

REPUBLIQUE ALGERIENNE DE

الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT

SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

UNIVERSITE DE BLIDA 1

جامعة البليدة 1

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

معهد العلوم البيطرية



846THV-1

MEMOIRE

De fin d'étude pour l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

Thème :

***CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CONTAMINATION DU LAIT
CRU BOVIN PAR LES STAPHYLOCOQUES DANS CERTAINES
FERMES DE LA REGION DE BLIDA.***

Présenté par :

BERRAHIA Rafiq & ANAYAT Badere ddine

Devant le jury composé de :

Promoteur : Mr HAMIROUNE M

M.A.A

Université de Djalfa

Présidente : Mme DAHMANI A

M.A.B

USDB

Examinatrice : Mme BOUGUessa A

M.A.A

USDB

Année universitaire : 2013/2014

REMERCIEMENTS

Un remerciement à notre Dieu qui par sa grâce, nous avons pu achever notre parcours et pour son aide à la réalisation de ce travail.

A Monsieur HAMIROUNE M,

Qui nous a fait l'honneur d'encadrer ce travail, pour ses conseils pertinents, sa patience remarquable, sa disponibilité et son aide précieux qui a grandement facilité la réalisation de ce travail.

Veillez accepter l'expression de notre respectueuse gratitude

A Madame DAHMANI A,

*Qui nous a fait l'honneur de bien vouloir accepter la présidence de notre jury de mémoire
Remerciements et hommage respectueux*

A Madame BOUGUessa A,

*Qui nous a fait l'honneur de bien vouloir accepter d'examiner notre mémoire et de siéger à notre jury de mémoire
Remerciements et hommage respectueux*

Aux techniciens de laboratoire d'analyse vétérinaire de contrôle de qualité, de conformité et de la recherche appliquée, BARAKI (ALGER).

Pour leur accueil, leur patience, leur aide, leurs conseils et encouragements continus.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont encouragé tout au long de notre parcours et ceux qui ont contribué à notre formation.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mon père et à ma mère

*Une réserve inépuisable de courage vous a permis d'accomplir votre devoir
tous les jours et de vous fier au bon DIEU pour le lendemain.
C'est que vous avez toujours compris que toute réussite déguise
une abdication. Puisse ce travail récompenser votre patience et
persévérance et tous les sacrifices que vous avez consentis
au nom de la famille.*

A mes frères Khaled et Ayoub

*Demain ne sera pas comme hier, il sera nouveau et il dépendra de nous.
Notre avenir comme notre passé doit être solidaire. C'est la plus
belle chose qui nous est donnée naturellement. Notre force
résidera toujours dans notre sincère entente
et notre esprit de fraternité.*

A mon ami : ZABER Saïd

Rien au monde, n'a pu ébranler notre amitié.

A tous mes amis de la vida

*Pour notre amitié et tous les bons moments passés et à venir,
Pour votre présence, vos bons conseils et nos fous rires partagés,
Un très grand merci à tous et à toutes.*

A tous ceux qui m'ont aidé lors de la réalisation de ce travail, merci à tous

-Rafiq-

Dédicaces

En première lieu je tien à remercie mon Dieu, pour son aide à la réalisation de ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail Avant tout. A mes chers parents :

Merci de m'avoir accompagné jusque là, pour leur aide précieuse, pour leur soutien indéfectible, c'est grâce à eux que je suis ici aujourd'hui.

A mes frères et leur famille.

A mes sœurs et leur famille.

A mon ami Yacine et à mon binôme Rafiq.

A tous les habitants de mon villages « ATROUCHE » et à tous la famille « ANAYAT ».

A tous ceux que je porte dans mon cœur, mes amis d'enfance, du lycée, de l'université, de la promo 2014 ; pour leur amitié si précieuse et tous les bons moments passés et à-venir.

*A notre promoteur : Dr HAMIROUNE Mourad,
pour son sens du contact, et son aide.*

-Bedere ddine-

RESUME

L'organe de synthèse de lait, la mamelle, est souvent sujet des infections staphylococciques, qui constituent l'une des pathologies les plus coûteuses en élevage bovin laitier.

L'objectif de notre travail est d'identifier les staphylocoques présents dans le lait des vaches laitières issues de 5 fermes de la région de Blida et de chercher les paramètres qui gèrent le taux de contamination dans cette région. Pour cela, nous avons réalisé une enquête, un examen organoleptique et des analyses bactériologiques au niveau du laboratoire d'AVCQ-LAB de Baraki.

Les résultats de l'enquête ont permis de mettre en évidence les erreurs d'élevage qui peuvent expliquer la présence de ces germes dans le lait des vaches.

Les résultats bactériologiques ont montré que 33,33% des vaches prélevées ont présenté des staphylocoques dans leurs lait. Ces résultats sont influencés par les facteurs étudiés (le nombre de gestation, l'âge, le niveau de la production lactée, l'épaisseur de la laitière...).

Donc la consommation du lait frais reste tout de même à risque.

Mots clés: staphylocoques, analyse bactériologique, élevage, vache laitière, Blida.

SUMMARY

The body of synthesis of milk, the udder is often prone to staphylococcal infections, which constitute one of the most costly diseases in dairy cattle.

The objective of our experimental study aims to identify the staphylococci in the milk of dairy cows from 5 farms in the area of Blida and understand the parameters that manage the rate of contamination in this region. To do this, we conducted an investigation, an examination of the organoleptic and bacteriological analysis at laboratory of AVCQ-LAB at Baraki.

The survey results have identified errors of farms that may explain the presence of these germs in the milk of cows.

Bacteriological results have shown that 33,33% of cows sampled has staphylococci in their milk. These results are influenced by the factors studied (the number of gestation, age, level of milk production, the thickness of the litter...).

So the consumption of fresh milk is still at risk.

Key words: staphylococci, bacteriological analysis, livestock, dairy, Blida.

ملخص

العضو الذي ينتج الحليب هو الضرع، عامة يكون عرضة للإصابات بستافيلوكوك التي تمثل إحدى الأمراض الثمينة لدى الأبقار الحلوب.

الهدف من دراستنا هو البحث عنستافيلوكوك الموجود في حليب البقر المنحدر من منطقة البلدية، حتى يتسنى لنا معرفة العوامل التي تتحكم في نسبة التجرثم، لقد قمنا بتحقيق و تحليل بكتريولوجي المخبر أ.ف.س.ك_ لاب ببراقى.

هذه الدراسة أجريت على مستوى 5 مزارع مختلفة، نتائج المتابعة الميدانية أكدت أنه هنالك نقص في النظافة و التي تشرح وجود هذه البكتيريا في الحليب، أما نتائج التحليل المخبري فقد أوضحت نسبة 33،33% من هذه الأبقار يحتوي حليبها على بكتيرياستافيلوكوك، هذه النتائج مرتبطة بالعوامل المدروسة (عدد مرات الحمل، السن، مستوى إنتاج الحليب، سمك التفرشة...).

إن استهلاك الحليب الطازج يبقى دوما مصدر للخطر.

الكلمات الرئيسية: ستافيلوكوك، تحليل بكتريولوجي، القطيع، البقرة الحلوبة، البلدية.

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Historique sur les staphylocoques.....	3

Partie Bibliographique

CHAPITRE I. Généralité sur le lait de vache.....	4
---	----------

I.1. Définition du lait cru.....	4
I.2. Qualité du lait.....	4
I.2.1. Qualité microbiologique.....	4
I.2.2. Qualité physicochimique.....	5
I.3. Contrôle hygiénique du lait	7

CHAPITRE II. Les staphylocoques.....	8
---	----------

II.1. Caractéristique : classification, réservoir et source.....	8
II.2. Propriétés.....	8
II.3. Caractéristiques.....	8
II.4.Exploration du caractère toxigène des staphylocoques.....	9
II.4.1.Isolement des souches à coagulase positive	9
II.4.2.Techniques de détection des entérotoxines et des séquences nucléotidiques codant pour leur production.....	12
II.4.3.Caractéristiques des entérotoxines.....	12

CHAPITRE III. Habitat des staphylocoques et contamination du lait bovin.....	14
---	-----------

III.1. Habitat des staphylocoques.....	14
III.1.1. La source intra-mammaire	14
III.1.1.1 Symptômes	14
III.1.1.2 Etiologie.....	15
III.1.1.3 Epidémiologie.....	16
III.1.2. La source cutanée.....	16
III.1.3. La source environnementale.....	17
III.2. Contamination du lait bovin.....	18

CHAPITRE IV. Les toxi-infections alimentaires staphylococciques.....	19
IV.1. Les Intoxinations.....	19
IV.1.1. Les symptômes.....	19
IV.1.2. Importance en France	20
IV.1.3. Les produits incriminés – Importance des produits laitiers.....	21
IV.1.4. Les entérotoxines identifiées.....	22
IV.2. Impacte des intoxications alimentaires dues à <i>Staphylococcus aureus</i> sur la santé humaine.....	23

Partie Expérimentale

Introduction.....	24
I. Objectifs de l'étude.....	24
II. Régions de l'étude.....	24
II.1. Présentation de la région de Blida.....	24
II.2. Présentation des élevages.....	25
II.2.1. Les troupeaux.....	25
II.2.2. Conduites des troupeaux.....	26
II.2.3. Hygiène des troupeaux.....	26
III. Matériel et Méthodes.....	27
III.1. Durée de l'étude.....	27
III.2. Prélèvement des échantillons.....	27
III.3. Analyses bactériologiques.....	28
IV. Résultats bactériologiques et interprétations.....	30
V. Discussion.....	45
VI. Conclusion.....	50
VII. Recommandation.....	52
Bibliographie	
Annexes	

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau I:</u> La flore du lait cru.....	5
<u>Tableau II:</u> Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache.....	7
<u>Tableau III:</u> Caractéristiques biochimiques importantes communes à <i>Staphylococcus aureus</i> et à d'autres espèces de staphylocoques.....	10
<u>Tableau IV :</u> Les différents types de mammites et leurs symptômes.....	15
<u>Tableau V:</u> Caractéristiques des troupeaux étudiés.....	30
<u>Tableau VI:</u> caractéristique de conduites des troupeaux étudiés.....	31
<u>Tableau VII :</u> Information sur l'hygiène des troupeaux étudiés.....	32
<u>Tableau VIII:</u> pourcentage de la prévalence dans les fermes étudiées.....	34
<u>Tableau IX:</u> Résultats de la recherche des staphylocoques en fonction des fermes étudiées	35
<u>Tableau X-A:</u> Répartition des résultats selon l'âge.....	36
<u>Tableau X-B:</u> Pourcentage des résultats selon l'âge.....	36
<u>Tableau XI-A:</u> Répartition des résultats selon le niveau de la production lactée.....	37
<u>Tableau XI-B:</u> Pourcentage des résultats selon la production du lait.....	37
<u>Tableau XII-A :</u> Répartition des résultats selon le nombre de gestations.....	38
<u>Tableau XII-B:</u> Pourcentage des résultats selon le nombre de gestations.....	38
<u>Tableau XIII:</u> Répartition de la prévalence selon le stade de lactation.....	39
<u>Tableau XIV:</u> Répartition de la prévalence selon la race.....	40
<u>Tableau XV:</u> Pourcentage de la prévalence en fonction de la forme des trayons	41
<u>Tableau XVI:</u> Répartition de la prévalence selon le mode de la traite.....	42
<u>Tableau XVII:</u> pourcentage de la positivité selon la présence ou l'absence de la salle de traite.....	43
<u>Tableau XVIII:</u> pourcentage de la positivité selon la présence ou l'absence de la litière.....	44

LISTE DES FIGURES

Figure 1: technique d'analyse au laboratoire.....	29
Figure 2: prévalence de staphylocoques dans les fermes étudiées.....	34
Figure 3: Répartition des résultats selon les fermes	35
Figure 4: Répartition des résultats par groupe d'âge.....	36
Figure 5: Fréquence des résultats selon la production lactée.....	37
Figure 6: Fréquence des résultats selon le nombre de gestation.....	38
Figure 7: Répartition de la prévalence selon le stade de lactation.....	39
Figure 8: Fréquence de la prévalence selon la robe.....	40
Figure 9: Pourcentage de la prévalence en fonction de la forme des trayons.....	41
Figure 10: Pourcentage de la prévalence selon le mode de la traite.....	42
Figure 11: Répartition de la prévalence selon la présence ou l'absence de la salle de traite.....	43
Figure 12: pourcentage de la prévalence selon la présence ou l'absence de la litière.....	44
Figure 13 : conséquences du tarissement sur la sensibilité des mamelles aux infections.....	47

LISTE DES PHOTOS

<u>Photo 1:</u> La Pie noir.....	25
<u>Photo 2:</u> La Pie Rouge.....	25
<u>Photo 3:</u> technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique.....	28
<u>Photo 4:</u> Colonies de staphylococcus aureus isolées sur la gélose de Baird Parker.....	29

LISTE DES ABREVIATIONS

AVCQ-LAB: laboratoire d'analyse vétérinaire de contrôle de qualité, de conformité et de la recherche appliquée

Aw: activité de l'eau

DGAI: Direction générale de l'alimentation

FAO: Food and agriculture organization

IL 2: Intereukine-2

NCBP: Numération classique en boîte de Pétri

PCR: polymérase chain réaction

RPFA: Rabbit Plasma Fibrinogène Agar

TCR: T Cell Receptor

TIAC: Toxi-infections alimentaires collectives

TNF: Tumor Necrosis Factor

INTRODUCTION

Les récents épisodes sanitaires et médiatiques pouvant menacer la santé des consommateurs (crise de la vache « folle », épisodes de listériose...) ont conduit à une prise de conscience par le grand public des risques engendrés par les aliments. Les industriels ont donc du faire face à une demande accrue de sécurisation des produits alimentaires. Cela s'est traduit par une responsabilisation de tous les agents de la filière agroalimentaire, « de la fourche à la fourchette ».

En conséquence, des directives européennes ont été établies. Ainsi de nouvelles normes, plus précises, ont permis de fixer des seuils de salubrité des aliments afin de diminuer les risques. Toutes les filières agroalimentaires ont été touchées par ces directives, y compris la filière lait. En effet, le lait est un milieu propice à la multiplication de plusieurs contaminants (salmonelles, listéries, staphylocoques). Un contrôle bactériologique de ce produit est donc nécessaire, en particulier pour les transformations qui utilisent le lait cru.

L'organe de synthèse de se lait, la mamelle, est souvent sujet à des infections dues entre autres à des staphylocoques qui sont responsables d'une grande partie des mammites sub-cliniques (EICHER et *al*, 2002). Elles sont responsables de mammites cliniques avec des symptômes en général limités à la mamelle (légère inflammation du quartier, caillot dans le lait), sans atteinte de l'état général et dans quelques cas de mammites aiguës. Dans certains troupeaux on peut rencontrer des cas mortels (BLOOD et HENDERSON, 1976).

D'après FABRE et *al*, 1999, l'estimation des pertes de production d'un quartier en fonction de score CMT lors d'une mammite sub-clinique est de 9% à 43%.

Depuis le début des années 1980, *Staphylococcus aureus* est devenu le pathogène dominant, présent dans plus de 90% des troupeaux laitiers (LACASSE, 2007). Il synthétise de nombreuses protéines enzymatiques (hémolysine, Dnase, coagulase) responsables de ses possibilités de toxinogénèse (intoxication alimentaire).

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) à Staphylocoques sont plus souvent dues à un manque d'hygiène dans la préparation et la multiplication de certains aliments tel que le lait et les produits laitiers.

Afin d'obtenir une production de lait de qualité et pour diminuer le taux des toxi-infections alimentaires collectives à Staphylocoques, la santé de la mamelle, la manipulation de la machine à traire ainsi que la bonne gestion du lait doivent être maîtrisées ; Ce ci nous a motivé le choix de ce sujet.

Après avoir rappelé les connaissances actuelles sur le lait, les Staphylocoques, les intoxications alimentaires à Staphylocoques, nous avons effectué des prélèvements du lait puis des analyses bactériologiques afin d'identifier la prévalence des Staphylocoques, Les résultats obtenus sont ensuite analysés et discutés.

HISTORIQUE

- ✦ En 1871, date des premières études faites sur les staphylocoques, VON RECKLINHAUSEN met en évidence, dans les reins d'un homme mort de pyohémie, des coques qu'il nomme « microcoques » et en 1872, BIRCHIRSCHFELDT fait la même observation sur des gens victimes de la même maladie, mais cette fois-ci il isole les microcoques dans des abcès et dans le sang.
- ✦ En 1880, un chirurgien écossais, SIR ALEXANDER OGSTON, publia des données collectées et vérifiées avec soin qui montraient qu'un certain nombre d'infections purulentes humaines étaient dues à une bactérie cocciforme formant des grappes. Il appela cette bactérie *Staphylococcus* (*staphye* : grappe de raisin et *cocci* : grain ou baie ou œuf).
- ✦ Dans la même année(1880), SIR ALEXANDER OGSTON, montra que si l'on cultivait des organismes isolés à partir du pus de patients et qu'on les injectait à une souris, celle-ci développait les mêmes lésions que celle des maladies. En outre, il mit en évidence que si le pus était chauffé ou traité avec du phénol avant l'injection, la maladie ne se développait pas.
- ✦ En 1884, ROSENBACH réussit à cultiver des staphylocoques et à étudier leurs caractéristiques au laboratoire. Il observa deux types de colonies :
 - ✓ Des colonies orange qu'il nomma *staphylococcus pyogènes aureus* ;
 - ✓ Des colonies blanches qu'il nomma *staphylococcus pyogènes albus*.
- ✦ A la même année 1884, VAUGHAN et STREMBERG réalise le premier rapport des intoxications alimentaires causées par des staphylocoques.
- ✦ En 1914, BARBER montre que le lait de vache atteint de mammites staphylococcique pouvait causer de telles intoxication.
- ✦ En 1920, WINSLOW et *al*, placèrent le genre *staphylococcus* dans la famille des *Micrococcaceae*. Depuis lors, 35 espèces et 44 sous-espèces ont été décrites et la taxonomie continue à évoluer très rapidement.
- ✦ En 1930, DACK et *al*, montrent que la cause des intoxication alimentaires à staphylocoques était à une toxine filtrable qu'ils nommèrent entérotoxine (BRAIRD-PARKER, 1990).

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE

I

*Généralité sur le lait de
vache*

I.1. Définitions du lait cru

Le lait cru est un liquide opaque blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en β carotènes. Il a une odeur peu marquée, mais caractéristique. Son goût, variable selon les espèces animales, est agréable et douceâtre.

En 1909, le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini par le Congrès International de la Répression des Fraudes, comme étant le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum. (GOURSAUD, 1985) Très tôt l'accent fut mis sur la qualité sanitaire du lait et l'état de bonne santé des animaux, comme en témoigne cette définition.

La réglementation européenne réserve la dénomination "lait" exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ou soustraction. S'ils ne proviennent pas de l'espèce bovine, l'origine du lait et des produits laitiers doit être spécifiée : lait/fromage de chèvre, lait/fromage de brebis. (DAVID, et FORTE 1998).

I.2. Qualité du lait

Les contrôles de la qualité des produits, ne permettent pas d'assurer une qualité hygiénique suffisante des produits laitiers. Ce problème est amplifié par les conditions climatiques, car la chaleur et parfois l'humidité ambiante ne favorise pas la conservation du lait (HANAK, et al, 2002).

I.2.1. Qualité microbiologique

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. Il contient en principe peu de micro-organismes, lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 5 000 germes/ml et moins d'un coliforme/ml). Ce sont des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles. D'autres germes peuvent être présents dans le lait notamment lorsqu'il est issu d'un animal malade (agents de mammite, etc). Le lait peut également être contaminé au cours de la traite et des diverses manipulations par une multitude de micro-organismes. Ainsi la nature de la flore microbienne du lait cru est à la fois complexe et variable. Or les différents micro-organismes du lait influencent notablement par leurs activités respectives, leurs concurrences et leurs associations, la fabrication fromagère. (LARPENT, 1996).

Tableau I: La flore du lait cru(CELPC, 2000).

Flore banale	Microcoques Staphylocoques coagulase - Entérobactéries non toxigènes <i>Bacillus spp.</i> ...
Flore d'intérêt technologique	Bactéries lactiques et propioniques Corynébactéries (<i>Brevibacterium linens</i>) * Levures et moisissures (+ ou -) <i>Hafnia alnei</i>
Flore d'altération	Bactéries butyriques, coliformes... Psychrotrophes (<i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Aeromonas spp.</i>) Thermorésistants (<i>Bacillus spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i>) Virus
Flore pathogène	<i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella spp.</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Brucella spp.</i> <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> et <i>bovis</i>

I.2.2. Qualité physico-chimique

Depuis l'exploitation laitière qui le produit jusqu'à l'unité qui le transforme, le lait doit être l'objet de soins attentifs destinés à préserver ses qualités (voir tableau II). La qualité du lait collecté à la ferme peut être analysée selon les critères suivants :

- Qualité physique : le lait doit être exempt de toute impureté
- Qualité chimique : teneur en matière grasse, protéines, extrait sec dégraissé
- Qualité bactériologique : dénombrement de la flore microbienne du lait. Celle-ci doit être la plus faible possible
- Autres critères : dénombrement des cellules (leucocytes : indicateurs de mammites,..)(FRANÇOIS M, 1986)

A. L'apparence :L'opacité du lait est due à sa teneur en particules suspendues de matière grasse, de Protéines et de certains minéraux. La couleur normale varie du blanc au jaune en fonction de la teneur en carotène de la matière grasse. Le lait écrémé est plus transparent, avec une teinte légèrement bleutée. (BYLUND GOSTA, 2000).

B. PH : Le pH du lait d'une espèce donnée vari selon le stade de lactation, il diminue vers la fin du cycle suite à l'augmentation du taux de caséines et de phosphates chez la vache. (SINGH E, 1972).

C. Acidité titrable(Dornic) : Le lait présente une acidité qui peut être titrée par une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénophtaléine à 1 % comme indicateur coloré. Cette acidité est exprimée en degré dornic, c'est-à-dire en décigramme d'acide lactique par litre. Le mouillage du lait provoque une diminution de son acidité qui se situe normalement entre 15 et 18 °C pour un lait frais. (HAMAMA , 2002)

D. densité :La densité du lait est exprimée par le rapport du poids d'un volume de lait à une température donnée sur le poids d'un volume identique d'eau à la même température. Mais La méthode la plus rapide pour cette détermination est celle basée sur l'utilisation d'un thermo-lactodensimètre étalonné à 20 C°. (PIRISI A, 1994)

La densité du lait est un paramètre qui varie selon l'espèce, chez les brebis et chez la chamelle les valeurs de densité du lait sont respectivement de 1.0347et 1.0384. Par ailleurs, la densité moyenne est de 1.030 pour la chèvre qui est comparable à celle du lait de vache : 1.030 à 1.035. (BARABOSA et al ,1986)

E. la teneur en matière grasse :Plusieurs méthodes sont utilisées pour le dosage de la matière grasse, mais la technique acido-butyrométrique deGERBER (Méthodes de détermination du taux butyreux) reste la plus répandue car elle permet une mesure rapide et suffisamment précise. Cette méthode consiste en une attaque de lait par l'acide sulfurique et séparation, par centrifugation en présence d'alcool isoamylique et en utilisant des butyromètres gradués. (HAMAMA A ,2002)

Tableau II: Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache :

(Collection FAO Alimentation et nutrition n° 28/ 1998)

Constantes	Moyennes	Valeurs extrêmes
Energie (Kcal/litre)	701	587_876
Densité du lait entier ,20C°	1.031	1.028_1.033
pH à 20 C°	6.6	6.6_6.8
Acidité titrable (Dornic)	16	15_17
Point de congélation (C°)	1.6-2.1	-0.52_-0.55
Viscosité du lait à 20 C°	1.8	1.6_2.1
Point d'ébullition (C°)	-	100.71_100.15

I.3. Contrôle hygiénique du lait

Le contrôle d'hygiène du lait liquide s'impose pour que soit livrée aux consommateurs une boisson saine de haute qualité. Ce contrôle implique des examens nombreux et attentifs, quelle que soit la forme du produit fini, c'est-à-dire qu'il s'agisse de lait liquide, de crème ou d'autre produit fini ou sous-produits laitiers. Il doit porter sur la santé de la vache et sur celle du fermier, sur l'état de la ferme, la traite et le matériel de la traite, la livraison du lait à la laiterie, le traitement du lait et la livraison éventuelle au domicile des consommateurs (BARBER, 1942).

Depuis des années, la qualité hygiénique du lait liquide est codifiée et jugée d'après des tests de laboratoire. Il est d'usage dans l'industrie laitière d'évaluer l'efficacité du traitement et la qualité du lait par les résultats de ces tests effectués sur le produit aussitôt après la pasteurisation et le conditionnement. Les contrôles de laboratoire les plus courants sont : a) l'épreuve de la phosphatase, b) la numération classique en boîte de Pétri (NCBP) et c) le dénombrement des coliformes (JOHNS, 1953, 1955). Récemment, certains pays ont ajouté à ces tests de routine, un comptage des psychrophiles et certains contrôles de conservabilité sur le produit fini. Aux États-Unis et au Canada, les techniques de laboratoire destinées à évaluer la qualité hygiénique des produits laitiers ont été normalisées et exposées dans les Standard Methods For The Examination Of Dairy Products (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1960).

CHAPITRE
II

les staphylocoques

II.1. Caractéristique : classification, réservoir et source

Les staphylocoques appartiennent à la famille des *Micrococcaceae* et au genre *Staphylococcus*.

Ce sont des coques, immobiles et non sporulés, réunis en amas, aéroanaérobies facultatifs, Gram positifs, catalase positifs, oxydase négatifs (DE BUYSER, 1996).

La classification du genre *Staphylococcus* ne cesse d'évoluer. Ainsi, un grand nombre d'espèces a pu être identifié. Des sous espèces existent également.

Baird-Parker en 1974 a proposé une classification en trois espèces : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*. *Staphylococcus aureus* se distingue des deux autres espèces par la production d'une enzyme, la coagulase, dont l'association avec le « coagulase reacting factor » transforme le fibrinogène du plasma en fibrine

Le développement des techniques moléculaires (hybridation ADN/ARN) a permis d'affiner cette classification. Cependant, le critère de base reste la production de coagulase.

En 1997, une trentaine d'espèces ont été identifiées (BOURGEOIS et al, 1996). Trois sont productrices de coagulase. Ce sont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus*. La contamination des aliments reste peu probable pour *Staphylococcus intermedius*. Par contre, l'isolement de *Staphylococcus aureus* chez l'homme et les animaux et l'isolement de *Staphylococcus hyicus* chez de nombreuses espèces animales d'élevage rendent ces souches potentiellement dangereuses en santé animale et en hygiène alimentaire.

II.2. Propriétés

Au sein des staphylocoques à coagulase positive, certaines souches ont la possibilité, sous certaines conditions, de produire des entérotoxines responsables de toxi-infections alimentaires. Cette production suppose en outre la présence en quantité importante de germes dans l'aliment. Un dénombrement supérieur à 10⁵ UFC (unité formant colonie) par gramme d'aliment est en fait nécessaire (CHAUBEAU et al, 1992 ; BRISABOIS et al, 1997).

II.3. Caractéristiques

Les conditions de culture des staphylocoques, plus particulièrement celles de *Staphylococcus aureus* qui est l'espèce la plus fréquemment rencontrée dans les toxi-infections alimentaires staphylococciques (DE BUYSER et al, 1994 ; BRISABOIS et al, 1997).

- La température : *Staphylococcus aureus* est un germe mésophile. Il cultive de 6°C à 46°C. La température optimale est de 37°C.

- Le pH : *Staphylococcus aureus* cultive à un pH qui va de 4 à 9,8. Le pH optimal se situe entre 6 et 7.

- La teneur en sel : *Staphylococcus aureus* est un germe halophile qui supporte des taux de sel allant de 7 à 20%.

- L'activité en eau : *Staphylococcus aureus* tolère une activité en eau très réduite ($A_w = 0,83$).

- La concurrence bactérienne : les staphylocoques supportent mal la concurrence avec les lactobacilles acidifiants, les streptocoques et les entérobactéries. La pasteurisation, en réduisant la compétition bactérienne, favorise donc la multiplication des staphylocoques.

II.4. Exploration du caractère toxigène des staphylocoques

II.4.1. Isolement des souches à coagulase positive

Excepté la recherche directe des entérotoxines, aucun test simple ne permet de juger le caractère toxigène des souches de staphylocoques. Or la recherche de ces toxines est longue, coûteuse et encore difficile à réaliser.

Afin de juger de la qualité sanitaire des aliments, on se contente souvent de rechercher des caractères présomptifs de toxinogénèse par culture d'un échantillon d'aliment. Trois enzymes (coagulase liée, coagulase libre, thermonucléase) sont ainsi intéressantes à mettre en évidence.

La coagulase libre, active en quelques heures, coagule le plasma d'homme ou de lapin autour des colonies de cocci par transformation du fibrinogène en fibrine.

La coagulase liée, ou clumping factor, liée à la paroi des staphylocoques, provoque une agglutination du fibrinogène.

La thermonucléase se recherche sur milieu de Lachica, de couleur bleue. Les souches possédant cette enzyme provoquent l'apparition d'une auréole rosée autour des cocci.

La présence ou l'absence de ces différentes enzymes en fonction de l'espèce de staphylocoques est résumée dans le tableau suivant :

Tableau III : Caractéristiques biochimiques importantes communes à *Staphylococcus aureus* et à d'autres espèces de staphylocoques (DE BUYSER, 1996)

	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
Coagulase liée	+(1)	v(2)	-(3)	+	+
Coagulase libre	+	+	v	-	-
Thermonucléase	+	+	+	+	-
Entéro-toxines	v	v	-	-	-

(1) + : plus de 90% des souches sont positives.

(2) v : variable.

(3) - : plus de 90% des souches sont négatives.

Les staphylocoques produisant des toxines sont donc en général à coagulase libre positive et à thermonucléase positive. Compte tenu de l'existence de souches non entérotoxigènes à thermonucléase positive et de souches toxigènes dépourvues de coagulase liée, la recherche de la coagulase libre est primordiale.

Ainsi, les milieux couramment utilisés pour l'identification des staphylocoques (milieu de Baird Parker) ont été remplacés par des milieux mettant directement en évidence la coagulase libre (SU et al, 1997 ; CHAUBEAU et al, 1992).

Un milieu spécifique pour les produits laitiers a été élaboré. C'est le milieu Rabbit Plasma Fibrinogène Agar (RPFA). Ce milieu comprend du fibrinogène de lapin permettant directement de

mettre en évidence l'existence de la coagulase libre. Par comparaison avec le milieu de Baird Parker, la suppression du jaune d'œuf diminue le coût et l'identification des colonies à coagulase positive est facilitée. Ces dernières apparaissent plus grises, entourées d'un halo clair.

L'existence de cette coagulase libre n'est qu'un élément présomptif de la production de toxines. Originellement suffisante pour juger de la salubrité des aliments, elle se révèle désormais insuffisante dans la mesure où des études récentes ont montré que des souches de staphylocoques à coagulase négative isolées de laits de mammites de ruminants (ORDENet *al*, 1992) ou de laits de chèvres saines (VERNOZY et *al*, 1994 ; VERNOZY et *al*, 1996) ont la capacité de produire des entérotoxines.

Réglementairement, les directives européennes 92/46 et 94/71 imposent la réalisation de dénombrements de *Staphylococcus aureus* avant la mise sur le marché des produits au lait cru. La note de service DGAI N2001/n°8084 préconise de plus la recherche des entérotoxines lors de tout dépassement du critère M (valeur limite du nombre de bactéries accepté dans les échantillons alimentaires prélevés pour analyse bactériologique), plutôt en début de procédé (période de multiplication maximale).

En pratique, du fait de la lourdeur des techniques, les entérotoxines ne sont pas recherchées systématiquement. Les analyses portent le plus souvent sur le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive dans le produit fini. Cependant, ces dénombrements ne permettent pas de distinguer les souches de *Staphylococcus aureus* entérotoxinogènes des autres souches de *Staphylococcus aureus* non entérotoxinogènes. De plus, l'affinage des fromages entraîne le plus souvent une réduction de la population staphylococcique. Or si des toxines sont produites en début de procédé, elles peuvent être présentes en fin d'affinage. Ainsi des produits conformes en terme de dénombrements peuvent ainsi présenter un risque lors de la consommation.

Des modifications réglementaires sont envisageables. La recherche et le typage des toxines apparaissent comme indispensables.

II.4.2. Techniques de détection des entérotoxines et des séquences nucléotidiques codant pour leur production

Onze types d'entérotoxines sont actuellement connues : A, B, C (1, 2,3), D, E, G, H, I, J (BALABAN *et al*, 2000). Les plus fréquemment rencontrées sont les types A, B, C (1, 2,3), D. Le type A représente à lui seul 75% de toutes les toxi-infections alimentaires staphylococciques.

Une souche de staphylocoques peut produire deux ou trois types d'entérotoxines en même temps (BALABAN ET *al*, 2000). La quantité de toxine produite peut être très variable (BOURGEOIS *et al*, 1996).

Les conditions de toxinogénèse sont un peu plus restrictives que les conditions de culture des staphylocoques. Elles sont précisées ci-dessous pour *Staphylococcus aureus*. Conditions de toxinogénèse de *Staphylococcus aureus* :

Conditions de toxinogénèse de *Staphylococcus aureus* :

- Température : 10°C à 45°C (optimum 40°C)
- pH : 5 à 8 (optimum 6,5-7)
- Teneur en sel : 0 à 10% (optimum 0%)
- Aw : 0,86 à 0,99 (optimum 0,99)

La dose émétique minimale pour l'homme varie de 10 microgrammes à moins de 1 microgramme selon la sensibilité individuelle (Bourgeois *et al*, 1996). Cela implique donc l'utilisation de techniques de mise en évidence très sensibles. Différentes techniques permettent de mettre en évidence et d'identifier ces entérotoxines.

II.4.3. Caractéristiques des entérotoxines

Les entérotoxines sont des toxines de nature protéique, ayant un poids moléculaire allant de 27000 à 30000 Daltons. De petite taille, elles peuvent être difficiles à isoler dans le lactosérum.

Extrêmement stables, elles résistent à l'irradiation, aux enzymes protéolytiques et à la chaleur. Alors que les bactéries sont détruites par la pasteurisation, les entérotoxines ne sont que partiellement inactivées. Une étude réalisée à l'aide de toxines non purifiées à 100 ng/ml dans du tampon phosphate a montré qu'elles étaient complètement inactivées après chauffage à 120°C

pendant 20 à 40 minutes (BRISABOIS *et al*, 1997). Ainsi, si les bactéries peuvent disparaître le long de l'affinage d'un fromage, les entérotoxines peuvent persister.

CHAPITRE
III

*Habitat des staphylocoques
et contamination du lait
bovin*

III.1. Habitat des staphylocoques

S. aureus est retrouvé de manière naturelle dans les sites chauds et humides tels les muqueuses. Les mammifères ainsi que les oiseaux peuvent être porteurs au niveau des narines, du naso-pharynx, de la peau, du périnée, du tractus intestinal et génital. Les *S. aureus* peuvent survivre dans l'environnement pendant plusieurs mois, s'ils sont protégés de la sécheresse et de la dessiccation (STAPHYLOCOQUE DORE, 2008).

III.1.1. La source intra-mammaire

L'infection intra-mammaire à *S. aureus* peut débuter de deux façons: soit par des bactéries présentes sur l'épiderme du trayon qui colonisent le canal du trayon, soit par une migration ascendante de lait contaminé vers la glande mammaire. Cette dernière résulte la majorité du temps de pratiques de traite inadéquates. Par la suite, les bactéries se multiplient et gagnent la région supérieure de la mamelle (CUCARELLA et al, 2004).

III.1.1.1. Symptômes

L'infection mammaire peut prendre diverses formes suivant qu'elle soit associée ou non à des signes cliniques: on distingue les mammites cliniques associées à des symptômes inflammatoires et des infections subcliniques (GEDILAGHINE, 2005).

➤ Forme clinique :

C'est une infection mammaire avec la présence de symptômes fonctionnels et locaux : on observe une modification du lait dans son aspect, sa texture et dans la quantité produite, ainsi qu'une inflammation du ou des quartiers atteints avec rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur. Les ganglions retro mammaires peuvent être hypertrophiés. On parle alors de mammite aiguë. Dans certains cas, des symptômes généraux liés à l'intoxication et une bactériémie précoce s'ajoutent aux précédents : on parle de mammite suraiguë.

Selon les symptômes, la mammite est qualifiée de suraiguë, aiguë ou chronique (BERGONIER et al, 1997).

Tableau IV : Les différents types de mammites et leurs symptômes

Type de mammite	Mammite suraiguë ou gangréneuse	Mammite aiguë	Mammite chronique
Symptômes généraux	Abattement marqué, hyperthermie en début d'évolution	Abattement, hyperthermie (40°C)	Absence
Symptômes locaux	Douleur, chaleur, induration, pis bleu et froid	Douleur (boiterie), rougeur, induration	Déséquilibre du pis, induration nodulaire, Hypertrophie des nœuds lymphatiques
Symptômes fonctionnels	Sécrétion sanieuse avec quelques grumeaux en suspension, peu abondante	Lait plus clair avec de nombreux grumeaux en suspension	Absence de modifications macroscopiques

➤ **Forme subclinique :**

C'est une infection mammaire asymptomatique. Le lait n'est pas modifié ou on note seulement une présence de quelques grumeaux en début de traite, lors des premiers jets. On n'observe aucune inflammation du quartier. Les germes responsables sont essentiellement Grampositifs, mais on peut aussi rencontrer des mammites subcliniques à entérobactéries. Ces mammites sont détectées par les examens complémentaires, et surtout par les résultats des comptages cellulaires individuels fournis par la laiterie ou le contrôle laitier. Elles peuvent résulter d'une infection primaire ou être secondaires à une mammite aiguë non totalement guérie bactériologiquement. Elles sont beaucoup plus fréquentes que les infections cliniques, plus insidieuses car difficilement détectables.

III.1.1.2. Etiologie

Ce germe est présent partout à la surface de la peau et des muqueuses et en particulier au niveau des trayons (DUREL et al, 2004 ; VAN DE LEEMPUT, 2007). Toutes lésions de ces derniers, favorisent sa multiplication. *Staphylococcus aureus* est résistant dans le milieu extérieur. Il peut, s'il y a un défaut d'hygiène au moment de la traite ou un dysfonctionnement de la machine à traire, se retrouver dans les gobelets trayeurs (sur le caoutchouc et ses fissures et dans le lait résiduel restant dans les manchons après la traite). La contamination d'une vache à une autre, se réalise par ceux-ci, par les mains du trayeur ou des lavettes. Après pénétration dans le canal du trayon, il envahit les

canaux galactophores et colonise rapidement les cellules épithéliales (des 24 heures)(SALAT, 2007).

III.1.1.3. Epidémiologie

Parmi les staphylococcus à coagulase positive, seules les souches productrices d'enterotoxines sont impliquées dans une intoxication alimentaire. Etant donné que le staphylococcus aureus est le majeur contaminant des aliments, cela explique qu'il est le seul impliqué dans des TIA (au sens large).

Le principal réservoir de staphylococcus aureus est la peau et les muqueuses de l'homme, qu'il soit malade ou bien portant puisqu'on trouve, parmi les sujets indemnes de toute infection 30 à 50% de porteurs sains. Il est isolé au niveau du nez et la gorge, mais aussi sur les mains, le périnée, et l'intestin (BERCHE et al, 1991).

III.1.2. La source cutanée

La peau, les fosses nasales, l'oropharynx des animaux sains sont fréquemment colonisés par les staphylocoques.

Ces germes étant des pathogènes opportunistes, diverses agressions cutanées (traumatiques, hygiéniques) participent au développement de différentes entités pathologiques.

La dermatite staphylococcique est couramment rencontrée en élevage bovin et ovin (SCOTT et al, 1991 ; GOURREAU, 1995). Différentes souches de staphylocoques à coagulase positive ont été isolées et rendues responsables de pyodermites.

Les lésions cutanées associées sont plus ou moins profondes et se localisent sur la tête, l'extrémité des membres, sous le ventre et sur la mamelle.

Une atteinte de l'épiderme est responsable d'un impétigo qui se traduit par l'existence de papulopustules entourées d'une auréole inflammatoire. Une fois déprimées et ulcérées, ces lésions laissent place à des croûtes brunâtres. Cet impétigo se rencontre surtout sous le ventre, sur la face interne des cuisses et sur la mamelle. Sur cette dernière, les papulopustules peuvent être nombreuses (plusieurs dizaines) et présentes jusqu'à l'extrémité des trayons.

Une atteinte du derme et de l'hypoderme est responsable de l'apparition de folliculites et de furoncles. Localisées au niveau mammaire à la base des trayons et entre les quartiers, ces lésions plus importantes et plus profondes que les précédentes peuvent être associées à une atteinte de l'état général.

Cette description des lésions ainsi que leur localisation, en particulier au niveau mammaire, traduit bien la possibilité de contamination de l'environnement d'une part, mais également du matériel de traite et par voie de conséquence du lait. Cette source de contamination du lait est d'autant plus importante que cette staphylococcie survient habituellement deux à trois semaines après les mises bas, ce qui correspond en général au début du passage en salle de traite. Une limitation de l'extension des lésions et de la contagion passe en particulier par la réalisation d'une antisepsie des trayons après la traite.

III.1.3 La source environnementale

Ubiquistes, les staphylocoques ont la possibilité de survivre voire de se multiplier sur différents sites. Par voie de conséquence, tout support en contact avec des animaux est susceptible d'abriter des colonies staphylococciques et d'entretenir la circulation de ce germe dans l'élevage.

Ainsi le matériel de traite (en particulier les manchons-trayeurs), le matériel d'élevage, la litière, les aliments, l'eau, l'air, les insectes et les hommes qui manipulent les animaux peuvent être sources de staphylocoques.

Peu d'études ont essayé d'apprécier le véritable rôle de cette source environnementale. Cependant, elle a été incriminée dans plusieurs foyers de toxi-infections alimentaires collectives. On peut ici citer une toxi-infection alimentaire staphylococcique qui a touché vingt personnes en mai 1983 (DE BUYSER *et al.*, 1985). L'enquête épidémiologique a alors montré que l'aliment en cause était un fromage de brebis au lait cru contaminé par des staphylocoques présents sur les mains du berger. Ce dernier était en fait un porteur sain.

En 1993, toute une série de prélèvements ont été réalisés au sein de 7 élevages bovins lait situés dans l'état de Washington (ROBERSON *et al.*, 1994). Quatre de ces élevages avaient une prévalence de mammites à staphylocoques coagulase positive supérieure à 10% et 3 présentaient une prévalence inférieure à 3%.

Outre les sources mammaires et cutanées, une exploration de la source environnementale a été effectuée. Des prélèvements ont eu lieu au niveau du logement des animaux, des aliments, de l'air, de différents équipements, des personnes en contact avec les bovins, des insectes et d'autres animaux de la ferme. Même si les résultats confirment le rôle majeur de la source mammaire, il est important de signaler que l'ensemble des sites environnementaux explorés dans cette étude ont permis d'isoler des staphylocoques. Une différence entre les deux catégories d'élevage sélectionnées a même pu être observée. Ainsi 3,1% des prélèvements, hors bovin, des élevages à forte prévalence de mammites à staphylocoques se sont révélés positifs. Dans les élevages à faible prévalence ce pourcentage n'a été que de 1,1%. Ces résultats ont donc montré une relation positive entre le nombre de mammites à staphylocoques et la présence de ce germe dans l'environnement.

La source environnementale ne peut donc pas être ignorée et des études complémentaires doivent confirmer ces conclusions.

III.2. Contamination du lait bovin

La contamination se fait en plusieurs étapes. Chacune est soumise à différents facteurs de variation qui influencent sur l'intensité de l'infection.

D'après LARPENT (1997), le lait au cours de la traite, du transport et stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de micro-organismes. Les principales sources de contamination sont les suivantes :

- La vache : la mamelle, surtout par les premiers jets lors de la traite mais particulièrement s'il y a mammites, les fèces, l'urine et la peau.
- L'homme, lors de la traite ou des manipulations : les petites blessures sur les mains transmettent les staphylocoques. Lorsque les mains sont sales, il y a contamination fécale.
- Le matériel de récolte, de collecte, de transport, de traitement, de conditionnement est la cause de contamination la plus importante.
- Le milieu ambiant : l'air, la litière, la nourriture. Ainsi, il faut éviter de donner du foin juste avant la traite (CHRISTIAN JEAN-PIERRE, 1999).

CHAPITRE
IV

*Les toxi-infections
alimentaires
staphylococciques*

IV.1. Les intoxications

IV.1.1. Les symptômes

La toxi-infection alimentaire d'origine staphylococcique, appelée également « maladie des banquets », se caractérise par un temps d'incubation très court. Les symptômes apparaissent en moyenne deux à trois heures après l'ingestion de l'aliment contaminé (CHAUBEAU *et al*, 1992).

La symptomatologie est la suivante : nausées, vertiges, céphalées suivis rapidement par des vomissements incoercibles. Si des aliments ont le temps de progresser jusque dans l'intestin grêle, une diarrhée hydrique accompagnée de douleurs intenses est associée aux vomissements.

Après une réhydratation par voie orale, la récupération est bonne et rapide (environ 24 heures). Une hospitalisation peut être nécessaire si des enfants ou des personnes âgées, plus sensibles à une déshydratation, sont touchés. La mortalité est exceptionnelle.

D'un point de vue pathogénique, même si les modalités d'absorption intestinale restent peu connues, le mode d'action des entérotoxines est bien compris.

Les entérotoxines possèdent deux zones fonctionnelles distinctes (BALABAN *et al*, 2000 ; POPOFF, 1996).

Une zone est responsable d'une action neurotoxique. Elle entraîne une stimulation des terminaisons du nerf vague présentes au niveau du tube digestif et est responsable de l'effet émétique.

L'autre zone est responsable d'une action immunotoxique. Les toxines jouent le rôle de superantigènes et sont à l'origine d'une cascade de réponses immunitaires.

Contrairement à la réponse immunitaire classique et hautement spécifique, les entérotoxines, en temps que superantigènes, peuvent interagir de façon non spécifique avec un grand nombre de lymphocytes T. L'activation des cellules suppose simplement une reconnaissance des superantigènes par la chaîne beta des T Cell Receptor (TCR) présents sur la membrane des lymphocytes T par et les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité présentes à la surface des cellules présentatrices d'antigènes notamment les macrophages. Il s'en suit une libération excessive de cytokines (IL 2, TNF) à l'origine des nausées et des vomissements.

Bien que séparées sur la protéine, ces zones semblent fonctionner en corrélation. Une perte de l'activité superantigène, par exemple lors de mutation génétique, est responsable d'une perte de l'activité entérotoxique.

IV.1.2. Importance en France

En 1999 et 2000, 1267 foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ont été recensés conjointement par les services des Directions des Services Vétérinaires et des Directions Départementales des Affaires Sanitaires et Sociales (HAEGHEBAERT et al, 2002).

L'importance relative de chacun des agents responsables de toxi-infections est la suivante (HAEGHEBAERT et al, 2002):

- Salmonelles : 63,8%
- *Staphylococcus aureus* : 16%
- Autres pathogènes indéterminés : 8,5%
- *Clostridium perfringens* : 5,1%
- Histamine : 3,8%
- *Bacillus cereus* : 2,8%

Les TIAC à *Staphylococcus aureus* occupent donc le deuxième rang derrière les salmonelles.

Ce classement confirme une étude rétrospective de 2947 foyers déclarés de 1988 à 1995 (DE BUYSER, 1997). On note cependant une légère diminution du nombre de foyers de TIAC à salmonelles au profit d'autres germes tels *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus* (HAEGHEBERT et al, 2002).

Durant les années 1999 et 2000 c'est en fait 85 foyers de TIAC à staphylocoques qui ont été identifiés. Cela représente 1651 personnes malades avec un taux d'hospitalisation de 15,3%. Aucun décès n'a été enregistré (HAEGHEBERT et al, 2002).

68% des TIAC staphylococciques déclarées en 1999 et 2000 sont survenues en restauration collective et 32% sont survenues en foyers familiaux. Les TIAC survenues en restauration collective ont été à l'origine de 84,9% des malades.

Cette différence de pourcentages montre une prédominance de la restauration collective dans le nombre de foyers et par voie de conséquence dans le nombre de personnes malades. Cette inégalité peut en partie s'expliquer par une très bonne déclaration des cas survenus en restauration collective. Ceci est d'autant plus vrai qu'avec un temps d'incubation très court, les personnes sont souvent encore ensemble lors de l'apparition des premiers symptômes. Au contraire, le nombre de foyers familiaux doit être sous estimé. En effet, avec une symptomatologie très impressionnante mais avec une récupération rapide dans la majorité des cas, le recours à la consultation d'un médecin ou à une hospitalisation est faible.

IV.1.3. Les produits incriminés – Importance des produits laitiers

Les produits incriminés sont très variés. En France, durant les années 1999 et 2000, les aliments incriminés ou suspectés se sont répartis de la façon suivante :

- Aliments d'origine non animale ou mixte : 20,4%
- Lait et produits laitiers : 17,1%
- Viandes : 11,6%
- Charcuterie : 8%
- Poissons, fruits de mer, coquillages : 5,8%
- Œufs et produits à base d'œufs 5,8%
- Volailles : 5,1%
- Eau de boisson : 0,4%

Cependant, dans un quart des foyers de TIAC staphylococciques survenus au cours de ces deux années, l'aliment responsable n'a pas pu être retrouvé.

Ce classement montre bien l'importance des produits laitiers et des plats ayant nécessité des manipulations dans la survenue de ce type de toxi-infection. Ainsi, avec près de 5% des produits incriminés ou suspectés dans les foyers de TIAC déclarés en 1999 et 2000, les produits laitiers sont peu concernés. Cependant, les staphylocoques sont, et de loin, le plus souvent mis en cause lorsqu'un produit laitier est suspecté (75% des foyers).

IV.1.4. Les entérotoxines identifiées

D'un point de vue qualitatif, une étude qui a utilisé 52 échantillons d'aliments incriminés dans des TIAC à staphylocoques de 1986 à 1996 (DE BUYSER et *al*, 1997) a montré que l'entérotoxine A, seule ou associée, était la plus couramment mise en évidence. Ainsi, l'entérotoxine de type A a été détectée dans 70% des échantillons, les entérotoxines de type C et D dans 20% et l'entérotoxine de type B dans 16%.

Si l'on s'intéresse aux 13 échantillons issus de produits laitiers et de lait, 5 ont permis d'isoler l'entérotoxine A, 2 ont permis d'isoler l'entérotoxine B, 2 ont permis d'isoler l'entérotoxine C, 1 a permis d'isoler l'entérotoxine D, 2 ont permis d'isoler les entérotoxines A et C, 1 a permis d'isoler les entérotoxines A à E.

En conclusion, les staphylocoques sont le plus souvent suspectés lorsqu'un produit laitier est incriminé dans un foyer de TIAC (DE BUYSER et *al*, 1996). Les procédés de fabrication de différents produits, tels les fromages à pâte molle, peuvent être favorables au développement de *Staphylococcus aureus* (MEYRAND et *al*, 1999). L'utilisation de ferments lactiques performants et de la pasteurisation peuvent permettre un contrôle de la multiplication de ce germe. Cependant différentes appellations d'origine contrôlée utilisent le lait cru et interdisent la pasteurisation. Le lait doit donc être d'une très bonne qualité bactériologique.

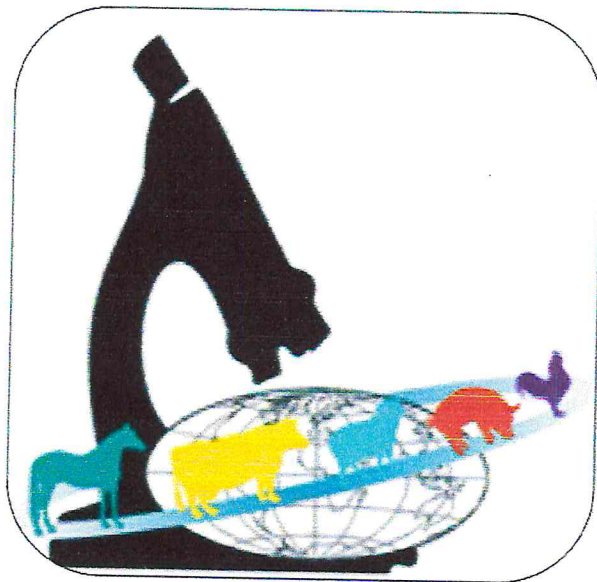
Plus que la qualité bactériologique, et compte tenu d'une présence possible d'entérotoxines dans un aliment en l'absence de staphylocoques (MEYRAND et *al*, 1999), la norme bactériologique et réglementaire relative à *Staphylococcus aureus* devrait être remplacée par la recherche des entérotoxines. La maîtrise de la sécurité des produits laitiers à base de lait cru serait ainsi renforcée. Après avoir présenté les caractéristiques générales des staphylocoques, leurs conditions de toxinogénèse et leur implication dans des toxi-infections alimentaires collectives, une étude des différentes sources en élevage bovin laitier est présentée dans la partie suivante.

IV.2. Impacte des intoxications alimentaires dues à *Staphylococcus aureus* sur la santé humaine

Cet impacte est lié à la production dans l'aliment contaminé d'entérotoxines. Toutes les souches de *S. aureus* ne possèdent pas ce pouvoir entérotoxigène. Cette proportion est plus élevée pour les souches d'origine humaine qu'animale.

Quelque heures après l'ingestion de l'aliment contaminé, les symptômes de la toxiinfection sont des vomissements, des diarrhées et des douleurs musculaires. *S. aureus* est le deuxième agent responsable de TIAC en France: 16% des foyers identifiés en 1999-2000, d'après HAEGHEBAERT et *al.* (2002). Les aliments le plus souvent incriminés sont les produits laitiers et les plats ayant nécessité une manipulation.

PARTIE
EXPERIMENTALE



Introduction

Les infections mammaires constituent l'une des pathologies les plus coûteuses en élevage bovin laitier du fait principalement d'une baisse de production laitière et de sa qualité. Afin d'obtenir une production de lait en quantité comme en qualité la santé de la mamelle doit être maîtrisée.

I. Objectifs de l'étude

Les objectifs de cette étude sont :

- ❖ D'abord, la recherche des staphylocoques dans les échantillons de lait prélevés afin de déterminer leur prévalence dans les élevages bovins étudiés.
- ❖ Ensuite, d'interpréter les résultats d'un questionnaire pour objectif général d'explorer les sources majeurs de contamination du lait et leurs répercussions sur la santé humaine.
- ❖ Enfin, de proposer des mesures qui visent à corriger et d'améliorer la qualité hygiénique du lait bovin.

II. Régions de l'étude

II.1. Présentation de la région de Blida

Blida est distante de 50 km de la capitale algérienne, et consiste une ville doublet d'Alger. Elle est la 5e ville du pays par la taille. La ville de Blida est située au pied du versant nord de l'Atlas blidéen et au Sud de la plaine de la Mitidja, à une altitude de 260 mètres. Elle est localisée sur un cône de déjection construit par l'oued Roumman-El Kebir.

L'Atlas tellien protège la ville des vents secs du sud en provenance des Hauts Plateaux. Cette protection permet à la région de bénéficier d'un climat méditerranéen propice à l'agriculture.

Les températures moyennes et de 25C° en août et 12C° en janvier. Superficie agricole totale est considérable.

La production végétale est importante : ce sont les céréales, les cultures fourragères et les maraichères qui dominent.

II.2. Présentation des élevages

Nous avons assisté au moins une fois à la traite dans chacun des élevages afin de nous rendre compte des conditions d'ambiance et des méthodes de traite.

A partir du questionnaire (composé des questions posées oralement à chaque éleveur au cours d'un entretien) rempli par nous-même. Les résultats sont regroupés dans les tableaux de l'annexe 1 et 2 et les tableaux V, VI, VII.

II.2.1. Les troupeaux

L'élevage bovin est basé essentiellement sur deux races (Pie Noir et Pie Rouge), la Pie Noir est de hauteur moyenne au garrot de 1,17 mètre et son poids est en moyenne de 450 kg. Sa robe est "Pie Noire" (en référence à l'oiseau) : blanche et noire. Cette race a de nombreuses qualités. Pour une petite taille, cette race est une très bonne laitière. Sa longévité et sa fécondité sont étonnantes. Elle vêle sans aide. Elle est également appréciée pour la qualité de sa viande. La Pie rouge est une vache laitière de grand format, avec une aptitude à prendre du muscle en fin de lactation. La taille moyenne au garrot est de 143 à 147 cm. Le poids d'une femelle est de 800kg. Cette race bien charpentée et bonne laitière, est dite mixte (lait et viande). Elle a une mamelle adaptée à la traite mécanique (photo 1 et 2).



Photo 1: La Pie noir (photo personnelle).



Photo 2: La Pie Rouge (photo personnelle).

II.2.2. Conduites des troupeaux

Les caractéristiques de la conduite des troupeaux étudiés sont basées sur la répartition des vêlages, l'âge moyen au vêlage, le type de stabulation ainsi que la présence ou l'absence de la salle de traite et le nombre de traite par jour avec bien sur la base de la ration alimentaire des vaches en lactation.

II.2.3. Hygiène des troupeaux

Le niveau de propreté des vaches est un indicateur des conditions d'hygiène et d'entretien du troupeau qui ont des conséquences sur la santé des animaux et par conséquence la qualité du lait (CORONEL, 2005).

Ainsi que la propreté des vaches est un moyen pour la lutte contre la contamination du lait. Le danger de contamination bactériologique du lait est plus élevé avec des animaux sales (HEDOUIN, 2003).

Les conditions d'hygiéniques des troupeaux sont basées généralement sur l'hygiène de la mamelle avec présence ou non des lésions, lavage et désinfection de la machine à traire et sur la nature de la litière.

III. Matériel et méthodes

III.1. Durée de l'étude

Les prélèvements du lait ont été réalisés en plusieurs reprises (20): les 08 premiers au mois de juin 2013 pour être analysés le lendemain, les restes (12) au mois de novembre de même année.

III.2. Prélèvement des échantillons

Au cours des opérations de prélèvement du lait, nous avons évité au maximum les courants d'air et les manipulations de fourrages ou aliments farineux qui pourraient soulever la poussière et contaminer le lait. La démarche que nous avons adoptée est la suivante :

- Nettoyage et désinfection des mains.
- Nettoyage de la mamelle et beaucoup plus insisté sur les trayons et leurs extrémités, avec de l'eau tiède javellisée et une éponge.
- Essuyage avec du papier hygiénique.
- Désinfection de l'extrémité du trayon en insistant à nouveau sur la zone de l'orifice à l'aide d'alcool à 70%.
- Prélever pendant la récolte 10 à 20 ml de lait dans chaque flacon stérile, le flacon est maintenu incliné de façon à éviter la pénétration des poils, on prend alors dans la main gauche le flacon préalablement stérilisé et on le débouche avec la main droite, on prend le bouchon dans la main gauche et on le maintient la face interne dirigée vers le bas. On tire alors de la main droite les jets nécessaires. Eviter que le lait n'entre en contact avec le bord interne de la main et aussi les éclaboussures (boue, d'autres matières qui pourraient souiller le flacon), le bouchon et la main.
- Etiqueter immédiatement chaque flacon par apport à la vache.
- Le flacon est immédiatement refermé dans une glacière à 4°C.

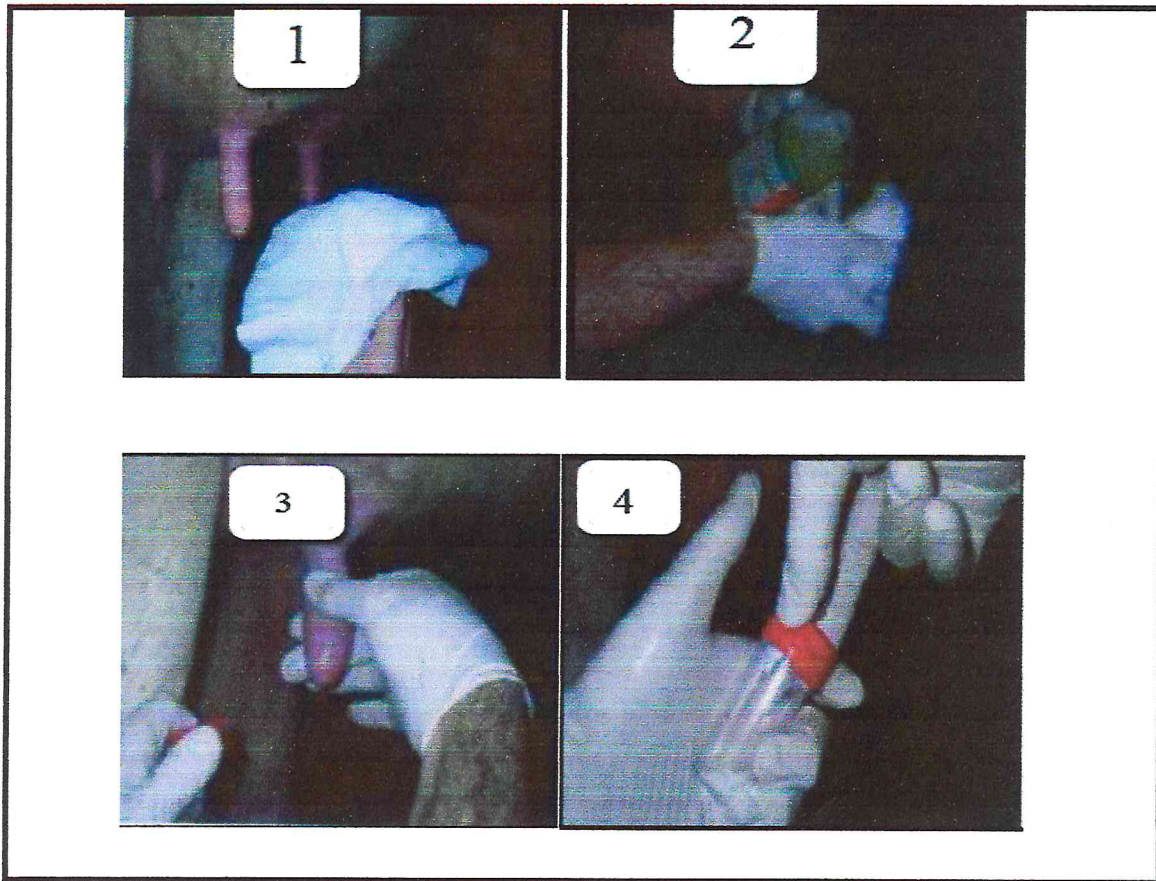


Photo 03: technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique (photo personnelle).

III.3. Analyses bactériologiques

Matériel utilisé :

Il s'agit en somme, des équipements classiques d'un laboratoire usuel de bactériologie alimentaire (cité en annexe 5).

Milieu de culture :

Nous avons utilisé le milieu gélosé de Baird Parker (La présence de pyruvate de sodium qui est un stimulant de croissance des *Staphylococcus aureus*).

Mode opératoire :

- ✓ A l'aide d'une pipette stérile, 0,1 ml de lait a été déposé sur le milieu de Baird Parker.
- ✓ Nous avons effectué les dilutions : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , avec l'utilisation d'une nouvelle pipette stérile à chaque dilution.

- ✓ Avec un étaleur stérile, nous avons étalé le plus rapidement possible, l'échantillon et les dilutions déposées à la surface du milieu de culture.
- ✓ Les boîtes seront incubées couvercle en haut à 37°C pendant 24 heures à 48 heures.
- ✓ Après incubation, nous avons marqué des colonies de couleur noire sur le fond des boîtes, donc ils sont considérés comme positifs.

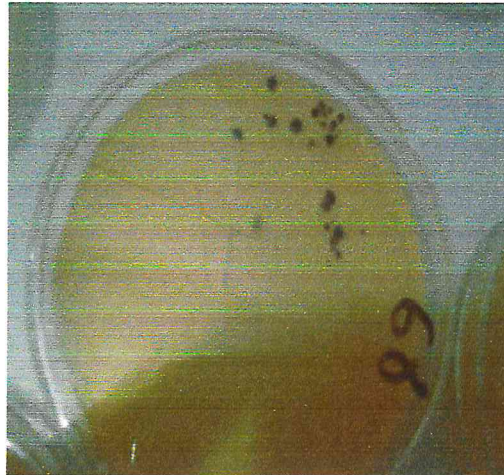


Photo 4: Colonies de staphylococcus aureus isolées sur la gélose de Baird Parker (photo personnelle).

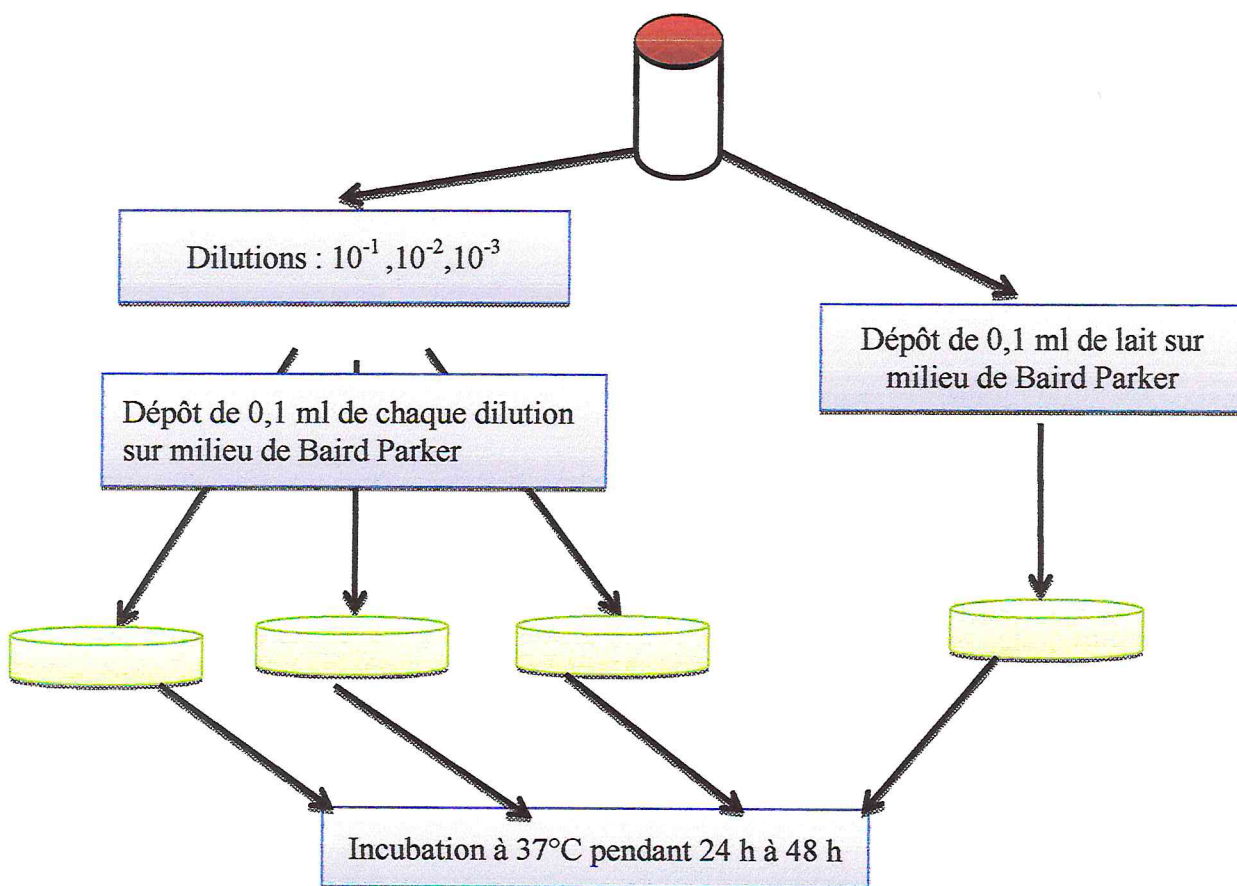


Figure 1: technique d'analyse au laboratoire.

IV. Résultats bactériologiques et interprétation

IV.1. Résultats d'enquête

IV.1.1. Caractéristiques des troupeaux étudiés

Les caractéristiques des troupeaux étudiés sont représentées dans le tableau N° V ci-dessous :

Tableau V: Caractéristiques des troupeaux étudiés.

N°d'exploitation	Production moyenne par vache par jour (l/j)	Quota de lait produit (l/j)	Effectifs prélevés	Robes	Races
I	20	60	3	PN+PR	Hol+Mob
II	15	120	8	PN+PR	Hol+Mob
III	17	120	7	PN+PR	Hol+Mob
IV	14	540	39	PN+PR	Hol+Mob
V	12	35	3	PN+PR	Hol+Mob

PN : pie Noire.

PR : pie rouge.

Rég : région.

Fer : ferme.

Hol : Holstein.

Mob : Montbéliard.

IV.1.2. Conduite des troupeaux

Les caractéristiques de la conduite des troupeaux étudiés sont représentées dans le tableau VI ci-dessous.

Tableau VI: caractéristique de conduites des troupeaux étudiés

N° d'exploitation	Répartition des vêlages.	Age moyen au vêlage. (ans)	Type de stabulation	La traite		La ration alimentaire des vaches en lactation
				Salle de traite	Nombre de traite /j	
I	Sur toute l'année	2.5	Semi entravé	Absence	2fois/j	Paille + foins + herbe.
II	//	2.5	//	Présence	//	Paille + foins + herbe + grain de blé.
III	//	2.5	//	Présence	//	Trèfle + paille + concentrés + herbe + aliment (CMV, maïs, soja).
IV	//	3	//	Présence	//	Foins paille + concentrés + herbe + grain de blé.
V	//	2.5	//	Absence	//	Paille + foins herbe.

IV.1.3. Hygiène des troupeaux

Les conditions hygiéniques des troupeaux étudiés sont représentées dans le tableau VII ci-dessous.

Tableau VII : Information sur l'hygiène des troupeaux étudiés

N° d'exploitation	Mamelle		Machine a traite		Nature de litière	
	hygiène	Présence des lésions	Lavage	Désinfection	Epaisseur	Fréquence de changement
I	Lavage avec l'eau.	Oui, sur une.	Avec l'eau 2 fois/J.	Non.	Absence.	/
II	≡I-A	Non.	≡I-A	Non.	Absence.	/
III	Lavage avec l'eau + eau de javel.	Non.	Avec l'eau + eau de javel : 2 fois/J.	Oui.	Absence.	/
IV	≡I-A	Oui, sur la plupart.	≡I-A	Non	Absence.	/
V	≡I-A	Non.	≡I-A	Non.	Absence.	/

N.B : ≡ (identique).

IV.2. Résultats bactériologiques

- ❖ Dans notre étude, nous avons évalué la contamination du lait par les staphylocoques (chercher des cas positif).
- ❖ Les variables étudiées sont les suivantes :
 - L'origine des prélèvements ;
 - L'âge ou nombre de lactation ;
 - Le stade de lactation ;
 - Le niveau de production du lait ;
 - La race ;
 - La forme des trayons ;
 - La présence ou l'absence de la litière et de la salle de la traite ;
 - La modalité de la traite.
- ❖ Par ailleurs, de nombreuses difficultés d'ordre technique notamment le manque de matériel consommable nous ont empêché de mener notre travail comme nous l'aurions souhaité.

IV.2.1. Résultats globaux

Pendant la durée de l'enquête, 60 prélèvements ont été effectués sur 60 vaches et ont fait l'objet d'un examen bactériologique pour la recherche des staphylocoques.

Sur ces 60 prélèvements nous comptons :

- ✓ 40 (soit ; 64,67%) prélèvements pour lesquels aucune culture n'a été obtenue.
- ✓ 20 (soit ; 33,33%) prélèvements pour lesquels la recherche des staphylocoques est positive.

N.B. Ces résultats bactériologiques sont résumés dans le tableau (cité en annexe-4-).

IV.2.2. Etude descriptive et analytique

IV.2.2.1. Taux de contamination

Le taux de positivité de la recherche des staphylocoques dans le lait des vaches prélevées est de 33,33%, alors que la négativité est de 66,67% (tableau VIII et figure 02).

Tableau VIII: pourcentage de la prévalence dans les fermes étudiées.

Prélèvement	Nombre	%
Résultats positifs	20	33,33
Résultats négatifs	40	66,67
Total	60	100

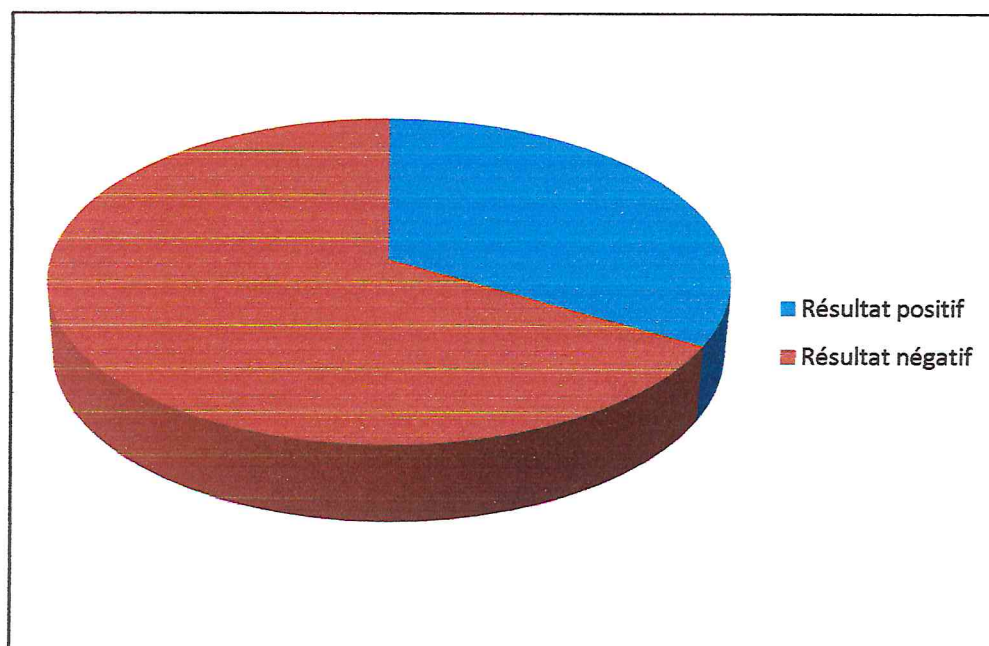


Figure 2 : prévalence de staphylocoques dans les fermes étudiées.

- ✓ Pour 33,33%(soit20/60) des prélèvements, le lait est contaminé par les staphylocoques.
- ✓ Pour 66,67% (soit 40/60) des prélèvements du lait, les résultats de la recherche des staphylocoques sont négatif.

IV.2.2.2. Répartition des résultats suivant l'origine des prélèvements

Dans notre étude, nous avons effectué des analyses bactériologiques sur des échantillons de lait prélevé dans les 05 fermes, et les résultats obtenus sont consignés dans le tableau IX et figure 03:

Tableau IX: Résultats de la recherche des staphylocoques en fonction des fermes étudiées.

N° d'exploitation	Nombre de prélèvements (+)	Nombre de prélèvements (-)	Total
I	2	1	3
II	4	4	8
III	5	2	7
IV	7	32	39
V	2	1	3
Total	20	40	60

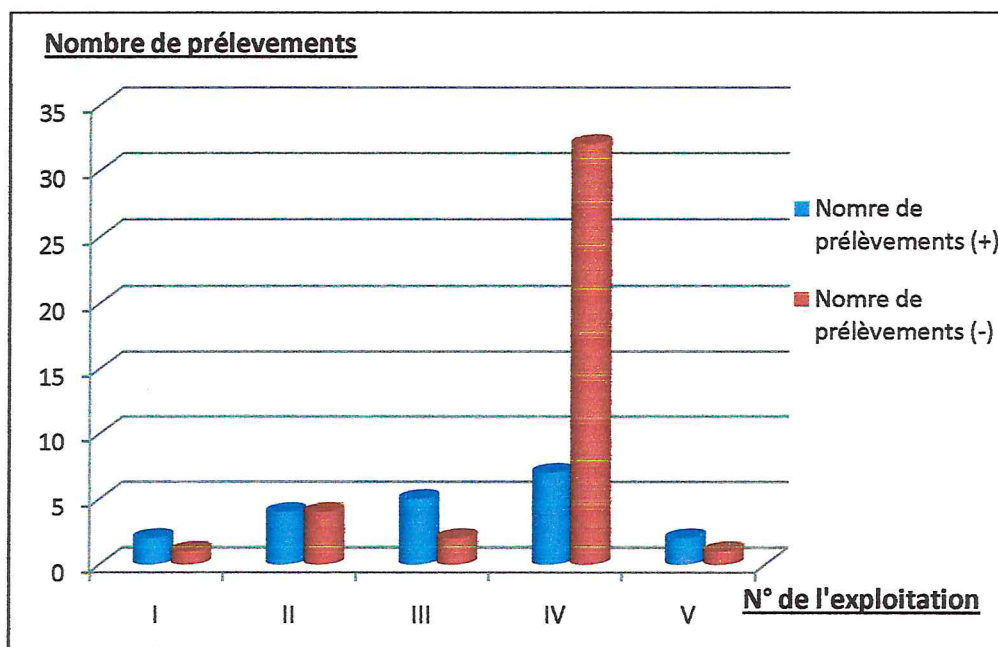


Figure 3: Répartition des résultats selon les fermes.

- ✓ Le taux de positivité le plus élevé est observé dans l'exploitation N° III (5/7). Alors que le taux le plus faible est observé de l'exploitation N° IV (7/39).

IV.2.2.3. Répartition des résultats selon l'âge

D'après les tableaux et la figure ci-dessous, la fréquence la plus élevée est observée dans la tranche d'âge des 5-7ans avec presque une même fréquence dans la tranche 7-11 ans.

Tableau X-A: Répartition des résultats selon l'âge

Age (ans)	Nombre de prélèvements Positifs (+)	Nombre de prélèvements Négatifs (-)	Total
[1 – 3 [0	3	3
[3 – 5 [11	21	32
[5 – 7 [6	10	16
[7 – 9 [2	4	6
[9 –11[1	2	3

Tableau X-B: Pourcentage des résultats selon l'âge

Age (ans)	% (+)	% (-)	Total (%)
[1 – 3 [0,00	100,00	100
[3 – 5 [34,37	65,63	100
[5 – 7 [37,50	62,50	100
[7 – 9 [33,33	66,67	100
[9 –11[33,33	66,67	100

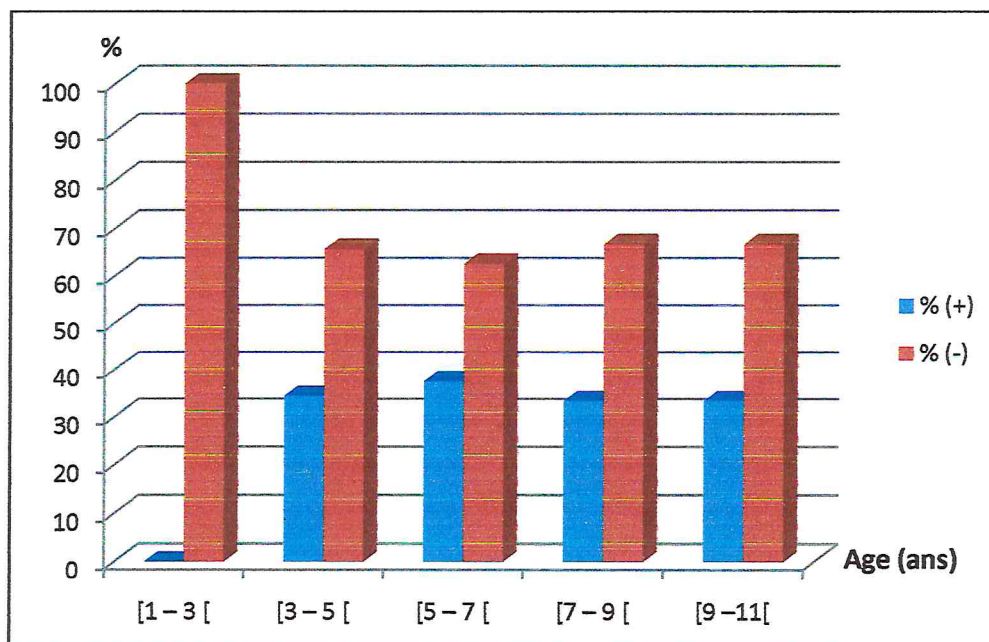


Figure 4: Répartition des résultats par groupe d'âge.

IV.2.2.4. Répartition des résultats selon le niveau de production du lait

D'après notre étude, le nombre le plus élevé des prélèvements positifs est observé dans la tranche de production lactée de 15 à 30 litres par jour (35,19%, soit 19/54), par contre nous avons observé un taux de 16,67% dans celle qui est inférieure à 15 litre par jour. Le taux de positivité augmente avec le niveau de la production lactée (tableau XI-A et XI-B et la figure 05 ci-dessous).

Tableau XI-A: Répartition des résultats selon le niveau de la production lactée

La production lactée (l/j)	Nombre de prélèvements (+)	Nombre de prélèvements (-)	Total
[0 – 15 [1	5	6
[15– 30 [19	35	54

Tableau XI-B: Pourcentage des résultats selon la production du lait

La production lactée (l/j)	% (+)	% (-)	Total
[0 – 15 [16,67	83,33	100
[15– 30 [35,19	64,81	100

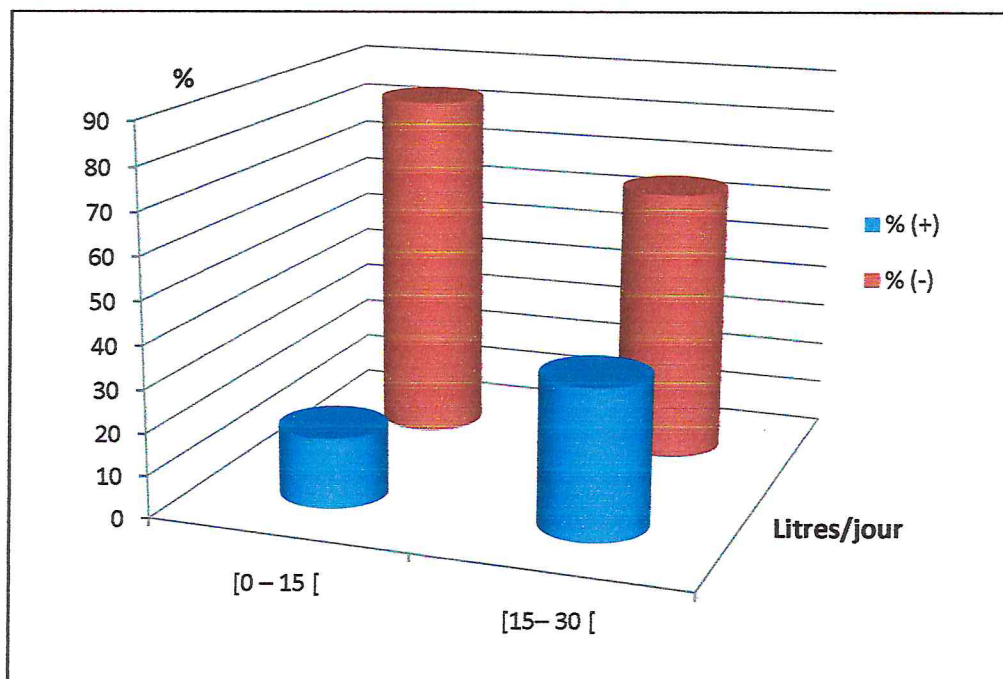


Figure 5: Fréquence des résultats selon la production lactée.

IV.2.2.5. Répartition des résultats selon le nombre de gestation

Le taux de contamination du lait par les staphylocoques augmente avec le nombre de gestation (tableau XII-A et XII-B et figure ci-dessous) :

- ✓ Pour les vaches dont le nombre de gestations est compris entre $[5 - 7[$, le taux de contamination du lait est de 50 % (soit 2/4).
- ✓ Le taux de contamination le plus faible (31,58%, soit 12/38) est observé dans le lait des vaches dont le nombre de gestation est compris entre $[1 - 3 [$.
- ✓ Le taux de contamination augmente avec le nombre de gestation.

Tableau XII-A: Répartition des résultats selon le nombre de gestations

Nombre de gestation	Nombre de prélèvements (+)	Nombre de prélèvements (-)	Σ
$[1 - 3 [$	12	26	38
$[3 - 5 [$	6	12	18
$[5 - 7 [$	2	2	4

Tableau XII-B: Pourcentage des résultats selon le nombre de gestations

Nombre de gestation	% (+)	% (-)	Σ (%)
$[1 - 3 [$	31,58	68,42	100
$[3 - 5 [$	33,33	66,67	100
$[5 - 7 [$	50,00	50,00	100

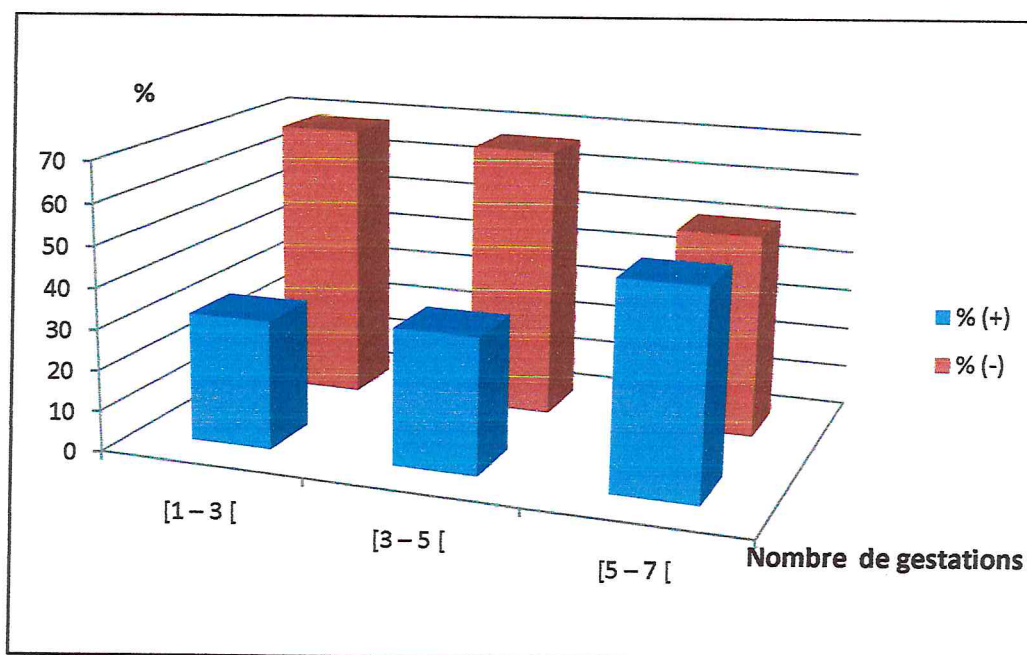


Figure 6: Fréquence des résultats selon le nombre de gestation.

IV.2.2.6. Répartition de la prévalence selon le stade de lactation

Le taux le plus élevé de contamination par les staphylocoques est observé dans le lait des vaches en fin de lactation : 65%, alors que le plus faible taux de contamination est observé dans le lait des vaches en pic de lactation : 05% (tableau XIII et figure 07ci-dessous).

Tableau XIII: Répartition de la prévalence selon le stade de lactation

Stade de lactation	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Début	6	30,00
Pic	1	05,00
Fin	13	65,00
Total	20	100

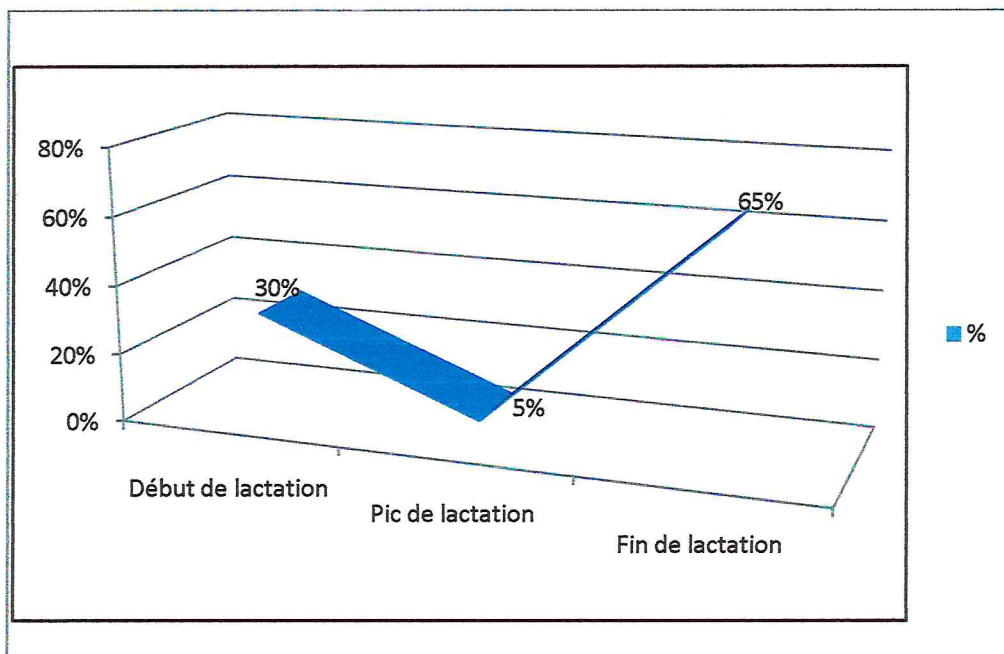


Figure 7: Répartition de la prévalence selon le stade de lactation.

IV.2.2.7. Répartition de la prévalence selon la race

Selon nos résultats (tableau XIV et figure08ci-dessous), on observe que le lait des vaches « pie rouge » est plus contaminée (55,00%) par rapport au lait des vache « pie noire » (45,00%).

Tableau XIV: Répartition de la prévalence selon la race

La race	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
PN/Hol	11	55
PR/Mob	9	45
Total	20	100

PN : Pie Noir **PR :** Pie Rouge

Mob. : Montbéliard **Hol.:** Holstein

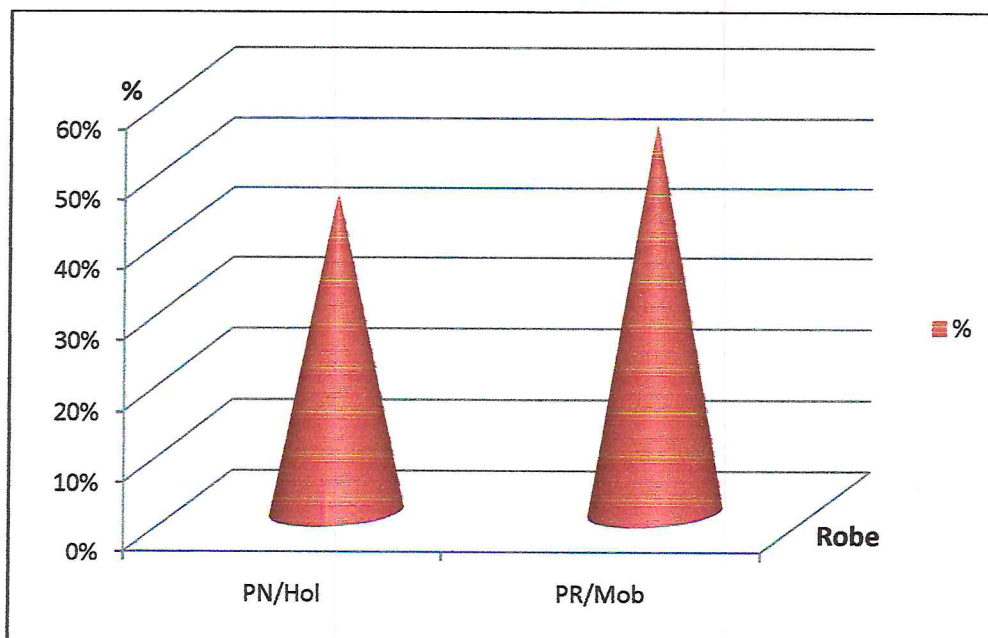


Figure 8: Fréquence de la prévalence selon la robe.

IV.2.2.8. Répartition de la prévalence selon la forme des trayons

Le taux le plus élevé de la contamination (60 % soit 12/20) est observé dans le lait provenant à partir des vaches dont les trayons soit en forme cylindrique, alors que 40% soit 8/20 de contamination, est observé dans le lait de vaches dont les trayons en forme d'entonnoir (tableau XV et figure ci-dessous).

Tableau XV: Pourcentage de la prévalence en fonction de la forme des trayons

La forme des trayons	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Les trayons en forme d'entonnoir	8	40
Les trayons cylindriques	12	60
Total	20	100

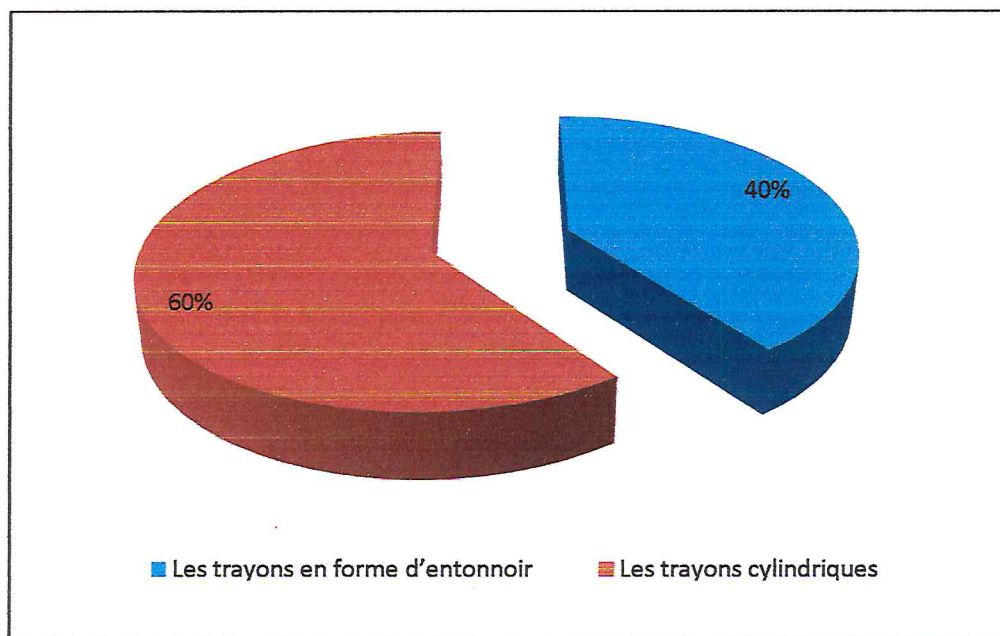


Figure 9: Pourcentage de la prévalence en fonction de la forme des trayons.

IV.2.2.9. Répartition de la prévalence selon le mode de la traite

Un pic de contamination (90%) est observé dans le lait de vache ou la traite est effectuée mécaniquement, alors que dans le cas de la traite manuelle le taux de contamination est de 10% (tableau XVI et figure ci-dessous).

Tableau XVI: Répartition de la prévalence selon le mode de la traite.

Mode de la traite	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Traite mécanique	18	90
Traite manuelle	2	10
Total	20	100

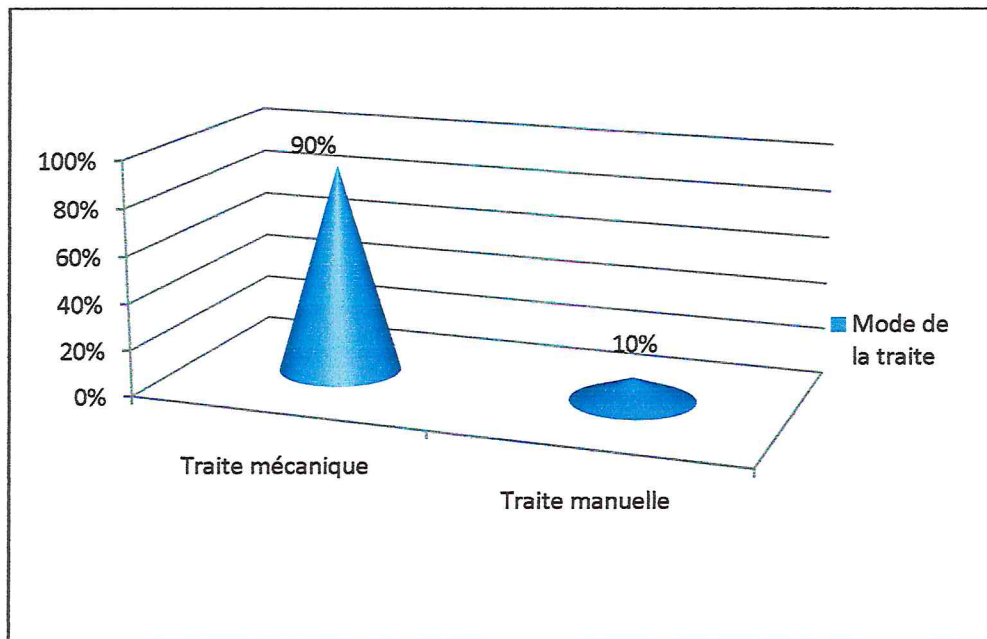


Figure 10: Pourcentage de la prévalence selon le mode de la traite.

IV2.2.10. Répartition de la prévalence selon la présence ou l'absence de la salle de traite

Le taux de contamination du lait dans le cas de la présence de la salle de traite est plus important (80% ; 16/20) par rapport à son absence (20% ; 4/20) (tableau XVII et figure ci-dessous).

Tableau XVII: pourcentage de la positivité selon la présence ou l'absence de la salle de traite

Salle de traite	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Présence	16	80
Absence	4	20
Total	20	100

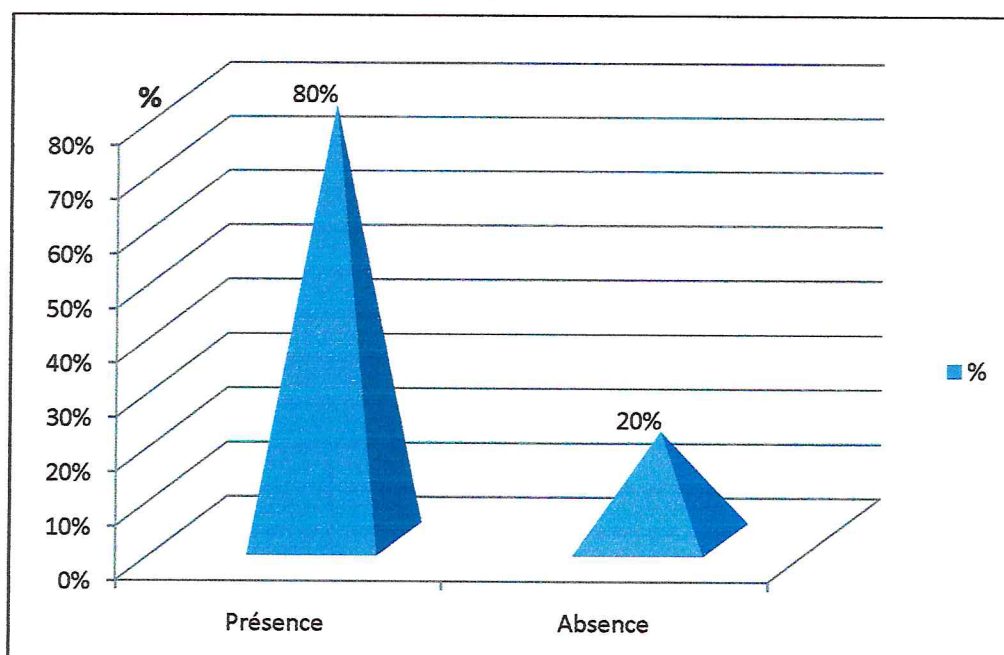


Figure 11: Répartition de la prévalence selon la présence ou l'absence de la salle de traite.

IV.2.2.11. Répartition de la prévalence selon la présence ou l'absence de la litière

La fréquence de contamination est absolument nulle dans le cas où la litière est présente, donc il s'agit d'un seul indice (l'absence de la litière ; 100%). Dans ce cas on peut dire que les résultats sont non significatifs (tableau XIII et figure 12 ci-dessous).

Tableau XIII: pourcentage de la positivité selon la présence ou l'absence de la litière

Litière	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Présence	0	0
Absence	20	100
Total	20	100

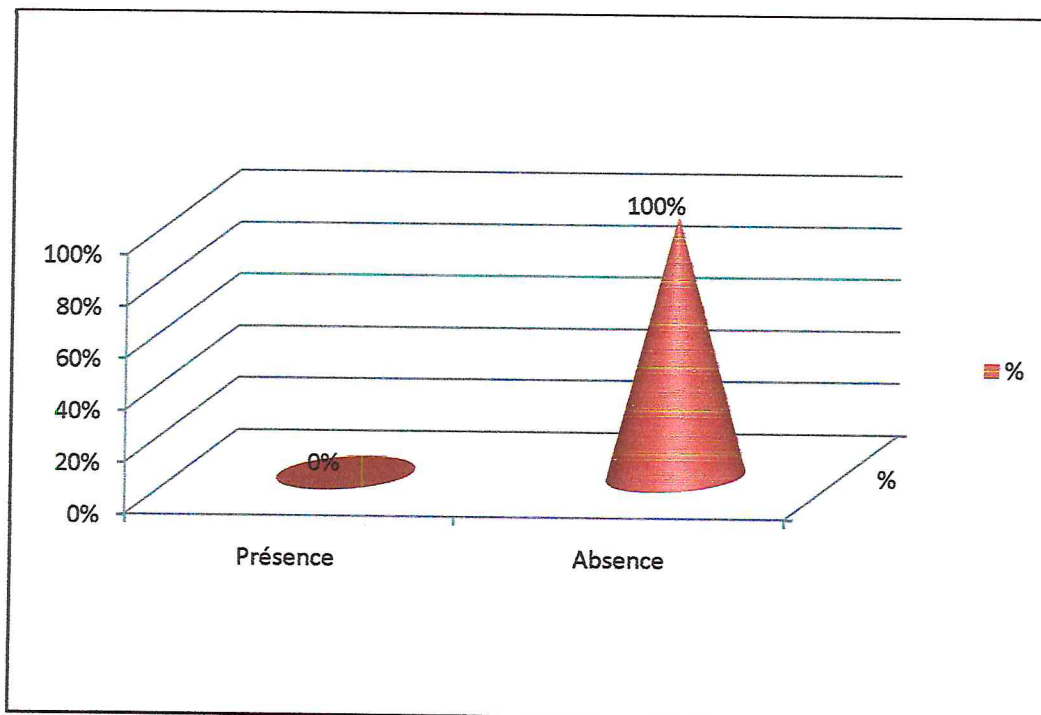


Figure 12: pourcentage de la prévalence selon la présence ou l'absence de la litière.

V. Discussion

Les staphylocoques sont des bactéries localisées essentiellement sur la peau, près des glandes de la peau ou des muqueuses des vaches. Elles sont également localisées dans la bouche, le sang, les glandes mammaires, ainsi que les tractus intestinal, génital et respiratoire.

En raison de leur caractère ubiquitaire et du fait que certaines espèces sont pathogènes opportunistes et peuvent présenter un risque pour la santé humaine, les staphylocoques sont de plus en plus étudiés, que ce soit dans les environnements cliniques ou agro-alimentaires. Certaines espèces de staphylocoques sont commensales ou pathogènes opportunistes, il est donc indispensable de pouvoir les identifier et les caractériser.

Nos prélèvements de lait ont été effectués selon les protocoles classiques recommandés par MIALOT en 1983.

Les cultures bactériologiques ont été réalisées selon la méthode décrite par la norme française (V 08-057-1).

Les prélèvements de lait bovin au nombre de 60, provenant de la région de Blida ont été analysés au niveau de laboratoire d'AVCQ-LAB de Baraki, dans le but de la recherche des staphylocoques. L'exploitation des résultats a permis d'observer une prévalence de 33,33%.

En Suisse, les analyses bactériologiques réalisées sur le lait ont révélé la présence de staphylocoques dans 27% des prélèvements. Des résultats similaires ont été observés dans une étude de grande étendue en Allemagne, avec 38,8% de staphylocoques. Une étude récente réalisée en France, dans exploitations biologiques, a révélé 47% de staphylocoques dont 16% de *staphylococcus aureus*. (EICHER et al, 2002)

La positivité par élevage varie de 00,00 à 71,43% et la fréquence la plus élevée a été observée au niveau de l'élevage de CHIFFA (CQA), (7 prélèvements dont 5 soit 71,43% sont contaminés par les staphylocoques). Ce taux contamination trouve son origine dans les mauvaises conditions d'hygiène : l'étable, la traite, l'hygiène du personnel responsable de la traite, les différents manipulations et agressions sur le lait d'où la diffusion des germes (staphylocoques) de l'environnement vers le lait ainsi que le non respect de la technique de la traite.

1. Facteurs de variation

1.1. Age

D'après BOUCHARDE en 2003, le risque de contamination du lait bovin augmente avec l'âge des vaches.

Nos résultats montrent l'augmentation de la fréquence des contaminations du lait chez les vaches entre 5ans et 7 ans. Parmi les facteurs qui pourraient expliquer la plus grande sensibilité des mamelles aux infections, signalons l'augmentation de la production laitière et du diamètre du canal du trayon avec l'âge.

1.2. Niveau de production du lait

Diverses études ont démontré l'existence de corrélation positive (0,30 à 0,44) entre le niveau de production laitière et la contamination du lait bovin par les staphylocoques. Ainsi, sur la base d'un coefficient de corrélation égal à 0,30, nous avons observé qu'une augmentation annuelle de la production laitière de 54 kg s'accompagnait d'une augmentation de l'incidence de contamination de 0,4% (HANZEN et al, 2002)

Nos résultats sont proches de ce qui est décrit ci-dessus, avec les fréquences suivantes : 35,19% chez les vaches hautement productrices (la tranche de production lactée varie de 15 à 30 litres par jour) et 16,67% chez les vaches faiblement productrices (la tranche de production lactée varie de 0 à 15 litres par jour). Cela peut être expliqué par l'augmentation de la fréquence des infections avec le niveau de production des animaux.

1.3. Stade de lactation

Les périodes les plus critiques pour l'acquisition de nouvelles contaminations sont : le début du tarissement et la période peripartum (BOUCHARDE, 2003).

D'après notre étude, pendant les phases de lactation, on observe les fréquences suivantes : 30% en début de lactation, 5% en pic de lactation, 65% avant le tarissement. Ce qui se superpose à la bibliographie :

- ✓ En lactation (mis à part le début), le risque de contamination par les staphylocoques augmente avec la progression de la lactation (BOUCHARDE, 2003).
- ✓ La période de lactation est surtout caractérisée par l'augmentation très nette du taux de nouvelles infections, liée au germe d'origine mammaire. On observe que 80% des infections persistent jusqu'au tarissement et 10% de quartiers assainis pendant la lactation le demeurent pendant le reste de la lactation (HANZEN et CASTAIGNE, 2002).

En l'absence de traitement préventif au tarissement, la période sèche est particulièrement propice à l'installation de nouvelles infections (environ 10% des quartiers vont s'infecter pendant cette période, et ces infections vont persister jusqu'au tarissement (FOUCRAS et al, 2007) L'arrêt des traites rend les quartiers plus sensibles aux infections, dans les 2-3 premières semaines de la période sèche, par plusieurs mécanismes : arrêt de « l'effet chasse-lait », augmentation de la pression intra-mammaire qui a pour effet de diminuer les défenses du trayon en diminuant la longueur et en augmentant le diamètre du conduit papillaire (figure 13).

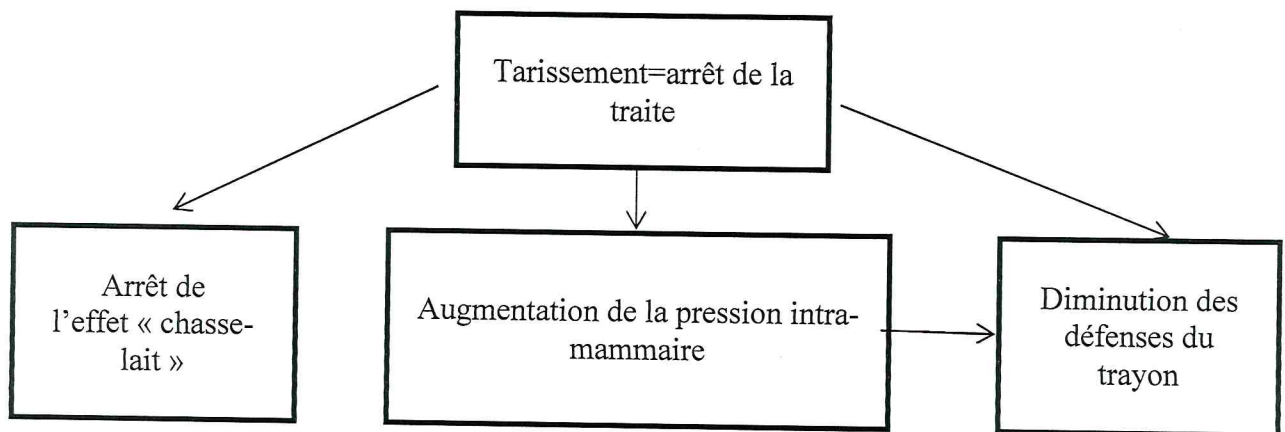


Figure 13 : conséquences du tarissement sur la sensibilité des mamelles aux infections (GUERIN, 2003)

1.4. La race

D'après notre analyse bactériologique ; 55% des prélèvements de lait des vaches montbéliarde sont contaminés par les staphylocoques, alors que les vaches Holstein sont moins exposées avec un taux de contamination de 45%.

1.5. Nombre de gestations

Selon notre étude, les échantillons les plus fréquemment contaminés sont celles des multi-gestes [5-7], où le taux de contamination oscille à 50% avec dont le nombre de gestation est compris entre 5 et 7. Puis ce dernier diminue avec la diminution du nombre de gestation. Ces résultats peuvent être expliqués par :

- La diminution de défense immunitaire liée à l'augmentation du nombre de gestations.
- La forme de la mamelle c.à.d. les mamelles très développées de type pendulaire, qui surviennent avec l'augmentation de nombre de gestations, sont plus sensibles aux infections plus exposées aux souillures et traumatismes. Il en est de même pour les trayons particulièrement allongés.
- Les lésions du trayon affaiblissent son rôle de barrière vis-à-vis des micro-organismes.

1.6. Forme des trayons

Les résultats de notre expérimentation, montrent que la fréquence de contamination du lait par les staphylocoques varie selon la forme des trayons, avec les fréquences respectives suivantes : 60% soit 12/20 chez les vaches qui possèdent des trayons cylindriques ou « en bouteille » et 40% soit 8/20 chez les vaches qui possèdent des trayons en forme d'entonnoir. Cette dernière forme évite les phénomènes de « grimage » des gobelets trayeurs (qui lèse le trayon par sa répétition et interrompt la mulsion par compression de la base du trayon).

1.7. La traite

Nos résultats montrent l'augmentation de la fréquence de contamination du lait chez les vaches où la traite effectuée mécaniquement (90%), alors que dans le cas de la traite manuelle le taux de contamination est de 10%. Parmi les facteurs qui pourraient expliquer ces résultats :

- La machine à traire sollicite le conduit papillaire et induit progressivement une hyperkératose de ce canal. Cette hyperkératose semble favoriser l'apparition des mammites. En effet, Falkenberg (GUERIN, 2003) observe une corrélation positive entre le degré d'hyperkératose du canal du trayon et la prévalence des infections mammaires à staphylococcus aureus. Ainsi les critères morphologiques de la mamelle et des trayons sont ils de plus en plus souvent pris en compte dans les schémas de sélection.

- La technique de traite et le fonctionnement de la machine à traire sont impliqués dans les mammites par deux mécanismes : les lésions des trayons et les phénomènes de reflux de lait ou phénomènes d'impact.
- Le phénomène d'impact est dû à des entrées d'air intempestives au niveau d'un manchon trayeur, qui vont occasionner une baisse du niveau de vide dans ce manchon trayeur et un reflux du lait de ce trayon vers les autres faisceaux trayeurs où le niveau de vide est plus élevé. Ce reflux de lait peut être le vecteur de germes.
- En plus, on peut citer un niveau du vide excessif qui entraîne l'éversion du canal du trayon et un pulsateur défectueux. Pour ce qui est de la technique de traite, toute sur traite ou défaut d'arrachage des griffes peuvent occasionner des lésions du trayon.
- L'ensemble des opérations de traite va conditionner la qualité du lait et la santé de la mamelle. Dans l'idéal, la traite devrait commencer par un lavage des mains du trayeur. Ensuite la préparation de la mamelle à traite commence par le nettoyage de la mamelle, soit à l'aide de lingettes à usage unique, soit de douchettes. Vient ensuite l'élimination des premiers jets, les premiers jets devraient être éliminés sur un bol à fond noir pour détecter précocement les mammites. Encore beaucoup d'éleveurs les éliminent malheureusement sur le sol de la salle de traite. La qualité de détection des mammites conditionne la rapidité de mise en œuvre du traitement et donc son efficacité.

1.8. La litière

Notre étude expérimentale révèle une fréquence de contamination du lait par les staphylocoques qui est plus élevée dans le cas de l'absence de la litière dans la ferme : 100% (20/20). Alors que dans l'autre cas, elle est de 0%. Dans ce cas on peut dire que les résultats sont non significatifs.

VI. Conclusion

La consommation du lait cru, repose essentiellement sur la qualité bactériologique et physico-chimique du lait cru, pour mieux consommer ce produit, il est important de veiller sur une qualité meilleure depuis la traite jusqu'au stade du produit fini.

Le lait est un aliment de très large consommation et il présente un milieu favorable au développement de plusieurs espèces bactériennes. Parmi celle-ci, les staphylocoques, tel que *staphylococcus aureus* qui peuvent être très pathogènes pour le consommateur.

Le diagnostic bactériologique des staphylocoques est bien l'une des applications essentielles des analyses bactériologiques.

Seuls les examens de laboratoire confirme le diagnostic des staphylocoques. La prévention doit être la plus précoce possible.

Notre étude concerne la contamination du lait par les staphylocoques dans la région de Blida. Elle est portée sur 60 vaches laitières, issues de 5 élevages différentes.

Sur le plan bactériologique

Les analyses bactériologiques que nous avons réalisé sur le lait bovin issu de 5 élevages différents dans la région de Blida a révélé une forte contamination qui est probablement due aux infections des mamelles en manque d'hygiène de l'environnement, du personnel et surtout du non respect des conditions d'hygiènes de la traite.

- Nous avons tout d'abord remarqué la présence des staphylocoques dans 20 (soit ; 33,33) des prélèvements ;
 - ✦ Sur ces 60 prélèvements nous comptons :
 - 40 prélèvements pour lesquels aucune culture n'a été obtenue.
 - 20 prélèvements dans la recherche des staphylocoques est positive.

Sur le plan épidémiologique

- Les résultats de l'enquête (litière impropre, non respect de règles d'hygiènes de la traite) peuvent expliquer la contamination du lait par les staphylocoques dans la mamelle.

Sur le plan prophylactique

La sécurité du lait doit être assurée tout au long de la chaîne alimentaire, de la production issues de l'élevage jusqu'aux aliments présents dans l'assiette du consommateur. Ceci implique l'intervention de plusieurs acteurs, à savoir :

- Les producteurs ;
- Les industriels ;
- Les importateurs ;
- Les distributeurs ;
- Les agents des organismes de contrôle ;
- Les consommateurs.

VII. RECOMMANDATIONS

IL importe de souligner la nécessité de lancer un programme de prévention primaire et secondaire nécessaire pour la production du lait. Sur un plan pratique, la prévention contre les staphylocoques passe par une bonne prévention des mammites et une attention toute particulière aux trayons. Les actions prioritaires doivent se focaliser sur :

- ✦ L'installation de traite qui doit être bien adaptée, bien dimensionnée au troupeau, bien réglée, entretenue régulièrement et doit prévoir du matériel spécifique pour les animaux à risque.
- ✦ La technique de traite qui doit être non agressive pour les trayons, qui doit limiter les entrées d'air, éviter la sur traite et supprimer l'égouttage.
- ✦ Les soins aux trayons, en utilisant des produits de lavage non agressifs, des lavettes propres et désinfectées, des produits de trempage efficaces contre les agressions diverses et une surveillance permanente des plaies pour des soins immédiats.
- ✦ La surveillance des premiers jets pour détecter les premiers signes d'infection, intervenir précocement pour être efficace sur les staphylocoques.
- ✦ Le traitement au tarissement qui doit être raisonné et adapté aux microbes en cause.
- ✦ La surveillance des fins de lactation et des vaches âgées qui sont à suspecter en priorité.

Nous précisons enfin que cette prévention passe par le respect des règles d'hygiène strictes tant à la ferme qu'à la laiterie.

La lutte intensive contre les accidents alimentaires doit être entreprise, par des mesures d'hygiène bien appliquées, à savoir :

- ✦ Sensibilisation de la population sur les règles d'hygiène élémentaires par tous les moyens d'information ;
- ✦ Contrôle des conditions de la traite ;
- ✦ Stockage des laits à des températures et dans des conditions adéquates ;
- ✦ Mise en vente des laits sains ;
- ✦ Hygiène des manipulateurs des laits destinés à la consommation humaine ;
- ✦ Analyses bactériologiques pour déterminer les staphylocoques responsables de la contamination du lait ;

- ✦ Information des éleveurs par les vétérinaires sur l'incidence de la contamination du lait sur la production des vaches ;
- ✦ Contrôle des mammites par le test de CMT et élimination des laits de vache en cas de positivité ;
- ✦ Enfin, une collaboration entre les services de la santé publique et ceux de la santé animale est indispensable et complémentaire pour un meilleur contrôle de la contamination du lait par les staphylocoques.

***LES REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES***

LES RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, (1960)** Standard methodes for the Examination of dairy products, 11^eéd., New York.
2. **BALABAN N, RASOOLY A.** Staphylococcal enterotoxins. Int J Food Microbiol, 2000, 61, 1-10.
3. **BARABOSA et AL, 1986.** Physico_chemical and microbiological characteristics of goat milk in Portugal .B.F.I.L., N°202: p 84 _89.
4. **BARBER F.W (1942)** Amer. Butter Rev., juin, 206.
5. **BERCHE P, Gaillard J.L, Simonet M.** Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. Médecine-science-Flammarion. Paris ; 1991 : pp336-360.
6. **BLOOD C, HENDERSON J.A, 1976:** Médecine vétérinaire. Edition vigot frères (paris), 1100 pages.
7. **BOUCHARDE, 2003.** Cours de pathologie mammaire, Faculté de Médecine Vétérinaire de Montréal, 11, 15-20.
8. **BOURGEOIS C.M, MESCLE J.F, ZUCCA, J.** Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité alimentaire et de la qualité des aliments ; In : Lavoisier TEC & DOC (Ed), Microbiologie Alimentaire, 1996, 106-119.
9. **BRISABOIS A, LAFARGE V, BROUILLAUD A, DE BUYSER M.L, COLLETTE C, GARIN – BASTUJI B, THOREL M.F.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe.- Rev. Sci. Tech., Off. Int. Epiz., 1997, 16, 2, 452-471.
10. **BYLUND GOSTA, 2000.** handbook-of-dairy-processing . Editor: Teknotext AB lustrations: Origrit AB .pp. 20-45, 60-75, 87-120.

11. **CENTRE D'ENSEIGNEMENT LAITIER PAR CORRESPONDANCE.** - Qu'est ce que le lait ? Ecole Nationale d'Industrie Laitière et des Industries Agro-Alimentaires. Surgères: 99-2000. 61p.

12. **CHAUBEAU – DUFFOUR C :** Toxi-infections alimentaires d'origine staphylococcique.- Le Point Vétérinaire, 1992, 24, 148, 33-40.

13. **COLLECTION FAO:** Alimentation et nutrition n° 28/ 1998. Food, Agriculture and the Environment Discussion Paper No. 28. Washington, Institut international de recherche and nutrition. **Collection FAO: Alimentation et nutrition** no 83. Rome, FAO. Mekong Team Working Paper No. 12. HPAI Pro-Poor Risk Reduction, Steinfeld, H. 1998. Livestock production in Asia.

14. **CUCARELLA C, TORMO MA, UBEDA C, TROTONDA MP, MONZON M, PERIS C, AMORENA B, LASA 1, PENADÉS JR :** Role of biofilm-associated protein bap in the pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*. Infect Immun. 2004 Apr; 72(4):2177-85.

15. **CHRISTIAN JEAN-PIERRE, 1999.** Elevage de la vache laitière en zone tropicale, CIRAD, p314.

16. **CORONEL A (2005) :** La propreté, indicateur des conditions d'hygiène Elevage Jura agricole et rural Publié le : 05 août 2005 Page 5.

17. **DAVID V. et FORTE R.** *Guide national des bonnes pratiques en production fromagère fermière.* 2e éd. Paris: Institut de l'élevage, 1998. Fiche I, 15-19.

18. **DE BUYSER M.L, JANIN F, DILASSER F.** Contamination of Ewe Cheese with *Staphylococcus aureus*: Study of an Outbreak of Food Poisoning. In: JELJASZEWICZ, J. (Ed), The Staphylococci, Zbl Bakt Suppl.14Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1985.

19. **DE BUYSER M.L., LAPEYRE C :** Mammites à staphylocoques et sécurité alimentaire.- Le Point Vétérinaire, 1994, 26, numéro spécial « Ruminants et santé publique », 79-82.

20. **DE BUYSER M.L :** Les staphylocoques coagulase-positifs.- In : Lavoisier (Ed), Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, chapitre 6, 1996, 305-312

21.**DE BUYSER M.L., LAPEYRE C, DILASSER F.** Le point sur les TIAC à staphylocoques : foyers déclarés et résultats de l'analyse d'aliments suspects.- Coll. Soc. Microbiol. /Alim., Vol 11, 1997, 7-16.

22.**DUREL L, FAROULT B, LEPOUTRE D, BROUILLET P, LE PAGE Ph :** Mammites des bovins (cliniques et subcliniques). Démarches diagnostiques et thérapeutiques. *La Dépêche Technique*. Supplément technique **87** à la Dépêche Vétérinaire du 20 Décembre 2003 au 2 Janvier 2004. 39 p.

23.**EICHER R, SUTTER-LUTZ B, GERBER L., 2002 :** Les mammites subcliniques dans les troupeaux laitiers. Contrôler les mammites à staphylococcus aureus. *Le pont vétérinaire*, N 228, 50-54.

24.**FABRE J.M, BERTHELOT X, BOUSQUETE, LAUMONNER G et SEEGER S H, 1999 :** Traitement des mammites sub-cliniques en lactation. *Bulletin des GTV*, N01, 49-56.

25.**FRANCOIS M, 1986,** lait et produits (vaches, brebis et chèvres), pages 23.

26.**GEDILAGHINE V.** 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 pour le doctorat vétérinaire, Maisons Alfort 2005, 106 p.

27.**GOURREAU J.M.** Les staphylococcies. In France Agricole (Editeur), Accidents et maladies du trayon, 1995, 135.

28.**GOURSAUD J :** Composition et propriétés physico-chimiques. In : LUQUET, F.M. - Lait et produits laitiers. 1ère éd. Paris : Technique et documentation Lavoisier, 1985. Vol.1, Chap.1, 1-90.

39.**GUERIN A, 2003.** Mise en place d'une démarche de rationalisation du traitement des mammites des vaches laitières. Description des pratiques des éleveurs et des vétérinaires à la mise en place de l'action GTV partenaire en région Rhône-Alpes. Thèse Méd. Vét, Nantes, 2003.

30.**HAEGHEBAERT S, LE QUERREC F, GALLAY A. et al :** Les toxi-infections alimentaires collectives en France, en 1999 et 2000.- *BEH*, 2002 Juin, 23, 105-109.

31.HAMAMA A, 2002 : « hygiène et prophylaxie dans les étables laitières .cours de Formation des techniciens de l'office régionale de Mis en valeur agricole L'haouz.Marrkech. »Pp 10-25, 62-71,80-110.

32.HANAK E, BOUTRIF E, FABRE P, PINEIRO M, (éditeurs scientifiques), 2002.Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO, 11-13 décembre 2000, Montpellier, France.

33.HANZEN CH, CASTAIGNE J, LOUP. 2002. Faculté de Médecine Vétérinaire. Université de Liège, chapitre 30 : pathologie infectieuse de la glande mammaire, dernière mise à jour : 02/02/2002 site web : www.fmv.ulg.ac.Be/oga/index.

34.HEDOUIN C (2003) : institut de l'élevage ; produire un lait de qualité passe par une propreté exemplaire de la salle de traite et de la laiterie. (www.instelevage.asso.fr)

35.JOHNS C k (1953) In: Proc. XIII Int. Dairy Conger, La Haye, 2, 241.

36.JOHNS C k (1955) Canad. Dairy J., 34, N° 1, 35

37.LACASSE P, 2007 : cours sur la biologie de la lactation. Département des biologies université de Sherbrooke : <http://www.Callisto.Si.Usherb.ca>.

38.LARPENT JP(1997). Microbiologie alimentaire (technique de laboratoire) TEC et DOC Lavoisier Paris ; P1073.

39.LARPENT J.P. Lait et produits laitiers non fermentés. In : BOURGEOIS, C.M. et MESCLE, J.F. et ZUCCA, J : Microbiologie alimentaire. 2e éd. Paris : Technique et documentation Lavoisier, 1996. 271-293.

40.MEYRAND A, ATRACHE V, BAVAI C. et al.Evaluation of an alternative extraction procedure for enterotoxin determination in dairy products, 1999 Jan, 28, 6, 411-415.

41. **MIALOT J-P, 1983.** Technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique. Rec. Méd. Vét. 159, (11), 1057-1058.

42. **MILOJEVIC Z, SIRADOVIC D, MAROVIC D, SANDO R, MICIC S, KOJEVIC M, ISMAILOVIC S, FILIPOVIC. 1988.** Effect of various management systems on udder infections and the occurrence of mastitis. 18(2): 231-236.

43. **ORDEN J.A, CID D, BLANCO M.E. et al :** Enterotoxin and toxic shock syndrome toxin – one production by staphylococci isolated from mastitis in sheep.- APMIS, 1992 Feb, 100, 2, 132-134.

44. **ORDEN J.A, GOYACHE J, HERNANDEZ J. et al:** Production of staphylococcal enterotoxins and TSST – 1 by coagulase negative staphylococci isolated from ruminant mastitis.- Zentralbl Veterinarmed, 1992 Mar, 39, 2, 144-148.

45. **ORDEN J.A, GOYACHE J, HERNANDEZ J. et al.** Detection of enterotoxins and TSST – 1 secreted by *Staphylococcus aureus* isolated from ruminant mastitis. Comparison of ELISA and Immunoblot, J Appl Bacteriol, 1992 Jun, 72, 6, 486-489.

46. **PIRISI A ,1994 .** composition et coagulation du lait de brebis. Lait, page 425/442.

57. **POPPOFF M.R.** Entérotoxines bactériennes : structure, mode d'action et approche vaccinale.- Revue Médecine Vétérinaire, 1996, 147, 6, 425-438.

48. **REKARTOZANDRINDRAINNY R et FOUCRAS G, 2007.** Etiologie bactérienne des mammites des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. Revue Méd. Vét., 158, 02, 106-110.

49. **ROBERSON J.R, FOX L.K., HANCOCK D. et al.** Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. J Dairy Sci, 1994, 77, 3354-3364.

50. **SALAT O, LHERMIE G, BASTIEN J.** Démarches pratique de traitement des infections mammaires à staphylocoques aureus. *Journées Nationales des G.T.V.*, Nantes 2007 : 783-794.

51. **SCOTT D.W, GOURREAU J.M.** La folliculite et la furunculose staphylococciques des bovins.- Le Point Vétérinaire, 1991, 23, 138, 407-410.

52. SINGH E, 1972, a study on the nitrogen distribution in goat's milk. *Milch wess enschaft*, p167-167.

53. SU Y.C, LEE WONG A.C. Current perspectives on detection of staphylococcal enterotoxins. - *Journal of Food Protection*, 1997, 60, 2, 195-202.

54. VAN DE LEEMPUT E : Analyse bactériologique du lait. *Conférence organisée par le laboratoire Pfizer pour les vétérinaires en exercice*, Nantes, Mai 2007.

55. VERNOZY C, MAZUY C, LAPEYRE C. et al : Etude des souches de staphylocoques à coagulase négative (S.C.N.) isolées de fromages de chèvre en région Rhône-Alpes : identification, antibiotypie et entérotoxigenicité. - *Revue Méd Vet*, 1994, 145, 2, 107-113. 56.

56. VERNOZY – ROZAND C, MAZUY C, PREVOST G. et al: Enterotoxin production by coagulase negative staphylococci isolated from goats' milk and cheese, *Int J Food Microbiol* 1996 Jul, 30, 3, 271-280.

Annexes

ANNEXE -1-

PRELEVEMENTS POUR ANALYSE BACTERIOLOGIQUE

Questionnaire pour la récolte des données sur les vaches prélevées.

Région : Blida

Ferme :

Date : / /
Questionnaire n° :

N° de prélèvement	Age	Nombre de porte	Robe	Les trayons cylindriques « bouteille »	les trayons en forme	Quantité du lait produire	Stade de lactation	Destination du lait
<u>01</u>								
<u>02</u>								
<u>03</u>								
<u>04</u>								
<u>05</u>								
<u>06</u>								
<u>07</u>								
<u>08</u>								

ANNEXE -2-

FICHE D'ENQUÊTE

Questionnaire pour l'obtention des informations sur les méthodes des élevages étudiés et les principaux facteurs influençant la contamination.

Elevage N° :
Région : Blida

Date / /
Questionnaire N° :

I. PRESENTATION DES ELEVAGES

I.1. Les troupeaux

Tableau I : Caractéristiques des troupeaux étudiés

N° d'exploitation	Production moyenne par vache et par lactation (l/j)	Quota de lait disposé (l/j)	Nombre de vaches traites pendant l'étude	Les robes

2. Conduite des troupeaux

Tableau II : Caractéristiques de conduites des troupeaux étudiés

N° d'exploitation	Répartition des vêlages	Age moyen au vêlage (ans)	Type de stabulation	La traite		La ration alimentaire des vaches en lactation
				Salle de traite	Nombre de traite /j	

3. Hygiène des troupeaux

Tableau III : Informations sur l'hygiène des troupeaux étudiés

N° d'exploitation	Mamelle		Machine à traire		Nature de la litière	
	Hygiène	Présence des lésions	Lavage	Désinfection	Epaisseur	Fréquence de changement

II- CARACTERISTIQUES DES VACHES LAITIÈRES

a)- Nombre de vaches total : dont:

- Primipares : robe :
- Multipares : robe :

b)- Mise bas :

- Conditions :
- Les vaches sont-elles isolées avant mise bas? :
- Le local de mise bas est-il séparé ? :
- Le lieu de mise bas est-il désinfecté entre les mises bas ? :

c)- Début de la mise à la traite :

d)- Espacement entre les traites :

e)- Durée du tarissement :

III- CARACTERISTIQUES DE LOGEMENT

a)- Nature de la litière :

b)- Paillage :

- Nature du paillage :
 - ✓ Paille autre..... .
- Fréquence de paillage
- Quantité apportée (par animal)

c)- Fréquence d'enlèvement du fumier :

d)- Désinfection après enlèvement ?

e)- Type d'aération :

- statique mécanique

f)- Courants d'air au niveau des animaux ?

- Oui Non

g)- Condensation :

- Importante Faible Nulle

IV- LA TRAITE MECANIQUE
(Questions dirigées aux personnes qui pratiquent la traite)

a)- La mamelle :

- Vous intéressez-vous à la conformation de la mamelle de vos vaches ? Oui Non
- Portez-vous une attention particulière aux lésions éventuelles des trayons ? Oui Non

b)- Type de la traite :

Manuelle Mécanique

c)- Machine à traire :

- Quelle est la date de la mise en service de votre machine ?
- Est elle de type salle de traite ?.....
- Faites-vous contrôler régulièrement votre machine à traire ? Non Oui
- Produits utilisés pour le lavage de la machine à traire : Acide Base
.....

d)- Avant la traite :

- Vous lavez-vous les mains? Non Oui
- Avez-vous une tenue spéciale pour la traite ? Non Oui

e)- Hygiène des trayons :

- Méthode utilisée pour le nettoyage et la désinfection des trayons avant la traite :
Les lavettes La douchette Le pré-trempage Pas de nettoyage Autre...
- Concernant la méthode de Le pré-trempage :
 Quel produit utilisez-vous ?
- Essuyez-vous le trayon ?
- Concernant la méthode de nettoyage par Les lavettes :
- Quel produit utiliser pour nettoyer le trayon avec les lavettes ?

- Combien nombre de lavettes utilisez-vous par vache ?

- Nettoyage de lavettes :
 Une fois par jour ?.....
- Entre chaque traite ?.....
- Quelle est la méthode de nettoyage des lavettes ?

- Concernant la méthode de la douchette :
 Vous utilisez :
 Une lavette individuelle
- Une lavette collective
- Pas de lavette
- Lavage intéresse-t-il uniquement du trayon ? oui non
- Combien de temps vos vaches sont traites après avoir préparé la mamelle ?

Tout de suite après

Pas immédiatement

Pratiquez-vous le trempage en fin de traite ? Oui Non

f)- destination du lait produit :

Vendu :

Aux usines

Aux privés

Consommation familiale

ANNEXE -3-

RESULTATS DE L'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE :

« INFORMATIONS GENERALES SUR LES VACHES PRELEVEES »

N° de vache (prélèvement)	Age (ans)	Nombre de gestation	Rob	Quantité du lait (l/j)	Forme des trayons	Stade de lactation
<u>01</u>	4	2	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>02</u>	3,5	2	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>03</u>	5	3	PN	20	Entonnoir	Début
<u>04</u>	6	4	PR	17	Cylindrique	Début
<u>05</u>	4	2	PR	20	Cylindrique	Fin
<u>06</u>	3,5	2	PR	18	Entonnoir	Fin
<u>07</u>	3	1	PR	15	Cylindrique	Pic
<u>08</u>	4	2	PR	20	Cylindrique	Début
<u>09</u>	5	3	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>10</u>	4	2	PR	18	Cylindrique	Pic
<u>11</u>	3	1	PR	20	Entonnoir	Fin
<u>12</u>	2,5	1	PR	18	Cylindrique	Pic
<u>13</u>	3,5	2	PR	18	Cylindrique	Fin
<u>14</u>	3,5	2	PR	15	Entonnoir	Fin
<u>15</u>	4	2	PN	15	Entonnoir	Fin
<u>16</u>	4	2	PR	24	Cylindrique	Fin
<u>17</u>	3,5	2	PR	25	Cylindrique	Début
<u>18</u>	4	2	PN	25	Cylindrique	Fin
<u>19</u>	4	2	PR	20	Cylindrique	Début
<u>20</u>	7	4	PR	10	Cylindrique	Fin
<u>21</u>	7	4	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>22</u>	6	3	PR	20	Entonnoir	Début
<u>23</u>	3	1	PN	20	Entonnoir	Début
<u>24</u>	2,5	1	PR	20	Cylindrique	Fin
<u>25</u>	6	4	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>26</u>	4	2	PN	20	Entonnoir	Fin
<u>27</u>	3,5	1	PN	15	Cylindrique	Début
<u>28</u>	4	2	PR	15	Cylindrique	Début
<u>29</u>	10	6	PN	18	Cylindrique	Fin
<u>30</u>	10	5	PN	20	Entonnoir	Fin
<u>31</u>	5	3	PR	20	Cylindrique	Début
<u>32</u>	7	4	PR	20	Cylindrique	Début
<u>33</u>	4	2	PR	12	Entonnoir	Début
<u>34</u>	6	3	PR	20	Cylindrique	Début
<u>35</u>	4	2	PR	20	Entonnoir	Début
<u>36</u>	5	3	PR	15	Cylindrique	Fin
<u>37</u>	10	6	PN	25	Cylindrique	Fin
<u>38</u>	3	1	PR	15	Cylindrique	Fin

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

RESULTATS DE L'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE :

« INFORMATIONS GENERALES SUR LES VACHES PRELEVEES »

N° de vache (prélèvement)	Age (ans)	Nombre de gestation	Rob	Quantité du lait (l/j)	Forme des trayons	Stade de lactation
<u>39</u>	3.5	1	PN	15	Entonnoir	Début
<u>40</u>	4	1	PN	15	Cylindrique	Début
<u>41</u>	5	2	PR	20	Cylindrique	Fin
<u>42</u>	6	3	PR	20	Entonnoir	Fin
<u>43</u>	3	1	PN	15	Entonnoir	Fin
<u>44</u>	5	2	PR	20	Cylindrique	Fin
<u>45</u>	6	3	PR	20	Entonnoir	Fin
<u>46</u>	7	3	PN	10	Cylindrique	Fin
<u>47</u>	3.5	1	PR	15	Entonnoir	Début
<u>48</u>	3	1	PR	15	Entonnoir	Début
<u>49</u>	2.5	1	PR	10	Cylindrique	Pic
<u>50</u>	3	1	PR	10	Cylindrique	Pic
<u>51</u>	4	2	PN	15	Entonnoir	Début
<u>52</u>	5	3	PR	15	Entonnoir	Début
<u>53</u>	5	2	PR	20	Entonnoir	Fin
<u>54</u>	3.5	1	PR	20	Cylindrique	Début
<u>55</u>	3	1	PR	20	Entonnoir	Pic
<u>56</u>	7	4	PR	20	Entonnoir	Fin
<u>57</u>	5	3	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>58</u>	4	2	PN	12	Entonnoir	Fin
<u>59</u>	6	3	PN	18	Entonnoir	Fin
<u>60</u>	8	5	PR	20	Entonnoir	Fin

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

N.B : Répartition des prélèvements :

- De prélèvement N° 01 à 03 : *l'exploitation N° I (ferme CHIFFA- YAHIA-),*
- De prélèvement N° 04 à 11 : *l'exploitation N° II (ferme SOUMAA- BAHTOUL-),*
- De prélèvement N° 12 à 18 : *l'exploitation N° III (ferme CHIFFA- CQA-),*
- De prélèvement N° 19 à 57 : *l'exploitation N° VI (ferme MOUZIAI- ZGHAIMI-),*
- De prélèvement N° 58 à 60 : *l'exploitation N° V (ferme BENI MERED).*

ANNEXE -4-

RESULTATS GLOBAUX DES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES DE NOS PRELEVEMENTS

N° de prélèvement	Les staphylocoques (présence ou absence)	N° de prélèvement	Les staphylocoques (présence ou absence)
<u>01</u>	+	<u>31</u>	+
<u>02</u>	-	<u>32</u>	-
<u>03</u>	+	<u>33</u>	-
<u>04</u>	-	<u>34</u>	-
<u>05</u>	+	<u>35</u>	-
<u>06</u>	-	<u>36</u>	-
<u>07</u>	-	<u>37</u>	-
<u>08</u>	+	<u>38</u>	-
<u>09</u>	+	<u>39</u>	-
<u>10</u>	-	<u>40</u>	-
<u>11</u>	+	<u>41</u>	-
<u>12</u>	-	<u>42</u>	-
<u>13</u>	+	<u>43</u>	-
<u>14</u>	-	<u>44</u>	+
<u>15</u>	+	<u>45</u>	-
<u>16</u>	+	<u>46</u>	-
<u>17</u>	+	<u>47</u>	-
<u>18</u>	+	<u>48</u>	-
<u>19</u>	-	<u>49</u>	-
<u>20</u>	-	<u>50</u>	+
<u>21</u>	-	<u>51</u>	-
<u>22</u>	+	<u>52</u>	-
<u>23</u>	+	<u>53</u>	-
<u>24</u>	-	<u>54</u>	-
<u>25</u>	-	<u>55</u>	-
<u>26</u>	-	<u>56</u>	+
<u>27</u>	-	<u>57</u>	-
<u>28</u>	-	<u>58</u>	-
<u>29</u>	+	<u>59</u>	+
<u>30</u>	-	<u>60</u>	+

(+) : présence/ positif.

(-) : absence/ négatif.

ANNEXE -5-

❖ MATERIAL UTILISE : APPARIALLAGE ET VERRERIE

Nous avons utilisé le matériel courant de laboratoire est en particulier, ce qui suit :

- Réfrigérateur réglable a $+4C^0$;
- Autoclave ;
- Stérilisateur ;
- Tubes à essai ;
- Boites de Pétri ;
- Anses de palatine ;
- Pipettes Pasteurs ;
- Etaleurs en verre stérile ;
- Bec benzène.