de la lyse cellulaire, on prend en compte uniquement l'aspect qualitatif du test.

## ANNEXE III : Lecture et interprétation des galeries biochimiques API Staph

Tableau I : Lecture des API Staph

Tests	Composants actifs	QTE (mg/cup.)	Réactions/enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
<b>0</b>	<b>Aucun</b>		<b>Témoin négatif</b>	<b>Rouge</b>	<b>-</b>
<b>GLU</b>	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	Rouge	Jaune
<b>FRU</b>	D-fructose	1,4	Acidification (D-FRUctose)		
<b>MNE</b>	D-mannose	1,4	Acidification (D-ManNosE)		
<b>MAL</b>	D-maltose	1,4	Acidification (MALtose)		
<b>LAC</b>	D-lactose	1,4	Acidification (LACtose)		
<b>TRE</b>	D-tréhalose	1,32	Acidification (D-TREhalose)		
<b>MAN</b>	D-mannitol	1,36	Acidification (D-MANnitol)		
<b>XLT</b>	Xylitol	1,4	Acidification (XyLiTol)		
<b>MEL</b>	D-mélibiose	1,32	Acidification (D-MELibiose)		
<b>NIT</b>	Nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites	NIT 1+ NIT 2 / 10 min	
				Incolore-rose pale	Rouge
<b>PAL</b>	$\beta$ -naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase Alcaline	ZYM A +ZYM B / 10 min	
				Incolore-Beige-rosé, Violet très pâle	Violet
<b>VP</b>	Sodium pyruvate	1,904	Production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	VP1 +VP 2 / 10 min	
				Incolore-Rose pâle	Violet-rose
<b>RAF</b>	D-raffinose	1,56	Acidification (RAFFinose)	Rouge	Jaune
<b>XYL</b>	D-xylose	1,4	Acidification (XYLose)		
<b>SAC</b>	D-saccharose	1,32	Acidification (SACcharose)		
<b>MDG</b>	Méthyl- $\alpha$ D-glucofuranoside	1,28	Acidification (Méthyl- $\alpha$ D-Glucofuranoside)		
<b>NAG</b>	N-acétyl-glucosamine	1,28	Acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
<b>ADH</b>	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	Jaune	Orange-Rouge
<b>URE</b>	Urée	0,76	UREase	Jaune	Rouge-Violet

**Tableau II** : Principaux caractères permettant de différencier les espèces et sous-espèces du genre *Staphylococcus* (Pellerin *et al.*, 2010)

Caractère	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> subsp <i>anaerobius</i>	<i>S. delphini</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. lutrae</i>	<i>S. schleifri</i>
Taille de la colonie ±6mm	+	-	+	+	+	d	-	-
Pigmentation de la colonie	+	-	-	-	-	d	-	-
Croissance en anaérobie	+	(+)	(+)	+	(+)	+	+	+
Croissance en aérobie	+	()	+	+	+	+	+	+
Staphylocoagulase	+	+	+	<b>d</b>	+	-	+	-
Clumping factor	+	-	-	-	<b>d</b>	(+)	-	+
Thermonucléase	+	+	-	+	+	-	()	+
Hémolyse	+	+	+	-	<b>d</b>	(+)	+	(+)
Catalase	+	-	+	+	+	+	+	+
Oxydase modifiée	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphatase alcaline	+	+	+	+	+	-	+	+
Uréase	<b>d</b>	<b>ND</b>	+	<b>d</b>	+	d	+	-
Production d'acétoïne	+	-	-	-	-	+	-	+
Réduction du nitrate	+	-	+	+	+	+	+	+
Hydrolyse de l'esculine	-	-	<b>ND</b>	-	-	-	<b>ND</b>	-
Résistance à la novobiocine	-	-	-	-	-	-	-	-
Production d'acide à partir de :								
D-Mannitol	+	<b>ND</b>	(+)	-	( <b>d</b> )	-	<b>d</b>	-
D-Tréhalose	+	-	-	+	+	+	+	<b>d</b>
D-Xylose	-	-	-	-	-	-	+	-
Maltose	+	+	+	-	()	+	+	-
Saccharose	+	+	+	+	+	+	<b>ND</b>	-

+ : concerne 90% ou plus des souches ; - : 90% ou plus des souches sont négatives ; **d** : 11 à 89% des souches sont positives ; **ND** : non déterminé ; () : indique une réaction retardée.

**ANNEXE IV** : Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion sur gélose Mueller-Hinton

**Tableau I** : Zones d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des Staphylocoques

Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	S	R	I	Référence
Pénicilline	<b>P</b>	10	≥29	≤28	-	CLSI (2020)
Oxacilline	<b>OX</b>	5	≥34	≤27	27-34	CA-SFM (2013)
Céfoxitine	<b>FOX</b>	30	≥22	≤21	-	CLSI (2020)
Erythromicine	<b>E</b>	15	≥23	≤13	14-22	CLSI (2020)
Tétracycline	<b>TE</b>	30	≥19	≤14	15-18	CLSI (2020)
Gentamicine	<b>CN</b>	10	≥15	≤12	13-14	CLSI (2020)
Ofloxacine	<b>OF</b>	5	≥18	≤14	15-17	CLSI (2020)
Chloramphenicol	<b>C</b>	30	≥18	≤12	13-17	CLSI (2020)
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	<b>SXT</b>	25	≥16	≤10	11-15	CLSI (2020)
Clindamycine	<b>CD</b>	2	≥21	≤14	15-20	CLSI (2020)
Acide fusidique	<b>FA</b>	10	≥24	<24	-	CA-SFM (2022)
kanamycine	<b>K</b>	30	≥18	<18	-	CA-SFM (2022)

**ANNEXE V** : Électrophorèse en présence du SDS et de 2-mercaptoéthanol (PAGE-SDS)

#### Solution d'acrylamide (A)

- ☞ Acrylamide.....36 g
- ☞ Bisacrylamide..... 1 g
- ☞ Eau distillée.....100 mL

#### Tampon de gel de séparation

- ☞ Tris.....18,15 g
- ☞ Eau distillée.....100 mL

Ajuster à pH 8,8 avec du HCl 4N

#### Tampon de gel de concentration

- ☞ Tris.....6 g
- ☞ Eau distillée.....100 mL

Ajuster à pH 6,8 avec du HCl 4N

**Tampon d'électrode**

☞ Tris .....	1,2g
☞ Glycine.....	5,76g
☞ SDS.....	0,2g
☞ Eau distillée.....	200 mL

Ajuster à pH 8,3 avec du Tris

**Tampon d'échantillon**

☞ Solution (C).....	500µL
☞ Eau distillée.....	250µL
☞ SDS (10%).....	250µL
☞ 2-mercaptoéthanol.....	50µL

Dissoudre 1mg de protéines lyophilisées dans 800 µL de ce tampon

Chauffage à 100°C pendant 4 à 5 mn puis refroidir dans un bain d'eau froide

Ajouter 200 µL d'une solution de glycérol 50% (v/v) et quelques graines de bleu de bromophénol

**Solution de fixation**

☞ TCA.....	12 g
☞ Eau distillée.....	100 mL

**Solution de coloration**

☞ Bleu de Coomassie R250.....	0,5 g
☞ TCA.....	4 g
☞ Méthanol.....	100 mL
☞ Eau distillée.....	100 mL

**Solution de décoloration**

☞ Acide acétique.....	37,5 mL
☞ Eau distillée.....	312,5 mL
☞ Méthanol.....	150 mL

**Solution de persulfate d'ammonium**

- ☞ Persulfate d'ammonium.....0,1g
- ☞ Eau distillée (qsp).....1mL

**Electrophorèse**

**Préparation du gel de séparation : T=12% et C=2,7% (pour une plaque)**

- ☞ Solution (A).....4,15mL
- ☞ Solution (B).....2,5mL
- ☞ Eau distillée.....3,35mL

Dégazer le mélange (maximum 2mn)

- ☞ SDS 10% .....100µL
- ☞ TEMED .....13µL
- ☞ Persulfate d'ammonium 10%.....75µL

Couler à environs 1,5 cm du sommet de la plaque de moindre

**Préparation du gel de concentration : T=4,8 % et C=2,7% (pour une plaque)**

- ☞ Solution (A).....1,13mL
- ☞ Solution (B).....2,5mL
- ☞ Eau distillée.....5,8mL

Dégazer quelques secondes

- ☞ Solution de SDS 10%.....100µL
- ☞ TEMED.....20µL
- ☞ Persulfate d'ammonium 10%.....80 µL

Couler immédiatement sur le gel de séparation polymérisé et mettre le peigne

**Dépôt d'échantillon :** 10 à 20 µL

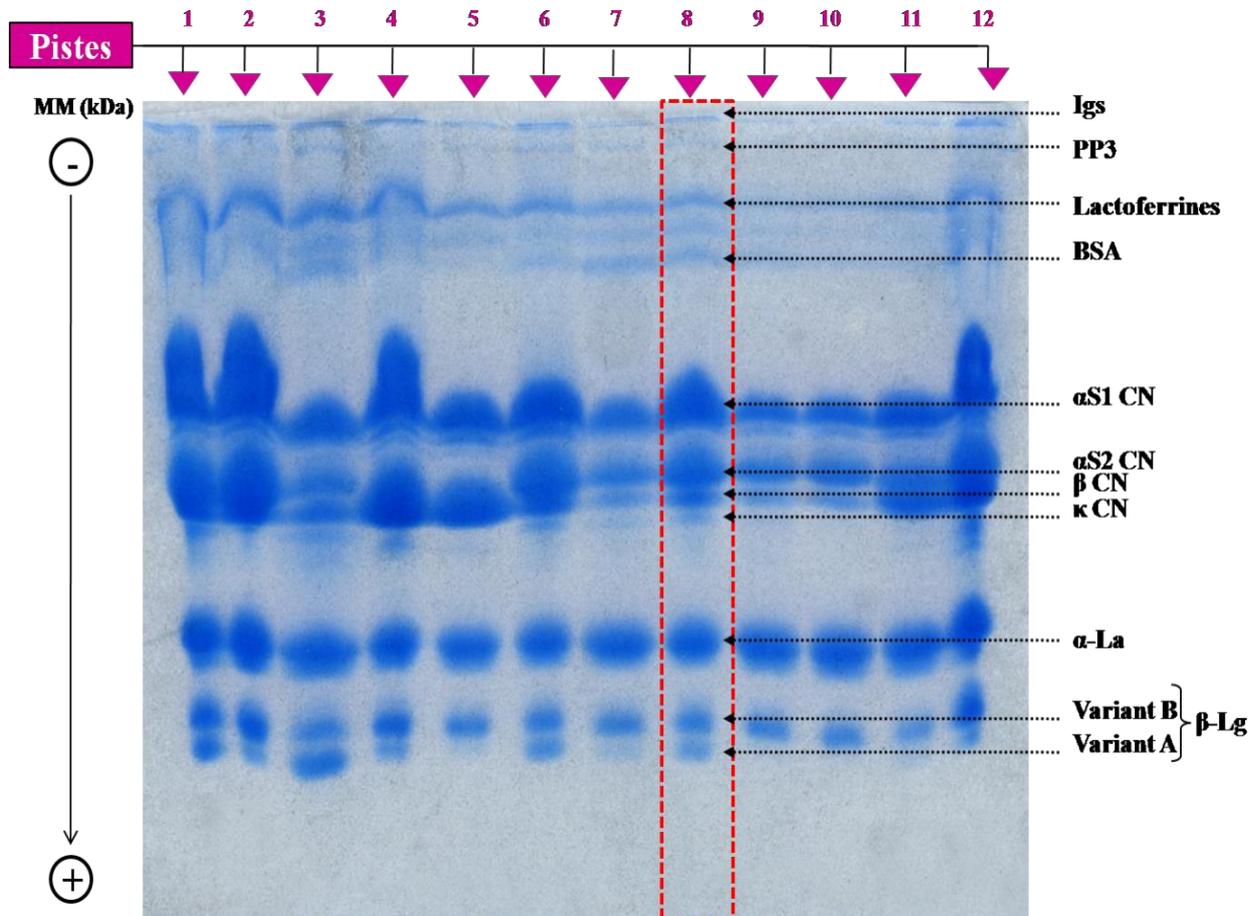
**Mise sous tension :** 20 mA, 250V

**Fixation :** 45mn dans la solution de fixation

**Coloration :** 1 heure dans la solution de coloration

**Décoloration :** dans la solution de décoloration

**ANNEXE VI : Comparaison de la composition en protéines totales des échantillons de laits sains et mammitéux**



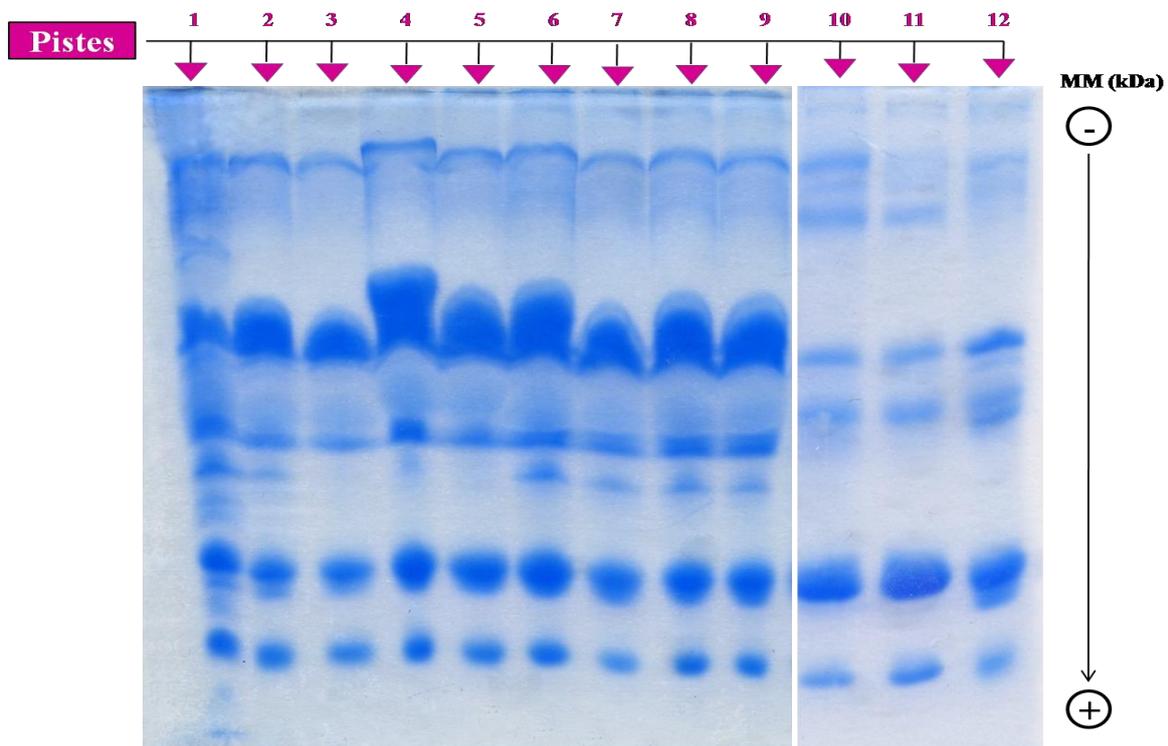
**Figure 1 :** Profils électrophorétiques des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).

**1:**  $V_1.PD^+$ , **2:**  $V_1.PG^-$ , **3:**  $V_2.AD^+$ , **4:**  $V_2.AG^-$ , **5:**  $V_2.PD^-$ , **6:**  $V_3.AD^+$ , **7:**  $V_4.PD^+$ , **8:**  $V_4.PG^-$ ,  
**9:**  $O_1.PD^+$ , **10:**  $O_1.PG^-$ , **11:**  $O_2.PD^-$ , **12:**  $O_2.PG^+$ .

**Tableau I** : Analyse comparative de la composition en protéines totales des échantillons de laits sains et mammites de l'électrophorèse 1.

EPS	Pistes	Protéines totales										
		Igs	PP3	lactoferrines	BSA	$\alpha$ S1-CN	$\alpha$ S2-CN	$\beta$ -CN	$\kappa$ -CN	$\alpha$ -La	$\beta$ -Lg	
											B	A
1	1	+	-	+	-	++	+	+	-	+	+	+
	2	+	-	+	±	++	+	±	-	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	-	+	-	++	+	+	-	+	+	+
	5	+	±	+	-	+	+	±	-	+	+	±
	6	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
	8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	+	±	+	±	+	+	+	±	+	+	-
	10	+	±	+	±	+	+	+	-	+	+	-
	11	+	±	+	±	+	+	+	-	+	+	±
	12	+	+	+	±	++	+	+	+	+	+	+

EPS : électrophorèse ; Igs : immunoglobulines ; PP3 : protéoses peptones ; BSA : bovine sérum albumine ; CN : caséines ; La : lactalbumine ; Lg : lactoglobulines.

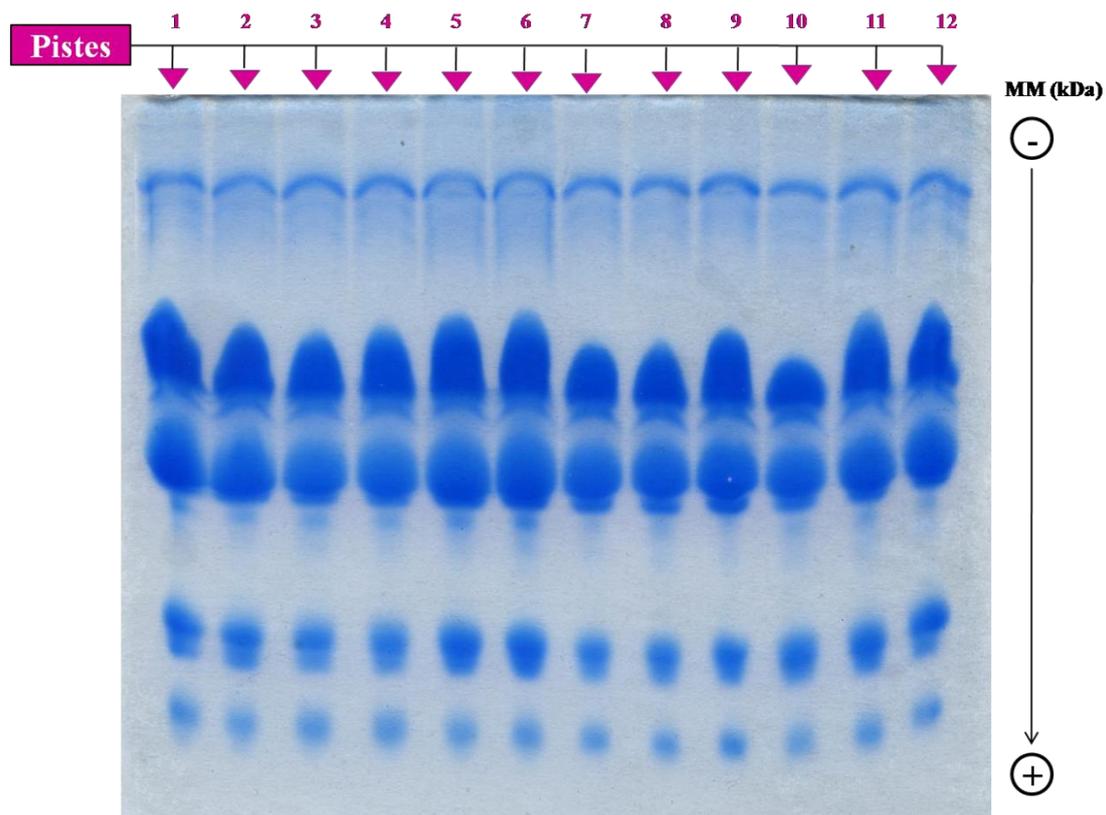


**Figure 2** : Profils électrophorétiques des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).

1: O<sub>3</sub>.AG<sup>+</sup>, 2: O<sub>3</sub>.PG<sup>+</sup>, 3: O<sub>3</sub>.AD<sup>-</sup>, 4: O<sub>4</sub>.AD<sup>+</sup>, 5: O<sub>4</sub>.PG<sup>-</sup>, 6: O<sub>5</sub>.AD<sup>+</sup>, 7: O<sub>5</sub>.AG<sup>+</sup>, 8: O<sub>5</sub>.PD<sup>+</sup>,  
9: O<sub>5</sub>.PG<sup>+</sup>, 10: O<sub>6</sub>.PD<sup>+</sup>, 11: O<sub>6</sub>.PG<sup>+</sup>, 12: O<sub>6</sub>.PD<sup>-</sup>.

**Tableau II :** Analyse comparative de la composition en protéines totales des échantillons de laits sains et mammitieux de l'électrophorèse 2.

EPS	Pistes	Protéines totales										
		Igs	PP3	lactoferrines	BSA	$\alpha$ S1-CN	$\alpha$ S2-CN	$\beta$ -CN	$\kappa$ -CN	$\alpha$ -La	$\beta$ -Lg	
											B	A
2	1	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	±
	2	+	-	+	-	+	+	+	±	+	+	-
	3	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-
	4	+	-	+	-	++	+	+	-	+	+	-
	5	+	-	+	-	++	+	-	-	+	+	-
	6	+	+	+	±	++	+	+	-	+	+	-
	7	+	+	+	±	+	+	+	-	+	+	-
	8	+	+	+	±	++	+	+	-	+	+	-
	9	+	+	+	±	++	+	+	-	+	+	-
	10	+	+	+	+	±	+	-	-	+	+	-
	11	+	±	+	+	±	+	-	-	+	+	-
	12	+	+	+	-	±	+	+	-	+	+	-

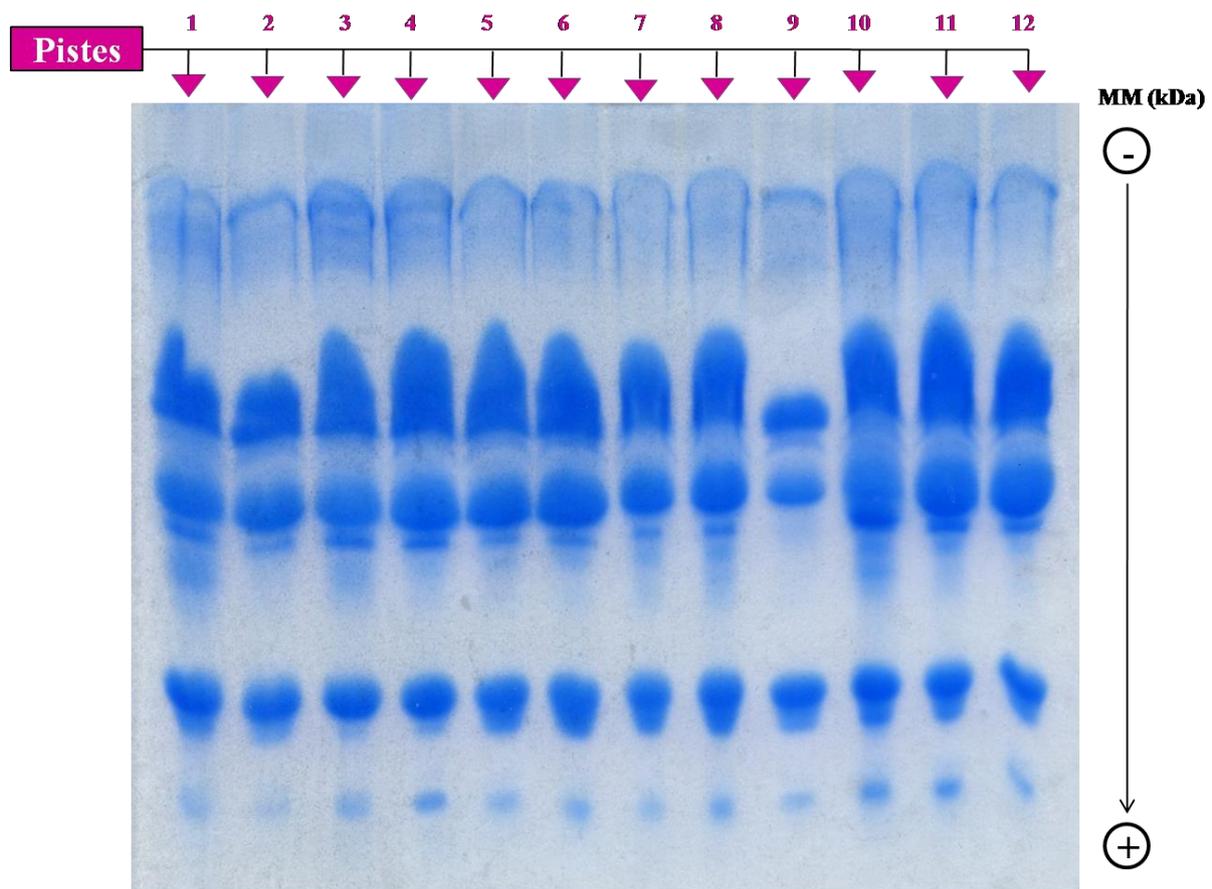


**Figure 3 :** Profils électrophorétiques des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).

1 : O'1.PD<sup>-</sup>, 2 : O'1.PG<sup>+</sup>, 3 : O'2. PD<sup>-</sup>, 4 : O'2.PG<sup>+</sup>, 5 : O'3.AD<sup>-</sup>, 6 : O'3. AG<sup>+</sup>, 7 : O'4. AG<sup>+</sup>,  
8 : O'4.PG<sup>+</sup>, 9 : O'4. PD<sup>-</sup>, 10 : 6. AD<sup>+</sup>, 11 : 6. AG<sup>+</sup>, 12 : 6.PD<sup>-</sup>.

**Tableau III :** Analyse comparative de la composition en protéines totales des échantillons de laits sains et mammitieux de l'électrophorèse 3.

EPS	Pistes	Protéines totales										
		Igs	PP3	lactoferrines	BSA	$\alpha$ S1-CN	$\alpha$ S2-CN	$\beta$ -CN	$\kappa$ -CN	$\alpha$ -La	$\beta$ -Lg	
											B	A
3	1	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
	2	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
	3	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
	4	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
	5	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
	6	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
	7	-	-	+	-	+	+	+	±	+	+	-
	8	-	-	+	-	+	+	+	±	+	+	-
	9	-	-	+	-	+	+	+	±	+	+	-
	10	-	-	+	-	+	+	+	±	+	+	-
	11	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
	12	-	-	+	±	+	+	+	±	+	+	-

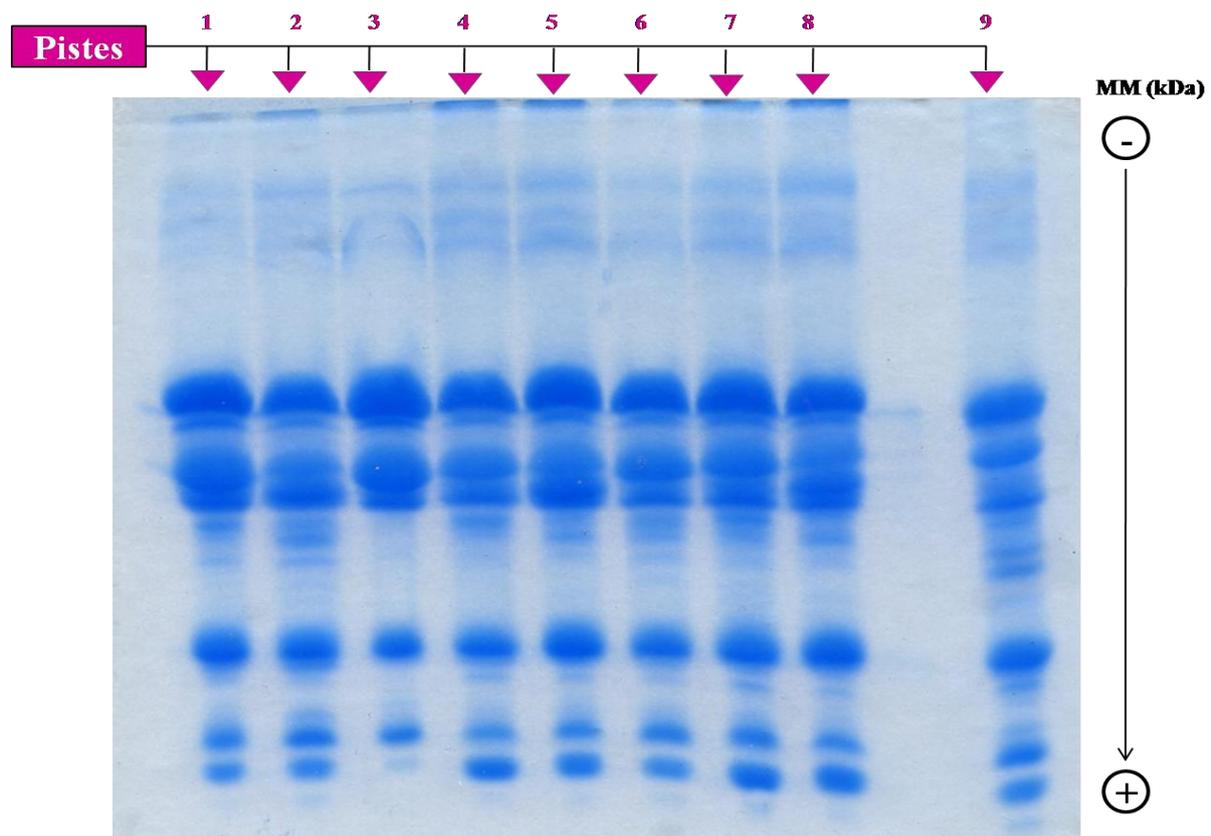


**Figure 4 :** Profils électrophorétiques des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).

**1:** 7.AD<sup>+</sup>, **2:** 7.AG<sup>+</sup>, **3:** 7.PG<sup>+</sup>, **4:** 7. PD<sup>+</sup>, **5:** 8.AD<sup>+</sup>, **6:** 8.AG<sup>+</sup>, **7:** 8. PD<sup>+</sup>, **8:** 8.PG<sup>+</sup>, **9:** 9.AD<sup>-</sup>,  
**10:** 11.AG<sup>+</sup>, **11:** 11.PD<sup>+</sup>, **12:** 11.AG<sup>-</sup>.

**Tableau IV** : Analyse comparative de la composition en protéines totales des échantillons de laits sains et mammitieux de l'électrophorèse 4.

EPS	Pistes	Protéines totales										
		Igs	PP3	lactoferrines	BSA	$\alpha$ S1-CN	$\alpha$ S2-CN	$\beta$ -CN	$\kappa$ -CN	$\alpha$ -La	$\beta$ -Lg	
											B	A
4	1	-	-	+	-	++	+	+	+	+	+	-
	2	-	-	+	-	++	+	+	-	+	+	-
	3	-	-	+	-	++	+	+	-	+	+	-
	4	-	-	+	-	++	+	+	-	+	+	-
	5	-	-	+	-	++	+	+	-	+	+	-
	6	-	-	+	-	++	+	+	-	+	+	-
	7	-	-	+	-	++	+	+	-	+	+	-
	8	-	-	+	-	++	+	+	+	+	+	-
	9	-	-	+	$\pm$	+	+	-	-	+	+	-
	10	-	-	+	-	++	+	+	+	+	+	-
	11	-	-	+	-	++	+	+	+	+	+	-
	12	-	-	+	$\pm$	++	+	+	-	+	+	-

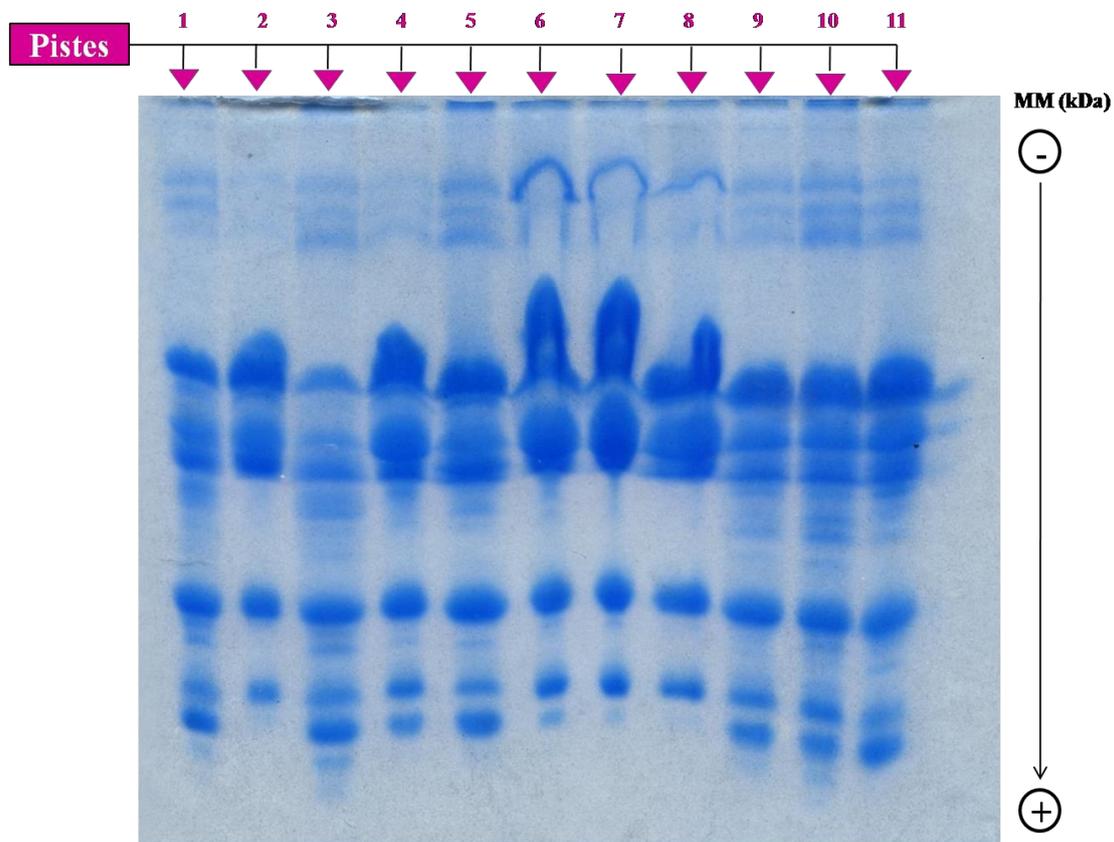


**Figure 5** : Profils électrophorétiques des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).

1 : KV<sub>2</sub>.PD<sup>-</sup>, 2 : II. AG<sup>+\*</sup>, 3 : KV<sub>5</sub>.AD<sup>+</sup>, 4 : T<sub>2</sub>.AD<sup>-</sup>, 5 : T<sub>1</sub>.PG<sup>+</sup>, 6 : T<sub>1</sub>.PD<sup>+</sup>, 7 : T<sub>2</sub>.AG<sup>+</sup>, 8 : T<sub>1</sub>.AD<sup>+</sup>, 9 : KV<sub>5</sub>.PD<sup>+</sup>.

**Tableau V** : Analyse comparative de la composition en protéines totales des échantillons de laits sains et mammitieux de l'électrophorèse 5.

EPS	Pistes	Protéines totales										
		Igs	PP3	lactoferrines	BSA	$\alpha$ S1-CN	$\alpha$ S2-CN	$\beta$ -CN	$\kappa$ -CN	$\alpha$ -La	$\beta$ -Lg	
											B	A
5	1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	±	-	+	+	+	+	+	+	+
	3	-	-	±	-	+	+	-	-	+	+	+
	4	-	-	±	+	+	+	+	-	+	+	+
	5	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+
	6	-	-	±	±	+	+	+	+	+	+	+
	7	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+
	8	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+

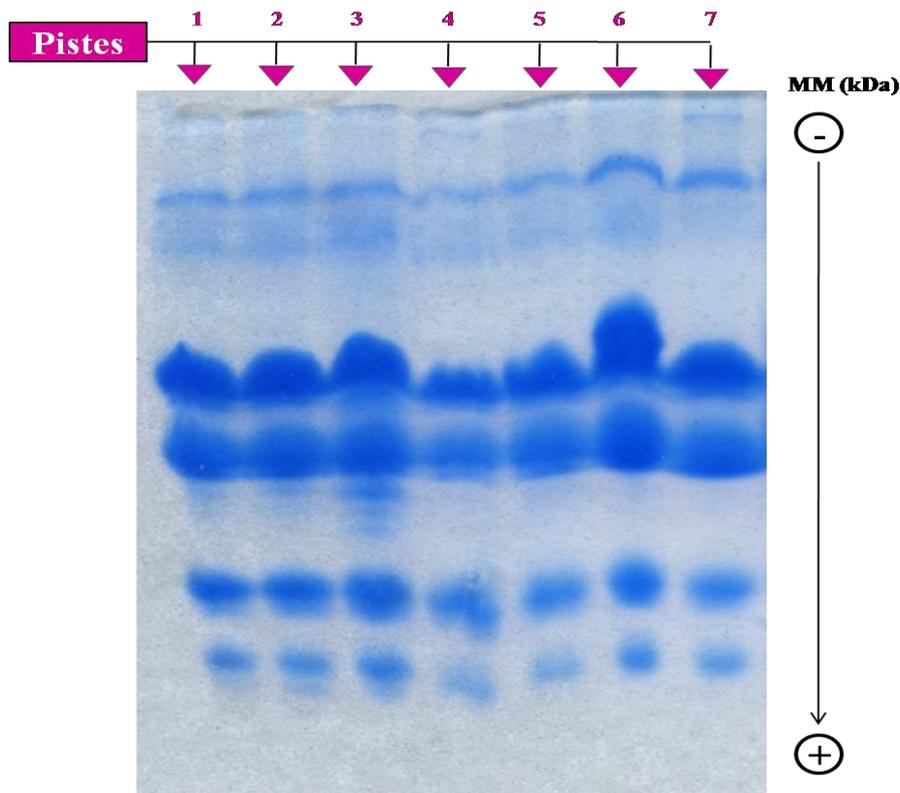


**Figure 6** : Profils électrophorétiques des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).

**1:** KV<sub>2</sub>.AD<sup>+</sup>, **2:** KV<sub>3</sub>.AD<sup>-</sup>, **3:** KV<sub>4</sub>.PG<sup>+</sup>, **4:** KV<sub>4</sub>.AG<sup>-</sup>, **5:** KV<sub>4</sub>.AD<sup>+</sup>, **6:** KV<sub>1</sub>.PD<sup>-</sup>, **7:** KV<sub>1</sub>.AG<sup>+</sup>, **8:** KV<sub>1</sub>.AD<sup>+</sup>, **9:** KV<sub>5</sub>.PG<sup>+</sup>, **10:** KV<sub>5</sub>.AG<sup>+</sup>, **11:** T<sub>2</sub>.PD<sup>-</sup>.

**Tableau VI :** Analyse comparative de la composition en protéines totales des échantillons de laits sains et mammitieux de l'électrophorèse 6.

EPS	Pistes	Protéines totales										
		Igs	PP3	lactoferrines	BSA	$\alpha$ S1-CN	$\alpha$ S2-CN	$\beta$ -CN	$\kappa$ -CN	$\alpha$ -La	$\beta$ -Lg	
											B	A
6	1	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	2	-	-	±	-	+	+	+	-	+	+	-
	3	-	-	+	+	±	±	+	±	+	+	+
	4	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6	-	-	+	-	++	+	+	-	+	+	+
	7	-	-	+	-	++	+	+	-	+	+	+
	8	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
	9	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	11	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+



**Figure 7 :** Profils électrophorétiques des protéines totales en PAGE-SDS ; gel de séparation ; (T=12% ; C=2,7% ; pH 8,8) ; gel de concentration (T= 4,8% et C= 2,7% ; pH 6,8).

1 : IV.AG<sup>+</sup>, 2: IV.PG<sup>+</sup>, 3: IV.PD<sup>+</sup>, 4: IV.AD<sup>-</sup>, 5: V.PD<sup>+</sup>, 6: V.AG<sup>-</sup>, 7: O<sub>7</sub>.AD<sup>-</sup>.

**Tableau VII :** Analyse comparative de la composition en protéines totales des échantillons de laits sains et mammitieux de l'électrophorèse 7.

EPS	Pistes	Protéines totales										
		Igs	PP3	lactoferrines	BSA	$\alpha$ S1-CN	$\alpha$ S2-CN	$\beta$ -CN	$\kappa$ -CN	$\alpha$ -La	$\beta$ -Lg	
											B	A
7	1	-	-	+	$\pm$	+	+	+	-	+	+	-
	2	-	-	+	$\pm$	+	+	+	-	+	+	$\pm$
	3	-	-	+	$\pm$	+	+	+	+	+	+	$\pm$
	4	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
	5	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-
	6	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-
	7	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-