



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Contribution à l'étude de l'évolution de la contamination du lait cru
bovin par les staphylocoques à coagulase positive au cours de la
chaîne de production laitière**

Présenté par
AMMAM Abderrahmane et AKHDARI Boulanouar

Devant le jury :

| | | | |
|-----------------------|-----------------|------------------------|----------------------|
| Président(e) : | M KELANEMER R. | MAA | I.S.V de Blida |
| Examineur : | Mme MEKADEMI K. | Docteur vétérinaire | I.S.V de Blida |
| Promoteur : | M HAMIROUNE M. | MCB | Université de Djelfa |
| Co-promoteur : | M BERBER A. | Professeur | I.S.V de Blida |

Année : Année 2015/2016

Remerciement

Ma reconnaissance, et mes sincères remerciements vont à M HAMIROUNE Mourad et M BERBER Ali pour nous avoir dirigés tout au long de la réalisation de ce travail. Leurs orientations, leurs encouragements, leurs disponibilités constantes m'ont été d'une précieuse aide.

On tient à remercier les membres du jury :

Monsieur le professeur KELANEMER R. qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Madame MEKADEMI K. pour avoir accepté d'examiner notre travail.

On tient à remercier également Mlle DJEGHBOUB S. pour son aide et son encouragement.

On tient à remercier également M SELLAMNA F. et tous qui nous ont aidés au niveau de l'institut technique d'élevage de BAB ALI et au niveau de la laiterie de COLAITAL (BIRKHADEM) pour leurs bonnes orientations et pour leur aide précieuse.

On tient à remercier également M LAFRI le directeur de l'I.S.V de Blida pour nous avoir donné accès au laboratoire LBRA

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

À mes parents,

À mes frères et ma sœur

À ma grande famille, du grand au petit

À tous mes amis d'enfance et du long parcours scolaire et

Universitaire.

À tous mes enseignants de l'école primaire jusqu'à l'université

À toute la promotion 2016

ABDERRAHMANE

Dédicaces

À mes chers parents,

Pour leurs sacrifices, leur amour, leurs prières et leur soutien.

À ma chère famille,

Mes frères spécialement Ayoub et ma chère sœur

et aux autres Petit ou grand, proche ou lointain

À tous mes amis,

Sans qui la vie me semblerait bien fade, je vous souhaite la

prospérité et le succès.

À tous mes enseignants avec mes profondes considérations,

Qui n'ont épargné aucun effort pour nous offrir un bon enseignement.

Et à tous ceux qui nous ont assistés, dans la réalisation et le bon

déroulement de ce travail.

BOULANOUAR

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 a été d'identifier et de dénombré les staphylocoques à coagulase positive présents dans le lait cru des vaches laitières issues de la ferme d'Institut Technique Des Elevages (Baba Ali) et de la laiterie de COLAITAL (Bir Khadem), de chercher les paramètres qui gèrent le taux de contamination dans cette région. Pour cela, nous avons réalisé une enquête (questionnaires distribués aux responsables de la ferme) et des analyses bactériologiques réalisées au niveau du laboratoire LBRA de l'Institut vétérinaire de Blida.

Les résultats bactériologiques ont montré que 23% des vaches prélevées ont présenté des staphylocoques à coagulase positive dans leurs laits. Ces résultats sont influencés par les facteurs étudiés (le nombre de gestation, l'âge, le niveau de la production lactée...).

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

Mots clés : staphylocoques à coagulase positive, analyse bactériologique, vaches laitières, colaital, ITELV.

ABSTRACT

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 aimed to identify and enumerate the Coagulase-Positive Staphylococci in the milk of dairy cows from a farm of ITELV (BAB ALI) and from the COLAITAL dairy (BIRKHADEM), and understand the parameters that manage the rate of contamination in this region. To do this, we conducted an investigation (questionnaires distributed to the managers of the farm), and an examination of bacteriological analysis at laboratory LBRA of the Veterinary Institute of Blida.

Bacteriological results have shown that 23% of cows sampled has Coagulase-Positive Staphylococci in their milk. These results are influenced bay the factors studied (the number of gestation, age, level of milk production. . .).

So the consumption of fresh milk is still at risk.

Key words: Coagulase-Positive Staphylococci, bacteriological analysis, dairy cattle, colaital, ITELV.

ملخص

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

الهدف من دراستنا كان التعداد والبحث عن ستافيلوكوك كواجيلاز (+) الموجود في حليب البقر المنحدر من مزرعة المعهد التقني لتربية الحيوانات (بابا علي)، وكذلك على مستوى ملبنة "كوليتال" بئر خادم بالعاصمة ومعرفة العوامل المتسببة في ذلك (الإصابة بستافيلوكوك).

لأجل ذلك لقد قمنا بتحقيق (عبارة عن أسئلة وزعت على المسؤولين والقائمين في المزرعة) وتحليل بكتريولوجي بالمخبر ل.ب.ر.أ بالمعهد الوطني للعلوم البيطرية -البلدية-.

نتائج التحليل المخبري قد أوضحت نسبة 23% من هذه الأبقار يحتوي حليبها على بكتيريا ستافيلوكوك كواجيلاز (+) , هذه النتائج مرتبطة بالعوامل المدروسة (عدد مرات الحمل, السن, مستوى إنتاج الحليب ,.....).

إذن إستهلاك الحليب الطازج يبقى دائما مصدر للخطر.

الكلمات الرئيسية: ستافيلوكوك كواجيلاز (+), تحليل بكتريولوجي, الأبقار الحلوب, المعهد التقني لتربية الحيوانات, كوليتال.

Liste des tableaux

| | Titre du tableau | Page |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Tableau 1 : | Présentation des espèces des staphylocoques en fonction de leurs propriétés biochimiques..... | 09 |
| Tableau 2 : | Caractéristiques de conduite du troupeau étudié..... | 20 |
| Tableau 3 : | Résultat du dénombrement des Staphylocoque à coagulase positive par comptage des colonies..... | 21 |
| Tableau 4 : | Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon l'âge..... | 22 |
| Tableau 5 : | Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon le nombre de gestations..... | 23 |
| Tableau 6 : | Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon le niveau de production lactée..... | 24 |
| Tableau 7 : | Répartition des résultats selon le stade de lactation..... | 25 |
| Tableau 8 : | Pourcentage des résultats selon le stade de lactation..... | 25 |
| Tableau 9 : | Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon la forme des trayons..... | 26 |
| Tableau 10 : | Résultat du dénombrement des Staphylococcus aureus et température de stockage (en UFC/ml)..... | 27 |

Liste des figures

| | Titre des figures | Page |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Figure 1 : | Composition moyenne du lait de vache cru..... | 6 |
| Figure 2 : | Prévalence de staphylocoques à coagulase positives dans la ferme étudiée | 21 |
| Figure 3 : | Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon l'âge..... | 22 |
| Figure 4 : | Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon le nombre de gestation..... | 23 |
| Figure 5 : | Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon la production lactée..... | 24 |
| Figure 6 : | Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon le stade de lactation..... | 25 |
| Figure 7 : | Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon la forme des trayons..... | 26 |

SOMMAIRE

| | |
|-------------------|---|
| Introduction..... | 1 |
|-------------------|---|

PARTIE BEBLIOGRAPHIQUE

| | |
|--------------------------------------------------|----------|
| I. Généralités sur le lait cru bovin..... | 2 |
| I.1. Définition légale du lait | 2 |
| I.2. Composition | 2 |
| I.2.1. L'eau..... | 2 |
| I.2.2. Matière grasse | 2 |
| I.2.3. Matière azotée..... | 3 |
| I.2.4. Les glucides..... | 3 |
| I.2.5. Matière minérale..... | 4 |
| I.2.6. Biocatalyseurs..... | 5 |
| I.2.6.1. Enzymes..... | 5 |
| I.2.6.2 Vitamines..... | 5 |
| I.3. Caractéristiques organoleptiques..... | 6 |
| I.3.1. La couleur..... | 6 |
| I.3.2. L'odeur..... | 6 |
| I.3.3. La saveur..... | 6 |
| I.3.4. La viscosité..... | 7 |
| I.4. Qualité hygiénique..... | 7 |
| I.5. Qualité bactériologique..... | 7 |
| I.5.1. Flore lactique..... | 8 |
| I.5.2. Flore thermorésistante..... | 8 |
| I.5.3. Flore coliforme..... | 8 |
| I.5.4. Flore psychotrope..... | 8 |
| I.5.5. Flore pathogène..... | 8 |
| II. Les staphylocoques..... | 9 |
| II.1. Taxonomie..... | 9 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| II.2. Pathogénie..... | 9 |
| II.3. Mammites staphylococciques..... | 10 |
| II.3.1. Mammites cliniques..... | 10 |
| II.3.2. Mammites subcliniques..... | 10 |
| II.4. Identification et différenciation du genre et des espèces..... | 11 |
| II.4.1. Milieux d'isolement..... | 11 |
| II.4.2. Aspect des colonies..... | 11 |
| II.4.3. Aspect microscopique..... | 11 |
| II.4.4. Tests d'identification..... | 11 |
| III. Habitat des staphylocoques et contamination du lait cru bovin..... | 12 |
| III.1. Habitat des staphylocoques..... | 12 |
| III.1.1. Chez l'être vivant..... | 12 |
| III.1.2. Dans l'environnement..... | 12 |
| III.1.3. Dans les aliments et leur environnement de production..... | 13 |
| III.2. Contamination du lait bovin..... | 14 |
| III.3. Influence de la machine à traire facteur sur la contamination du lait cru bovin par les staphylocoques..... | 14 |

PARTIE EXPERIMENTALE

| | |
|----------------------------------------------------------|----|
| Introduction | 15 |
| I. Objectifs | 15 |
| II. Présentation de la région de l'étude..... | 15 |
| III. Matériel et méthodes | 15 |
| III.1. Présentation des élevages..... | 15 |
| III.2. Période et laboratoire de l'étude..... | 16 |
| III.3. Echantillonnage..... | 16 |
| III.3.1. Technique de prélèvement..... | 16 |
| III.3.2. Transport et conservation des échantillons..... | 16 |
| III.4. Analyses bactériologiques..... | 17 |
| III.5. Analyses statistiques..... | 19 |
| IV. Résultats..... | 20 |

| | |
|-----------------------------------------|----|
| IV.1. Lait cru de la ferme..... | 20 |
| IV.2. Lait cru des points de vente..... | 27 |
| V. Discussion..... | 28 |
| VI. Conclusion..... | 31 |
| Les références bibliographiques..... | 32 |

INTRODUCTION

Le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens. Ils apportent la plus grosse part de protéines d'origine animale. En regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présente une forte concentration en nutriments. Mais le lait n'a pas seulement un intérêt alimentaire, il occupe une place importante chez les algériens. Ce n'est d'ailleurs pas par hasard qu'il est offert comme signe de bienvenue, traduisant ainsi, par l'acte notre tradition d'hospitalité.

Le risque d'altération possible de lait par différents micro-organismes utiles ou pathogènes nécessite un suivi microbiologique et physico-chimique rigoureux dès la traite jusqu'à la réception au niveau de la laiterie et au cours de fabrication des produits laitiers.

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 objectifs de cette étude sont :

- La recherche et le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive dans les échantillons de lait prélevés afin de déterminer leur prévalence dans un élevage bovin étudié et dans le point de vente destiné.
- Interprétation des résultats du questionnaire pour objectif d'explorer les sources majeures de contamination du lait cru



PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE I :

GENERALITES SUR LE LAIT CRU BOVIN

I. Généralités sur le lait cru bovin

I.1. Définition légale du lait

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant :

« Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum » (Alais, 1975).

Le Codex Alimentarius en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Selon Deforges et al. en 1999, le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes.

I.2. Composition

I.2.1. L'eau

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. En elles, sont dispersées tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (Mathieu, 1998).

I.2.2. Matière grasse

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre (Luquet, 1985).

Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K (Goursaud, 1985).

La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe, dans la phase dispersante qu'est le lait écrémé (Boutonnier, 2008).

Cet état globulaire est fragile ; toute altération de la membrane par voie chimique, physique et microbienne conduit à la déstabilisation de l'émulsion. Cette évolution peut être accidentelle, elle se traduit alors le plus souvent par une séparation de la phase grasse sous forme d'huile ou d'agrégats et/ou par l'apparition de flaveurs indésirables (rancidité-oxydation) ; lorsqu'elle est dirigée, elle permet la concentration de la phase grasse sous forme de beurre après barattage, ou sous forme d'huile de beurre et de matière grasse laitière anhydre après chauffage et centrifugation (Madji, 2009).

I.2.3. Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait (Goursaud, 1985). Les protéines se répartissent en deux phases : une phase micellaire et une phase soluble. La phase micellaire représente la caséine totale (environ 80% des protéines du lait) du lait. Elle est formée par quatre protéines individuelles :

- Alpha-caséines ou caséines α_1 36 % et α_2 10 %
- Bêta-caséine ou caséine β 34 %
- Kappa-caséine ou caséine κ 13 %
- Gamma-caséines ou caséine γ 7 % (produits de la protéolyse de la β -caséine) (Goy et al., 2005).

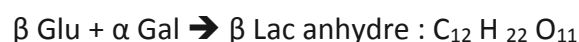
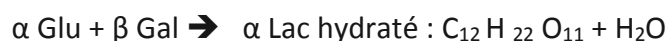
Une micelle de caséine contient environ 92 à 93% de protéines, les caséines, et 8% de minéraux. La partie minérale de la micelle comporte 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrate et de magnésium (2,9 % de Ca, 0,1% de Mg, 4,3% d'ions phosphate, 0,5% d'ions citrate) (Cayot et Lorient, 1998). La présence de phosphate de calcium lié à la caséine est l'une des forces responsables de la stabilité de la structure des micelles de caséine (Marchin, 2007).

Une propriété importante des micelles est de pouvoir être déstabilisée par voie acide ou par voie enzymatique et de permettre la coagulation. Elle constitue le fondement de la transformation du lait en fromage et en laits fermentés (Ramet, 1985).

L'autre fraction protéique (environ 17%) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine (Cayot et Lorient, 1998).

I.2.4. Les glucides

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g par litre. C'est un disaccharide constitué par de l' α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses (Luquet, 1985):



Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (Morrissey, 1995).

- Fermentation lactique : due aux bactéries lactiques naturelles ou ajoutées (ferments lactiques) qui utilisent le lactose en le transformant en acide lactique. Cette fermentation lactique est souvent accompagnée d'une production plus au moins grande de substances secondaires (ex. diacétyle) responsables de l'arôme des produits laitiers (Gordon et Loisel, 1991).
- Fermentation propionique : due aux bactéries propioniques qui transforment le lactose en acide propionique et en acide acétique responsables de la flaveur des fromages à pâte cuite et en gaz carbonique induisant l'ouverture de ces fromages (Luquet, 1985).
- Fermentation butyrique : par des bactéries du genre Clostridium qui utilisent l'acide lactique déjà produit en le transformant en acide butyrique, responsable d'odeurs putrides et de goût piquant, et en gaz carbonique et hydrogène. Ces substances induisent le gonflement tardif des fromages, en particulier à pâte cuite.
- Fermentation alcoolique : due à des levures qui hydrolysent le lactose en glucose et galactose et qui transforment ensuite le glucose en alcool éthylique. Cette fermentation est utilisée en particulier dans la fabrication du kéfir, boisson issue de la fermentation du lait, contenant peu d'alcool et légèrement gazeuse.

A température élevée, le lactose participe avec les protéines à des réactions de brunissement non enzymatique pouvant altérer la couleur des laits stérilisés (Alais, 1975).

I.2.5. Matière minérale

La matière minérale du lait (7g à 7,5g/l) est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique. Il est possible de doser les matières minérales ou cendres du lait par une méthode de calcination à 550°C (Luquet, 1985).

Les minéraux sont présents, soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Les ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions (Mathieu, 1998). Il existe un équilibre entre les formes solubles et colloïdales, d'une part, et entre les formes ionisées et non dissociées d'autre part. Cet état est précaire parce qu'il est sensible à divers facteurs, notamment au pH, à la température, et à la concentration ou à l'addition de calcium. Toute altération de ces équilibres modifie la stabilité du lait, notamment les propriétés de la caséine native.

En raison de la présence concomitante de lactose et de phosphopeptides (produits d'hydrolyse de la caséine), les minéraux sont, de tous les éléments du lait, ceux qui sont les mieux adsorbés

et retenus. A cet égard, le rapport calcium/phosphore (Ca/P) du lait de vache (voisin de 1,2), bien qu'inférieur à celui du lait maternel (voisin de 2,2), est de loin supérieur à celui des autres denrées alimentaires, faisant du lait une excellente source de calcium et un bon correctif des rations pauvres en calcium (FAO, 1995).

I.2.6. Biocatalyseurs

I.2.6.1. Enzymes

Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Plus de 60 enzymes principales ont pu être isolées du lait ou dont l'activité a été déterminée. La moitié d'entre elles sont des hydrolases (Blanc, 1982) (Pougheon, 2001).

Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

- Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipases, protéases). Ainsi, on distingue des protéases originelles du lait ; la plasmine est le composant majoritaire (elle provient du sang et migre via la glande mammaire), et des protéases d'origine microbienne. Le genre *Pseudomonas* et tout particulièrement l'espèce *Pseudomonas fluorescens*, synthétise des protéases exocellulaires thermostables. Il est également à souligner que dans les laits de mammites, le nombre de cellules somatiques peut être considérablement accru, le niveau de protéolyse est nettement plus élevé que dans les laits normaux (Miranda et Gripon, 1986).
- Rôle antibactérien, elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et lysozyme).
- Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase, acétylsterase, sont des enzymes thermosensibles) et d'espèces (test de la xanthine-oxydase pour détecter le lait de vache dans le lait de chèvre) (Pougheon, 2001).

I.2.6.2 Vitamines

Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique.

On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait
- les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (Debry, 2001).

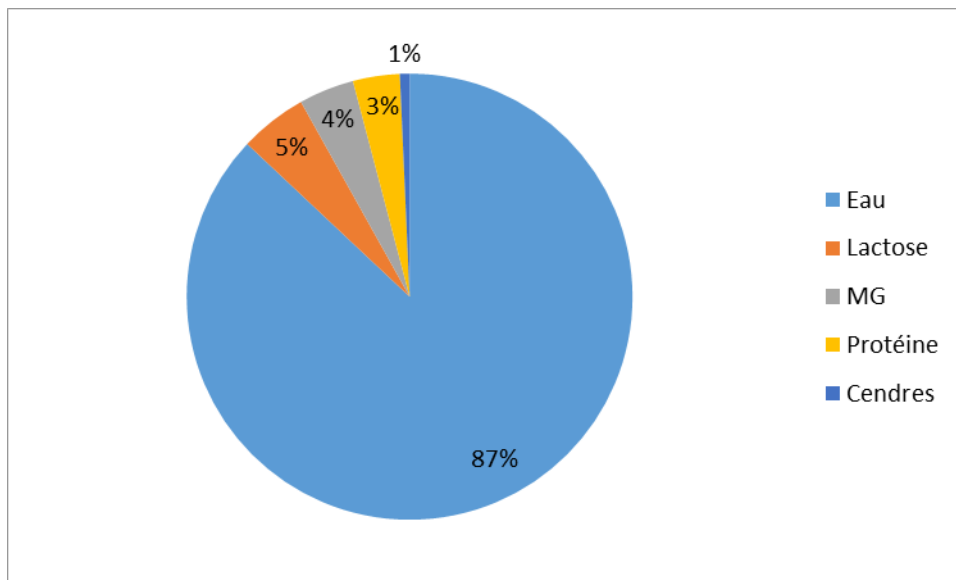


Figure N°1: Composition moyenne du lait de vache cru

I.3. Caractéristique organoleptique

VIERLING (2003) rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

I.3.1. La couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (FREDOT, 2005).

REUMONT (2009) explique que dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche.

I.3.2. L'odeur

Selon VIERLING (2003), l'odeur est caractéristique le lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

I.3.3. La saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est en parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à

l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (THIEULIN et VUILLAUME, 1967).

I.3.4. La viscosité

RHEOTEST (2010) a montré que la viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes.

La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques.

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. Ainsi, un consommateur d'Europe centrale évalue de manière très positive le lait concentré à forte consistance (filandreux). Il associe la teneur élevée des composants du lait à la viscosité élevée.

I.4. Qualité hygiénique

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).

I.5. Qualité bactériologique

Le lait est un milieu de culture et de protection pour plusieurs microorganismes, y compris les microorganismes pathogènes pour l'humain. (LAMONTAGNE et *al.*, 2002)

Le lait contient peu de microorganisme lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain. Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores. (Jay, J.M 1986) (Robinson, R.K 1981). Par contre, chez l'animal malade, d'autre

microorganisme peuvent se trouver dans le lait et sont généralement pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire. (LARPENT J.P 1996)

Les bactéries rencontrées dans le lait peuvent être classées :

- ✓ Selon la classification classique des bactéries : gram+, gram-, coques et bacilles
- ✓ Selon leur comportement les effets qu'elles génèrent, on distingue 6 groupes.

I.5.1. Flore lactique

Cette flore transforme le lactose en acide lactique et génère une chute de pH inhibant le développement d'autres germes, tels les psychotropes, les coliformes, les salmonelles et les streptocoques.

I.5.2. Flore thermorésistante

C'est la flore de contamination banale, provenant le plus souvent de la machine à traire et du tank, non détruite par la réfrigération, composée de *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Microbacterium* et aussi de formes sporulées de *Bacillus* ou *Clostridium* pouvant se développer dans des laits stérilisés.

I.5.3. Flore coliforme

En microbiologie alimentaire, le terme - coliforme - regroupe les entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30°C. Il s'agit d'un groupe disparate issu de plusieurs tribus qui comprend les germes suivants : *Esherichia*, *Cirobacter*, *Enterobacter* et *klebsiella*. Son développement est optimum à une température de 37°C, possible entre 10 et 45°C et stoppé à une température inférieure à 4°C (au moins pendant 2 jours). Cette croissance est impossible à un pH ≤ 4,5 et les germes coliformes sont détruits par pasteurisations.

I.5.4. Flore psychotrope

Elle est composée de germes gram négative, aérobies, non pathogènes d'où l'on peut détacher les *Pseudomonas*, fortement psychotrope (il se multiplie par 100 en 48 heure à 4°C) et le *Bacillus* qui est certes psychotropes mais également thermorésistant sporulé.

I.5.5. Flore pathogène

Les microorganismes suivants sont pathogènes pour l'homme :

Mycobacterium bovis, *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella*, *Streptococcus agalatae*, *Esherichia coli*, *Salmonella*, *Leptospira*, *Listeria monocytogènes*, *Bacillus cereus*, *Pasteurella multocida*, *Clostridium perfringens*, *Coxiella burnetii*, *Compylobacter*, *Yersinia*.



CHAPITRE II :

LES STAPHYLOCOQUES

II. Les staphylocoques

II.1. Taxonomie

Les staphylocoques sont des germes gram positifs, appartenant à la famille de *Micrococcaceae*.

Ils ont un métabolisme aéroanaérobie. On distingue :

- Les staphylocoques à coagulase positive (SCP) dont l'espèce fondamentale est le *S. aureus*, mais qui comprend d'autres espèces comme *S. intermedius* (Tableau) (EUZEBY, 2005)
- Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) qui regroupent une vingtaine d'espèces. Toutefois, certaines espèces classées dans le groupe des SCN peuvent produire une coagulase : *S. delphini*, *S. schleiferi* et *S. lutrae* (Tableau) (EUZEBY, 2005).

Tableau 1: Présentation des espèces des staphylocoques en fonction de leurs propriétés biochimiques (FLEURETTE, 2000)

| | Coagulase | Novobiocine |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-------------|
| <i>S. aureus subsp. aureus;</i> <i>S. aureus subsp. anaérobis</i> | + | S |
| <i>S. delphini;</i> <i>S. hyicus (certaines souches);</i> <i>S. Intermedius.</i> | + | S |
| <i>S. auriculairis;</i> <i>S. lugdunensis;</i> <i>S. capitis;</i> <i>S. caprae;</i> <i>S. carnosus;</i> <i>S. caseolyticus;</i> <i>S. chromogenes;</i> <i>S. saprophyticus subsp. bovis;</i> <i>S. epidermidis</i> <i>S. schleiferi subsp. schleiferi;</i> <i>S. felis</i> <i>S. simulans;</i> <i>S. haemolyticus;</i> <i>S. hominis;</i> <i>S. weneri.</i> | - | S |
| <i>S. xylosus;</i> <i>S. kloosii;</i> <i>S. arlettae;</i> <i>S. lentus;</i> <i>S. saccharolyticus;</i> <i>S. cohnii subsp. urealyticum;</i> <i>S. gallinarum;</i> <i>S. cohnii subsp. cohnii;</i> <i>S. sciuri subsp. carnatus;</i> <i>S. sciuri subsp. sciuri;</i> | - | R |

S: Sensible à la novobiocine.

R: Resistance à la novobiocine

II.2. Pathogénie

L'opportunité du *S. aureus* semble liée à la production de nombreuses toxines et enzymes qui augmenteraient sa virulence. Les enzymes produites sont des coagulases, nucléases

thermostables, fibrinolysines, phosphatases, protéases, lipases et des hyaluronidases. Parmi les diverses toxines sécrétées, les plus importantes sont les hémolysines α , β , δ et γ leucocidine et les entérotoxines A, B, C, D et E. Ces dernières sont bien connues comme responsables d'empoisonnements alimentaires mais jusqu'à maintenant, on ne peut relier leur sécrétion à aucune autre maladie (Sourek et al., 1979). On connaît bien les mécanismes d'action de certains de ces produits.

La coagulase se lie stœchiométriquement avec la prothrombine pour former un complexe actif, la staphylothrombine qui convertit le fibrinogène soluble en fibrine insoluble (Wegrzynowicz et al., 1979). La fibrine se dépose alors autour des staphylocoques, les protégeant ainsi des phagocytes de l'hôte. Les hémolysines, en détruisant les globules rouges, créent une anoxie locale favorable à l'implantation des staphylocoques dans les tissus, bien que la production d'hémolysines ne corresponde pas à la pathogénicité chez tous les microorganismes. L'hémolysine a ou a-toxine est aussi responsable chez le lapin et la souris, de dermonécrose en injection sous-cutanée et de létalité par voie veineuse (Rogolsky, 1979). La leucocidine est toxique pour les leucocytes polynucléaires et les macrophages. Enfin, l'hyaluronidase aide le *S. aureus* à pénétrer dans les tissus de l'hôte en hydrolysant l'acide hyaluronique, sorte de ciment intercellulaire.

II.3. Mammites staphylococciques

Les contaminations intra-mammaires du lait peuvent être à l'origine de mammites qui se distinguent en :

II.3.1. Mammites cliniques

Les mammites cliniques sont caractérisées par des modifications macroscopiquement visibles de la quantité et de la qualité du lait, de la sécrétion de la mamelle, de symptômes locaux inflammatoires de la mamelle (douleur, chaleur, tuméfaction) et de symptômes généraux (hyperthermie, anorexie, arumination). Selon la gravité et la simultanéité des symptômes, on distingue, par ordre décroissant de gravité, les mammites cliniques suraigües, aiguës et subaigües (POUTREL, 1985)

II.3.2. Mammites subcliniques

Le lait ne présente aucune modification macroscopique. Par contre, l'examen cytologique du lait met en évidence une augmentation parfois considérable du nombre de polynucléaires (HANZEN et CASTAIGNE, 2002)

Les causes de mammites subcliniques sont le plus souvent des bactéries dites contagieuses, par exemple : *Streptococcus agalactiae*, *S. aureus* et *Mycoplasme* (SERIEYS, 1985).

II.4. Identification et différenciation du genre et des espèces

II.4.1. Milieux d'isolement

Le milieu le plus fréquemment utilisé est la gélose au sang ordinaire, incubée à 35 – 37°C + 5-10 % CO₂ pendant 16 – 48H. (BAKHOUM, 2004)

Les Staphylocoques peuvent être isolés sur d'autres milieux tels que :

- La gélose de CHAPMANN
- La gélose STAPH/STREP sélective
- La gélose au mannitol (Salt) (MSA).

II.4.2. Aspect des colonies

Sur la gélose au sang les Staphylocoques donnent des colonies généralement opaques, pouvant être blanches ou crémeuses et dès fois jaune-orangé.

Les colonies peuvent être entourées ou non d'une hémolyse. (BAKHOUM, 2004)

II.4.3. Aspect microscopique

Les Staphylocoques sont des Cocci Gram positives se présentant sous l'aspect de coques en petits amis, en diplocoques ou en très courtes chaînettes de 3 à 5 éléments. (BAKHOUM, 2004)

II.4.4. Tests d'identification

➤ Test à la catalase

Les Staphylocoques sont catalase positive, à l'exception de *Staphylococcus aureus anaerobius* et *Staphylococcus capitis* qui sont catalase négative.

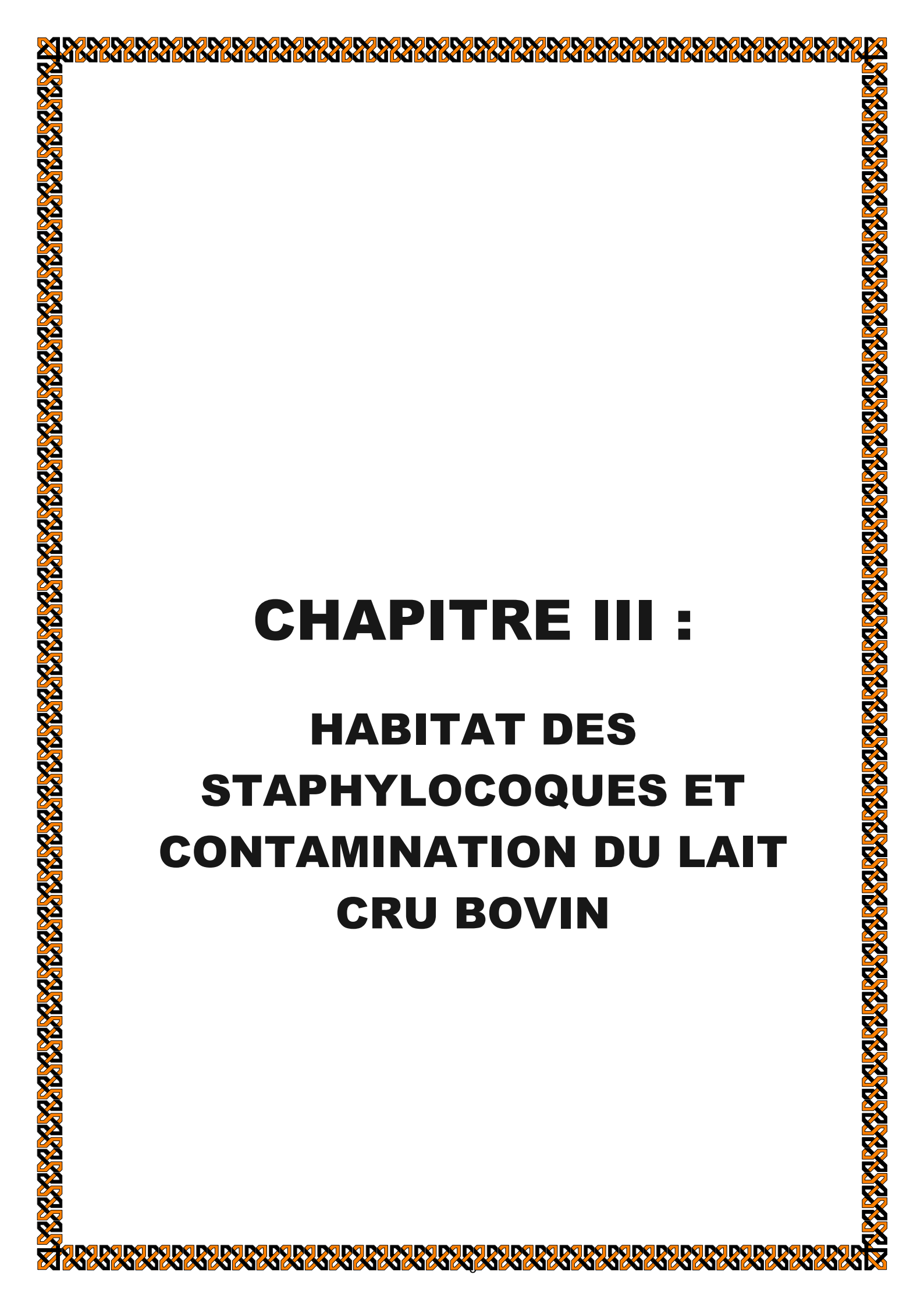
➤ Test à la coagulase

Staphylococcus aureus et les souches de *S. hyicus*, *S. intermedius*, et *S. schleiferi* sous *sp coagulans* sont coagulase positive et thermostable nucléase.

Les autres espèces de Staphylocoques sont coagulase négative et thermostable nucléase négative.

➤ Test à l'identification modifié

Permet de différencier le genre *Staphylococcus* et du genre *Micrococcus*. (BAKHOUM, 2004)



CHAPITRE III :

HABITAT DES

STAPHYLOCOQUES ET

CONTAMINATION DU LAIT

CRU BOVIN

III. Habitat des staphylocoques et contamination du lait cru bovin

III.1. Habitat des staphylocoques

III.1.1. Chez l'être vivant

La présence de réservoirs de *S. aureus* chez les hôtes humains et animaux est une réalité. En effet, *S. aureus* fait partie de la flore commensale normale des mammifères et des oiseaux, à l'inverse de certaines espèces de staphylocoques qui ont, eux un hôte préférentiel. *S. aureus* semble capable de coloniser tous les mammifères (marins et terrestres) même si différents biotypes de souches de *S. aureus* pourraient être raccordés à des hôtes spécifiques. Par exemple, selon une étude de 2003, un biotype dit « abattoir » serait associé aux produits de boucherie et au personnel des unités de production des abattoirs (HENNEKINE et *al.*, 2003).

Chez l'homme, *S. aureus* est présent sur plusieurs sites corporels. On le repère sur la surface de la peau et des muqueuses, mais il colonise principalement les fosses nasales, les glandes de la peau, le cuir chevelu, les mains, la bouche, les dents et le périnée (KLOOS et *al.*, 1976) (WILLIAMS, 1963) (SMITH, 2001).

La colonisation de ce micro-organisme, n'induit pas forcément une pathologie puisqu'il existe des porteurs sains dans la population générale. La fréquence du portage sain chez les humains est approximativement de 30 %, cette fréquence diffère selon plusieurs paramètres comme par exemple le site de la colonisation (23 à 46 % au niveau du nez, 24 à 36 % au niveau de la bouche) ou l'âge (jusqu'à 64 % chez les enfants) (SMITH, 2001) (Amir et *al.*, 2006) (WASTON et *al.*, 2006). *S. aureus* peut donc, à partir de ces réservoirs, infecter les lésions cutanées, les glandes mammaires et les muqueuses intestinales ou génitales. Certains facteurs de risque de portage de *S. aureus* ont été identifiés comme les phototypes blancs, le sexe masculin, les diabétiques, les insuffisants hépatiques, les personnes présentant des problèmes cutanés, les sujets séropositifs pour le VIH ou encore les personnes dialysées sont plus à risque d'être porteurs de la bactérie et de développer une infection (WILLIAMS, 1963) (YU et *al.*, 1986).

III.1.2. Dans l'environnement

Le *S. aureus* est une bactérie qui est répandue sur la planète bleue de façon ubiquitaire. Il possède des capacités d'adaptation et de résistance au stress importantes et il est capable de survivre dans un large éventail d'habitats environnementaux. Ces capacités expliquent en partie la difficulté à éradiquer *S. aureus*. La bactérie peut être isolée de façon sporadique dans le sol, l'eau douce, le sable de la plage, l'eau de mer, la surface des plantes. Concrètement, elle est largement présente dans les poussières dispersées dans l'air et les surfaces (DWORKIN et *al.*, 2006). Les difficultés d'éradication du micro-organisme posent un problème en milieu

hospitalier car les personnes hospitalisées peuvent être infectées par des *S. aureus* qui sont d'origine généralement humaine. Ces personnes se retrouvent contaminées par contact direct, par des aérosols, ou bien à partir de surfaces contaminées. Une étude a déterminé que durant une période de 18 mois, 64 % des échantillons d'air prélevés dans un bloc opératoire en activité (durant les opérations) étaient contaminés par *S. aureus* (EDMISTON Jr et *al.*, 2005).

III.1.3. Dans les aliments et leur environnement de production

La bactérie peut se retrouver dans les aliments comme par exemple, le lait, les produits laitiers ou la viande. La contamination des aliments peut être due principalement à la matière première qui est contaminée ou d'origine humaine lors de la fabrication et/ou le conditionnement de l'aliment dans l'industrie agro-alimentaire (CALLON et *al.*, 2007). Ces contaminations sont souvent liées à un défaut d'hygiène du matériel de production ou de l'employé.

La contamination des aliments est un problème à prendre en compte car *S. aureus* peut être responsable de toxi-infections alimentaires. S'il y a plusieurs personnes infectées par une toxi-infection alimentaire collective, elles doivent impérativement se déclarer auprès des agences régionales de santé ou de la direction départementale de la protection des populations). En effet, les toxi-infections alimentaires collective figurent en France dans la liste des maladies à déclaration obligatoire. Cette déclaration obligatoire va être suivie d'une enquête épidémiologique afin d'identifier les aliments responsables et d'appliquer des mesures correctives pour éviter la survenue d'un nouvel incident. Les TIAC à *S. aureus* sont dues à l'ingestion d'entérotoxines staphylococciques. D'après l'institut de veille sanitaire (InVS), les toxi-infections alimentaires collective à staphylocoques sont la première cause de toxi-infections alimentaires collective devant celles liées aux salmonelles, il y a eu 33 % de toxi-infection alimentaire collective à *S. aureus* en France en 2010. Le plus grand épisode de toxi-infection alimentaire collective à *S. aureus* s'est produit au Japon en 2000. Durant l'été, 13000 habitants du pays du soleil levant ont été intoxiqués par du lait écrémé dans la province d'Osaka. Les conséquences pour l'économie laitière fut dramatique (perte de 6 M€, licenciements, etc.) (ASAO et *al.*, 2003) (IKEDA et *al.*, 2005).

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 mammite, 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).

III.3. Influence de la machine à traire facteur sur la contamination du lait cru bovin par les staphylocoques

En pratique, le phénomène d'impact fait suite à l'entrée soudaine d'air atmosphérique par la pièce d'embouchure d'un manchon durant la traite. Le lait contaminé est alors projeté à travers le canal du trayon avec pour effet non seulement la contamination du quartier mais également la création de lésions du canal (LEBERT et *al.*, 1986).

Le phénomène de retour de lait, comme son nom l'indique, correspond à un retour de lait du faisceau trayeur vers le trayon durant la traite. Ce lait chargé des germes qu'il aura pu collecter sur l'extrémité du trayon, sur le manchon ou dans le tuyau court à lait va participer à la contamination du trayon. Ce phénomène est lié à une mauvaise évacuation du lait depuis le manchon jusqu'au lactoduc (BOUDRY, 2005).



PARTIE

EXPERIMENTALE

I.Introduction

Les objectifs de cette étude sont :

- La recherche et le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive dans les échantillons de lait prélevés afin de déterminer leur prévalence dans un élevage bovin étudié et dans le point de vente destiné.
- Interprétation des résultats du questionnaire pour objectif d'explorer les sources majeures de contamination du lait cru

II. Présentation de la région de l'étude

Baba Ali est une agglomération industrielle située à cheval sur les communes de Saoula et Birtouta. Bordée par l'Oued El Harrach, elle est traversée par deux affluents : l'Oued Baba Ali et l'Oued Terro. Sa superficie est de 3km carrée, elle s'étend jusqu'au branchement qui mène vers Mezghani.

Elle est située sur le grand axe Nord-Sud entre Alger et Blida. Elle est desservie par l'Autoroute de la RN1 et par le train de banlieue ouest Alger- El Affroun.

L'une des plus anciennes zones d'activité d'Alger se trouve à Baba Ali. On y trouve un centre d'agriculture et d'expérimentation d'élevage des bovins (ITELV) qui contribue à l'essor de l'économie.

III. Matériel et méthodes

III.1. Présentation des élevages

L'élevage bovin est basé sur trois races : Brune, Pie Noir (Holstein) et Pie Rouge (Montbéliarde). La brune est une vache de grand format ; elle mesure 1,4 m au garrot pour 650 à 750 kg, Elle est classée mixte, mais elle a avant tout un bon potentiel laitier. Elle est aussi appréciée pour sa fécondité, sa longévité, ses qualités de marcheuse, son endurance et son adaptation au plein air en montagne. La Pie Noir est une vache de petite taille, elle a une hauteur au garrot de 1,17 m pour un poids moyen de 350 à 450 kg. C'est une race à une double aptitude viande et lait, avec une prévalence de la production laitière. La Pie Rouge est une race bovine de grande taille. Cette race mesure 1,46 m de hauteur au garrot et 700 kg et 160 à 170 cm.

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.

III.2. Période et laboratoire de l'étude

Les prélèvements du lait ont été réalisés en plusieurs reprises (05): les (02) premiers au mois d'Avril 2016, les restes (03) au mois de Mai de la même année.

III.3. Echantillonnage

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.

III.3.1. Technique de prélèvement

- Lavage des mains.
- Lavage et séchage des trayons.
- Désinfection de l'extrémité du trayon avec un coton imbibé d'alcool à 70°.
- Le flacon à prélèvement est saisi entre le pouce et les doigts de la main gauche puis retourné, le bouchon dirigé vers le bas.
- On dévisse le bouchon de la main droite, puis flacon et bouchon sont maintenus dans la main gauche leur ouverture dirigée vers le sol afin d'éviter toute contamination.
- Elimination du premier jet de lait.
- Le trayon est saisi par la main droite puis ramené en position latérale et traite presque horizontalement dans le flacon incliné au moment où le lait gicle.
- Le flacon est refermé avant d'être totalement redressé.
- On identifie aussitôt le flacon avec la date, le numéro de la vache.

III.3.2. Transport et conservation des échantillons

Tous les flacons contenant les échantillons de lait prélevés dans la journée sont étiquetés (le numéro de la vache et le numéro de troupeau et la ferme). Ils sont ensuite placés dans une glacière et acheminés vers le laboratoire d'analyse. Les prélèvements sont réfrigérés au laboratoire à +4°C.

III4. Analyses bactériologiques

Matériel utilisé :

Il s'agit en somme, des équipements basiques d'un laboratoire usuel de bactériologie :

- Réfrigérateur réglable à +4C ;
- Autoclave ;
- Stérilisateur ;
- Tube à essai ;
- Boite de Pétri ;
- Pipettes Pasteurs ;
- Etaleurs en verre stérile ;
- Bec de benzène ;
- Incubateur ;
- Centrifugeuse ;

Mode opératoire

A). Première étape :

- On utilise le milieu de Baird Parker.
- A l'aide d'une pipette stérile, on dépose 0,1 ml de lait.
- On effectue les dilutions : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , avec l'utilisation d'une nouvelle pipette stérile à chaque dilution.
- On étale le plus rapidement possible, avec l'étaleur, l'échantillon et les dilutions déposées à la surface du milieu de culture. Ne pas toucher les parois de la boîte avec l'étaleur. Utilisation d'un étaleur stérile pour chaque boîte.
- On laisse les boîtes, sur la pailasse avec couvercle, pendant environ 15 min, afin que l'excès d'humidité disparaisse.
- On met les boîtes en incubation à 37 °C pendant 24 h \pm 2 h.

B). Deuxième étape :

- On sort de l'étuve les boîtes mises en incubation la veille et marque les colonies caractéristiques, sur le fond des boîtes, avec le marqueur.
- Les colonies caractéristiques ont noires ou grise, brillantes, convexes, de 1 à 2 mm de diamètre, et entourées d'une auréole d'éclaircissement de la gélose. Un anneau opalescent, immédiatement au contact de la colonie, peut être visible.

- Les colonies non caractéristiques sont noires ou grise, mais ne présentent pas de zones claires.
- Remettre les boîtes de milieu en incubation à 37 °C pendant 24 h ± 2h.

C). Troisième étape : Dénombrement des colonies caractéristiques et non caractéristiques

Il faut que dans les boîtes sélectionnées, au moins l'une d'entre elles contiennent au moins 15 colonies :

- On compte séparément les colonies caractéristiques et non caractéristiques, si elles sont présentes.
- Choisir 3 colonies caractéristiques et/ou 3 colonies non caractéristiques pour réaliser les épreuves de confirmation, sur chacune des boîtes retenues pour le dénombrement.

α. Coloration de Gram

Pour chaque type de colonie, on réalise une coloration de Gram selon la technique suivante :

- ✓ Mise en suspension d'une partie de colonie dans une goutte d'eau distillée sur une lame de verre,
- ✓ Séchage à l'air libre puis fixation par la chaleur,
- ✓ Coloration par le violet de gentiane (15 à 60 s),
- ✓ Traitement de la lame par le lugol (60 s),
- ✓ Rinçage à l'alcool puis à l'eau,
- ✓ Coloration par la fuscine (30 s),
- ✓ Rinçage à l'eau, ensuite les lames sont examinées au microscope à immersion au grossissement x 1000,
- ✓ On détermine alors les caractéristiques des staphylocoques : Gram positif (bactéries colorées en violet), coques, la morphologie de la cellule en microscope optique.

β. Recherche de la catalase

Sur une lame de microscope, on dépose une goutte d'une solution de peroxyde d'hydrogène et, à l'aide d'une tige de verre, on émulsionne la colonie à tester dans la goutte.

- ✓ Si la colonie est catalase positive, des bulles de gaz apparaissent. Recouvrir la goutte de peroxyde d'hydrogène avec une lamelle qui permet parfois de mieux observer les dégagements gazeux (au besoin à l'aide d'un microscope à faible grossissement).
- ✓ La catalase a la capacité de scinder l'eau oxygénée en O² et H₂O.

δ. Préparation d'une culture pour la recherche de la coagulase libre

- ✓ A l'aide d'un fil stérile, on prélève une de chacune des colonies sélectionnées (colonie catalase positive).
- ✓ On ensemence, pour chaque colonie, un tube de bouillon cœur-cervelle (BHIB).
- ✓ Incubation à 37°C, pendant 20 à 24 h.

III.5. Analyses statistiques

Le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive se fait par comptage des colonies caractéristiques.

Les colonies caractéristiques sont des colonies :

- Noirâtres,
 - Brillantes,
 - Entourées d'une zone transparente,
 - Convexes.
- ✓ Si le nombre de colonies caractéristiques dans la boîte est inférieur à 15, le résultat est donné par la formule suivante :

$$N = a \times 10$$

- a : est le nombre de colonies des Staphylocoques à coagulase positive.
 - 10 : car le volume étalé sur chaque boîte = 0,1ml.
- ✓ Si le nombre de colonies caractéristiques dans la boîte est supérieur ou égale 15 (colonies), on utilise la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma a}{V \times 1,1 \times F}$$

- Σa : est la somme des colonies caractéristiques identifiées sur les deux boîtes retenues (à la dilution 10^{-2} et 10^{-3}).
- V : est le volume étalé sur chaque boîte (=0,1ml).
- F : est le taux de dilution correspondant à la dilution 10^{-2} .

IV. Résultats

IV.1. Lait cru de la ferme

IV.1.1. Résultats d'enquête :

Sur 22 vaches, 68,2 % multipares et 31,8 % primipares.

L'âge des vaches prélevées variait de 3 à 8 ans.

Les vaches présentaient deux formes des trayons : en entonnoir et cylindrique.

Le nombre de gestations des vaches était compris entre 1 et 4.

Le niveau de la production lactée variait de 9 litres par jour à 19 litres par jour.

Tous les stades de lactation étaient représentés : début et fin de lactation.

Les robes des vaches présentes étaient brunes, pie rouge et pie noir.

Les caractéristiques de la conduite des troupeaux étudiés sont représentées dans le tableau N°2

Tableau 2: Caractéristiques de conduite du troupeau étudié

| Age moyen au vêlage (ans) | Type de stabulation | Nature de litière | Traite | |
|---------------------------------|------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------|
| | | | Salle de traite | Nombre de traite /jour |
| 3 | Libre | Paille | Non fonctionnelle | 2 fois |

IV.1.2. Résultats bactériologique :

IV.1.2.1. Résultats globaux :

Le taux de positivité de la recherche des staphylocoques à coagulase positives dans le lait cru des vaches prélevées est de 23% alors que la négativité est de 77% (figure N°2)

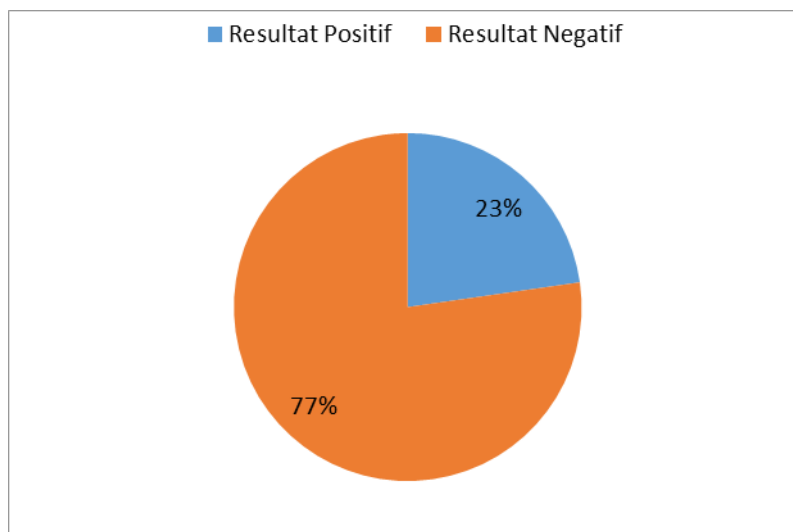


Figure 2: Prévalence de staphylocoques à coagulase positives dans la ferme étudiée

- Pour 23% (5/22) des prélèvements, le lait est contaminé par des staphylocoques à coagulase positives

D'après le tableau N°3, 5 prélèvements pour lesquelles la coagulase était positive avec une moyenne du dénombrement égale à $1,36 \times 10^2$ UFC/ml. Le taux le plus élevée est observée dans le lait provenant de la vache N°06.

Tableau 3: Résultat du dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies

| N° de prélèvement contaminé par des Staphylocoques à coagulase positive | Nombre de Staphylocoques à coagulase positive / ml | Log ₁₀ (Staphylocoques à coagulase positive / ml) |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 2 | 12 | 1,07 |
| 5 | 8 | 0,9 |
| 6 | $4,6 \times 10^2$ | 2,66 |
| 16 | $1,45 \times 10^2$ | 2,16 |
| 19 | $0,54 \times 10^2$ | 1,73 |
| Moyenne | $1,36 \times 10^2$ | 1,7 |

IV.1.2.2. Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon l'âge :

D'après le tableau N°4 et la figure N°3, la fréquence la plus élevée est observée dans la tranche d'âge des [5-9[.

Tableau 4: Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon l'âge

| Age (ans) | Nombre de prélèvements positifs | % |
|-----------|---------------------------------|-----|
| [1-5[| 2 | 40 |
| [5-9[| 3 | 60 |
| Total | 5 | 100 |

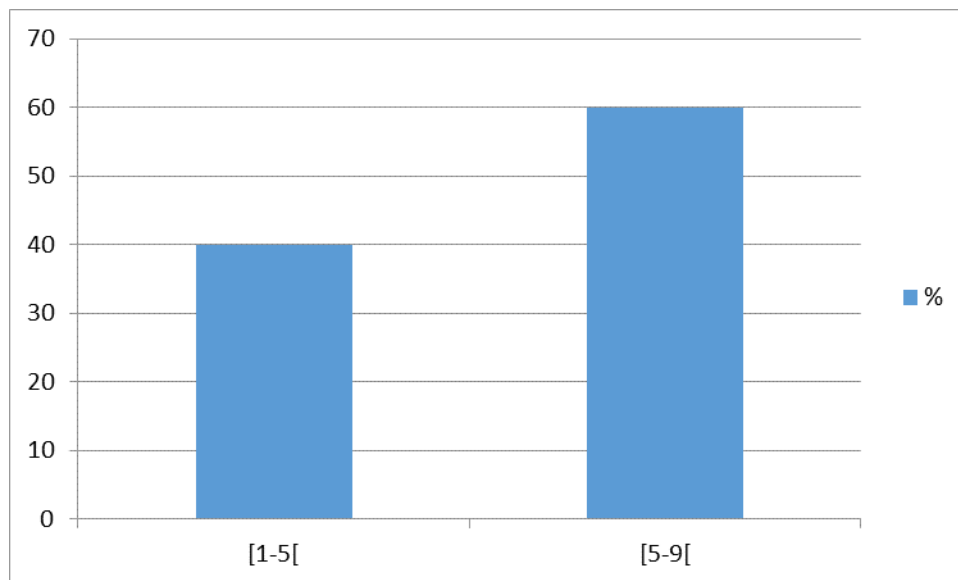


Figure 3: Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon l'âge.

IV.1.2.3. Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon le nombre de gestation :

Le taux de contamination du lait par les staphylocoques à coagulase positive augmente avec le nombre de gestation (Tableaux N°5 et figure N°4)

Tableau 5: Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon le nombre de gestations

| Nombre de gestation | Résultats Positifs | % |
|---------------------|--------------------|-----|
| [1-3[| 2 | 40 |
| [3-5[| 3 | 60 |
| Total | 5 | 100 |

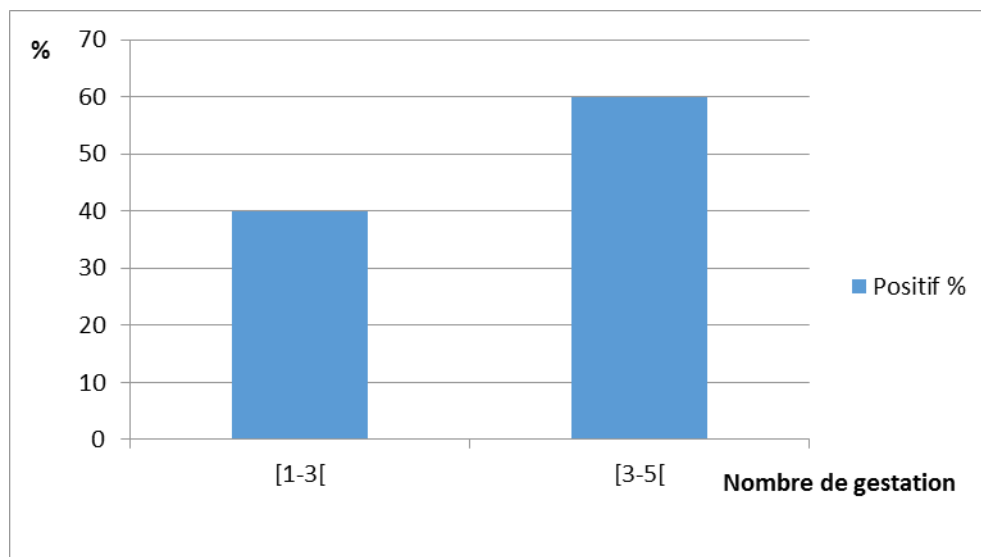


Figure 4: Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon le nombre de gestation.

IV.1.2.4. Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon le niveau de production de lait :

D'après le tableau N°6 et la figure N°5, la fréquence la plus élevée est observée dans la tranche de production lactée de 15 à 25 litres par jour.

Tableau 6: Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon le niveau de production lactée

| Production de lait (l/j) | Résultats Positifs | % |
|--------------------------|--------------------|-----|
| [5-15[| 2 | 40 |
| [15-25[| 3 | 60 |
| Total | 5 | 100 |

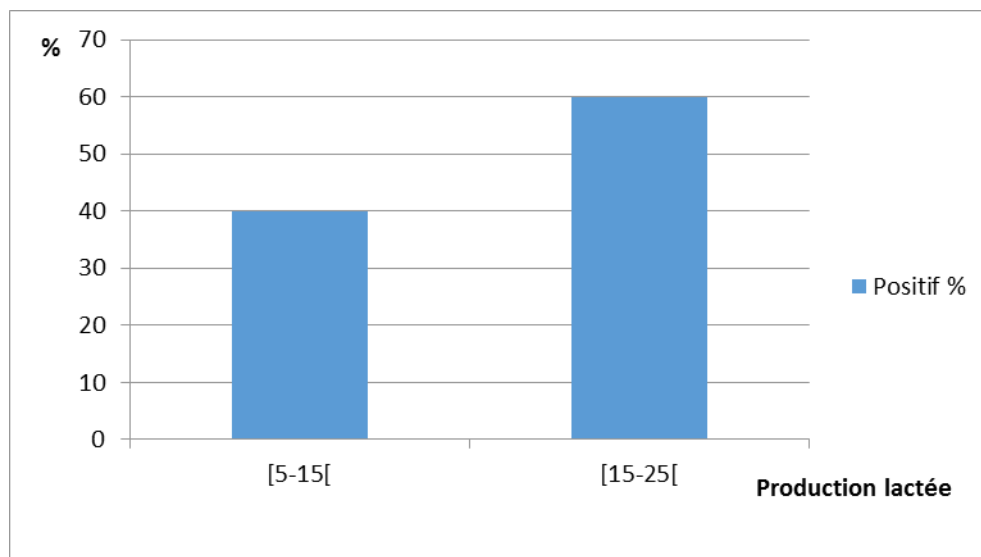


Figure 5: Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon la production lactée.

IV.1.2.5. Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon le stade de lactation :

Le taux le plus élevé de contamination par les staphylocoques à coagulase positive est observé dans le lait des vaches en fin de lactation. (Tableaux N°7, N°8 et la figure N°6)

Tableau 7: Répartition des résultats selon le stade de lactation

| Stade de lactation | Résultats Positifs | Résultats Négatifs | Total |
|--------------------|--------------------|--------------------|-------|
| Début | 3 | 13 | 16 |
| Fin | 2 | 4 | 6 |

Tableau 8: Pourcentage des résultats le stade de lactation

| Stade de lactation | % (+) | % (-) | Total % |
|--------------------|-------|-------|---------|
| Début | 23,1 | 76,9 | 100 |
| Fin | 33,33 | 66,67 | 100 |

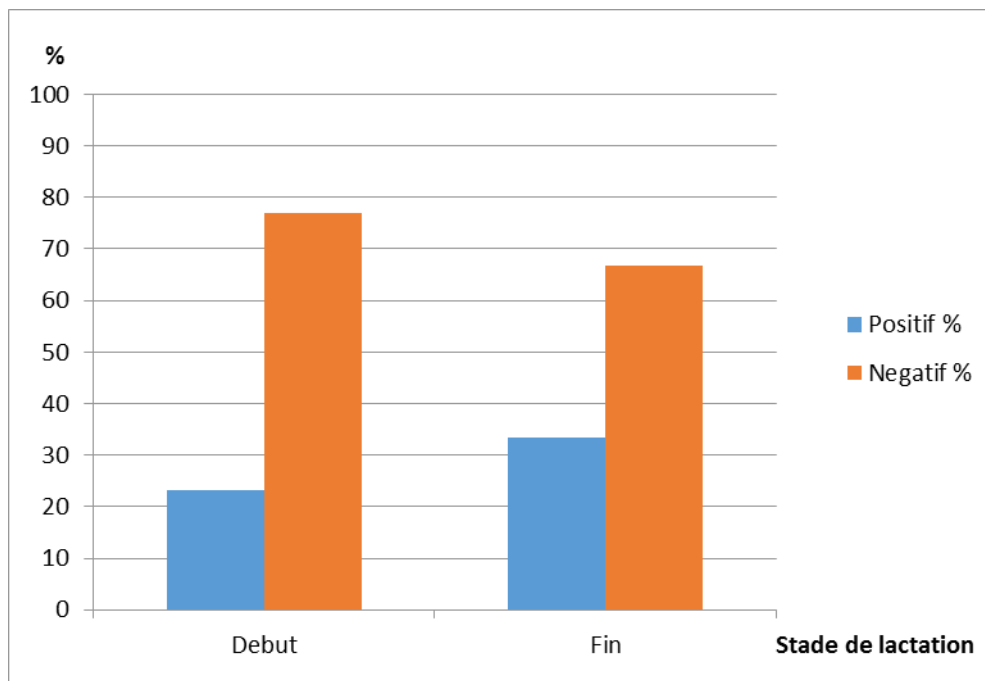


Figure 6: Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon le stade de lactation.

IV.1.2.6. Répartition de la prévalence selon la forme des trayons :

D'après le tableau N°9 et la figure N°7, la fréquence la plus élevée des staphylocoques à coagulase positive est observée dans le lait provenant à partir des vaches dont les trayons soient en forme cylindrique

Tableau 9: Répartition des Staphylocoques à coagulase positive selon la forme des trayons

| la forme des trayons | Résultats Positifs | % |
|----------------------|--------------------|-----|
| Cylindrique | 4 | 80 |
| Entonnoir | 1 | 20 |
| Total | 5 | 100 |

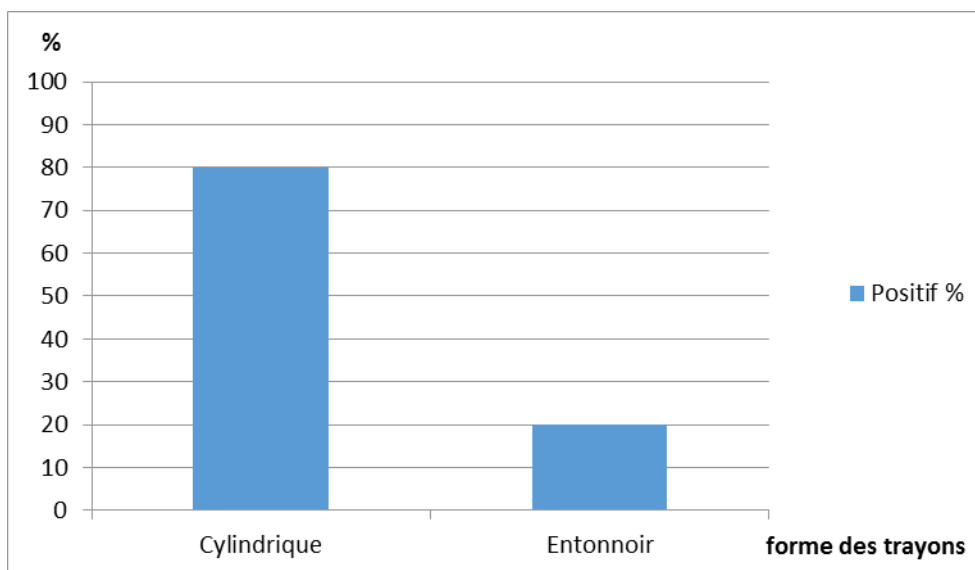


Figure 7: Fréquence des Staphylocoques à coagulase positive selon la forme des trayons.

IV.2. Lait cru des points de vente

Le tableau N°10 rapporte la température de stockage et les résultats de dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive dans les échantillons de lait cru selon le point de vente de Bir Khadem (Colaital), 2 prélèvement chaque semaine pendant 5 semaines.

La température de stockage varie entre 16,3 C° et 18,1 C° avec une moyenne de 17,08 C°, et un taux de contamination de 10% (1/10).

Tableau 10: Résultat du dénombrement des *Staphylococcus aureus* et température de stockage (en UFC/ml)

| Prélèvements | Température (C°) | Dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive |
|--------------|------------------|------------------------------------------------------|
| 1 | 16,3 | 0 |
| 2 | 15,0 | 0 |
| 3 | 17,5 | 0 |
| 4 | 18,1 | 0,56 x 10 ³ |
| 5 | 16,8 | 0 |
| 6 | 16,5 | 0 |
| 7 | 17,9 | 0 |
| 8 | 17,6 | 0 |
| 9 | 18 | 0 |
| 10 | 17,1 | 0 |

V. Discussion

1. lait cru de la ferme (ITELV)

Des prélèvements de lait bovin (en nombre de 22) provenant de la région d'Alger (baba Ali) ont été analysés aux laboratoires de recherche de l'institut des sciences vétérinaire de Blida, dans le but de rechercher la présence et le dénombrement de staphylocoques à coagulase positive. L'exploitation des résultats a permis de déterminer une prévalence de 23%

Le taux le plus élevé correspondant à la vache le numéro 16 (05 échantillons sur les 22 prélevés, soit 23 %, étaient contaminés par des staphylocoques à coagulase). Ce taux de contamination avait pour cause principale de mauvaises conditions d'hygiène (l'étable, la traite, l'hygiène du personnel responsable de la traite, les différentes manipulations et agressions physiques sur le lait, d'où la diffusion des staphylocoques de l'environnement vers le lait). En effet, il a été constaté dans l'exploitation visitée dans le cadre de cette étude que les responsables de la traire :

- Jetaient directement les premiers jets sur le sol.
- Utilisaient un même récipient d'eau pour le lavage des mamelles de toutes les vaches.
- Se servaient de la même lingette pour toutes les vaches.

Facteurs de variation

- **Âge**

D'après Bouchard (2003), le risque de contamination du lait bovin augmente avec l'âge des vaches.

La présente étude montre l'augmentation de la fréquence des contaminations du lait chez les vaches âgées de 5 à 9 ans. Parmi les facteurs qui pourraient expliquer la plus grande sensibilité des mamelles aux infections chez les vaches âgées, on peut signaler l'augmentation de la production de lait ainsi que l'accroissement du diamètre du canal du trayon.

- **Niveau de production laitière**

Les résultats de cette étude ont fait apparaître des taux de contamination de 60 % chez les vaches productrices (volumes compris entre 15 et 25 litres par jour) et de 40 % chez les vaches

faibles productrices (de 5 à 15 litres de lait par jour). Il existe donc une corrélation entre l'augmentation de la fréquence des infections et le niveau de production laitière. Ainsi, malgré les mesures d'hygiène et la mise en place du plan de lutte contre les contaminations, les infections mammaires restent un des problèmes majeurs en élevage laitier.

- **Stade de lactation**

Dans cette étude, les répartitions respectives de contaminations observées pendant les différentes phases de lactation étaient les suivantes : 23,1% en début de lactation (3/16), 33,33% fin de lactation (2/6). Ces résultats sont confirmés par d'autres auteurs :

– En cours de lactation (mis à part le début), le risque de contamination par les staphylocoques augmente avec la progression de la lactation (Guérin, 2003).

– La période de lactation est surtout caractérisée par l'augmentation très nette du taux de nouvelles infections liées aux germes d'origine mammaire. On observe que 80 % des infections persistent jusqu'au tarissement et 10 % de quartiers assainis durant la lactation le demeurent pendant le reste de la lactation (HANZEN ET CASTAIGNE, 2002)

- **Nombre de gestations**

Dans cette étude, les échantillons les plus fréquemment rencontrés contaminés étaient ceux issus de vaches multigestantes (3 à 5 gestations). Le taux de contamination diminuait avec la diminution du nombre de gestations.

Ces résultats peuvent être expliqués par :

– la diminution de la défense immunitaire liée à l'augmentation du nombre de gestations ;

– la forme de la mamelle, les mamelles très développées de type pendulaire étant plus sensibles aux infections car plus exposées aux souillures et traumatismes.

- **Forme des trayons**

Les résultats de notre expérimentation ont montré que la fréquence de contamination du lait par les staphylocoques à coagulase positive varie selon la forme des trayons, avec les fréquences respectives suivantes : 80 % chez les vaches qui possédaient des trayons cylindriques ou « en bouteille » et 20 % chez les vaches qui possédaient des trayons en forme

d'entonnoir. Cette dernière forme évite les phénomènes de « grimpage » des gobelets trayeurs.

2. lait cru de point de vente

Tous les prélèvements des laits analysés avaient une température supérieure à la norme, ce qui reflète le non-respect de la chaîne de froid et peut avoir une influence sur le développement des germes. La température de stockage du lait joue un rôle primordial sur la croissance bactérienne. *S. aureus* se cultive à des températures comprises entre 6 °C et 46 °C (température optimale : 37 °C) et la toxinogénèse intervient dans des conditions un peu plus restrictives que celles requises pour la croissance (De Buyser, 1996)

Les *staphylococcus aureus* sont présents dans un seul échantillon soit un taux de 10%. Ces résultats sont négligeables à ceux rapportés par (BAAZIZE, 2006), qui rapportent un taux de contamination de 80,21%. Ce germe pathogène constitue un risque réel pour la santé publique dans les produits transformés comme il peut produire, dans certaines conditions des entérotoxines thermostables qui peuvent résister aux traitements thermiques (ASHNAFI, 1996), La contamination du lait par *Staphylococcus aureus* est le plus souvent liée aux mains du personnel et le non-respect des conditions d'hygiène, elle pourrait être aussi la conséquence des infections mammaires au niveau des élevages.

Globalement la présence de cette bactérie, n'est que le résultat logique d'un mauvais encadrement de nos éleveurs par les vétérinaires, l'absence des mesures d'hygiène, ainsi que le non-respect et la méconnaissance des conditions d'élevage, en particulier celles liées à la propreté des animaux, leur environnement et bien sûr les conditions de sécurité pour le stockage et la livraison de lait. Pour sortir du tunnel, nous proposons la mise en place de formations à destination des éleveurs, des convoyeurs et même des industriels, en vue d'améliorer la qualité hygiénique et sanitaire du lait.

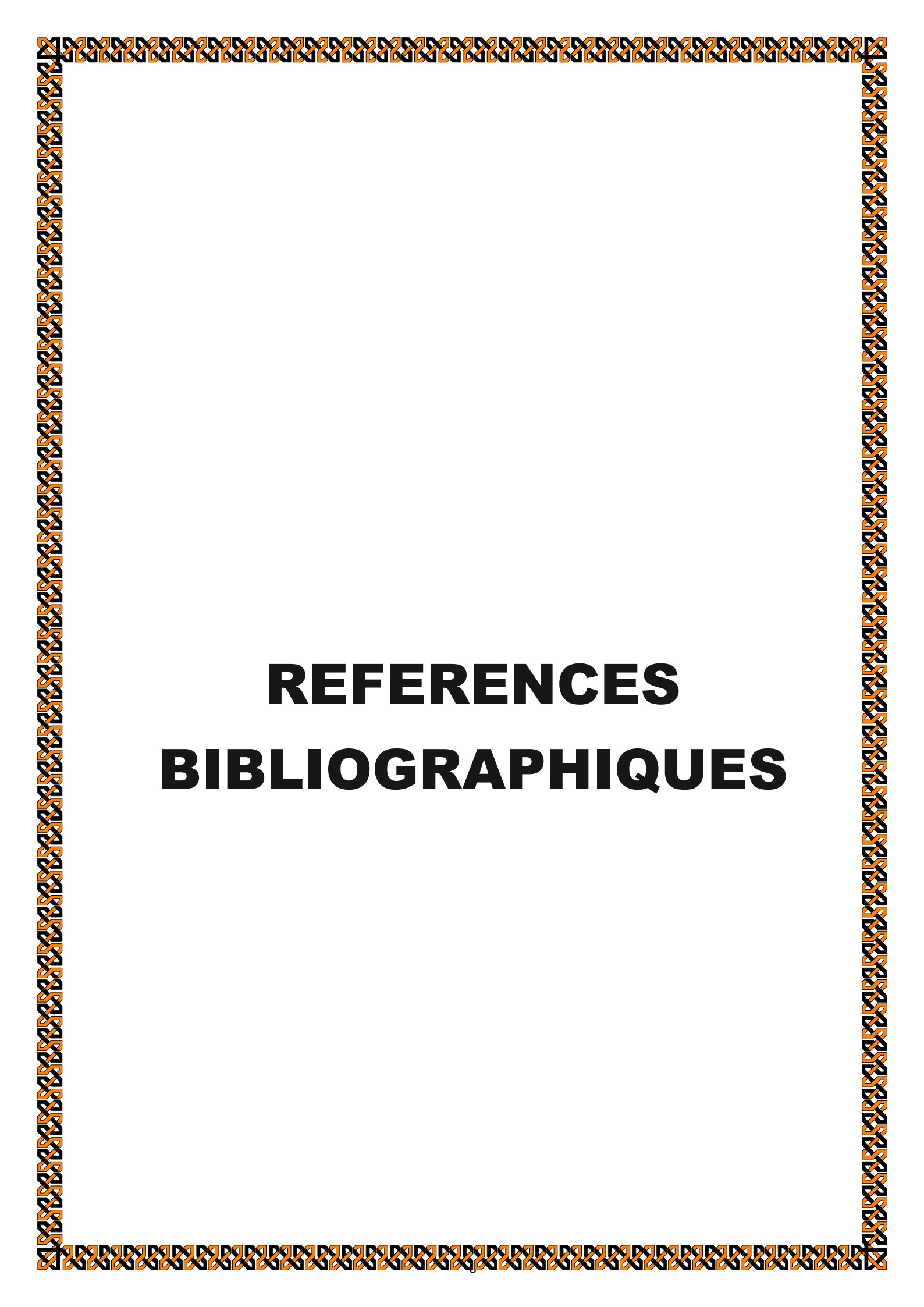
IV. Conclusion

Mis à part la vertu nutritionnelle, économique et médicale du lait cru, il est un milieu de culture et de protection pour plusieurs micro-organismes, qui sont à l'origine des intoxications graves. Parmi celle-ci, les staphylocoques, tel que *staphylococcus aureus* qui peuvent être très pathogènes pour le consommateur.

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

Seuls les examens de laboratoire confirment le diagnostic des staphylocoques à coagulase positive. La prévention doit être la plus précoce possible.

La présente étude a porté sur identification et dénombrement des staphylocoques à coagulase positive dans le lait cru au niveau de la ferme ITELV de BAB ALI et au niveau de la laiterie de BIRKHADEM (COLAITAL), Elle est porté sur 22 vaches laitières issue d'un même élevage.



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ALAIS C. (1975)**. Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.
2. **AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, (1960)**. Standard methods for the Examination of dairy products, 11ème édition., New York
3. **AMIR, LH., GARLAND, SM., LUMLEY, J., (2006)** A case-control study of mastitis: nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. BMC Fam Pract. ; 11, p57.
4. **ASAO, T., KUMEDA, Y., KAWAI, T., SHIBATA, T., ODA, H., HARUKI, K., NAKAZAWA, H., KOZAKI, S., (2003)** An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. Epidemiol infect. ; 130, p33-40.
5. **ASHNAFI, M. (1996)**. « Effect of container smoking and incubation temperature on the microbiological and ergo a traditional Ethiopian sourmilk ». International Dairy J., 6 p 94
6. **BAAZIZE, D., (2006)**. « Evaluation de la qualité microbiologique du lait cru de vache dans la région de la Mitidja », Mémoire de magister, p 160.
7. **BAKHOUM, I., (2004)**. Contrôle de qualité et validation de différentes microméthodes d'identification bactérienne
8. **BLANC B. (1982)**. Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale. International dairy journal, 62. pp :350-395
9. **BOUCHARD E. (2003)**. – Cours de pathologie mammaire, Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Montréal. Page web : www.medvet.umontreal.ca/etudes/premierCycle/cours.html (consultée le 20 février 2009).
10. **BOUDRY BENJAMIN. (2005)**. Journée d'étude des AREDB d'Aubel, de Herve-Fléron-visé et de Montzen et de la région wallonne - DGA - Direction du développement et de la vulgarisation. Henri Chapelle le 29 Novembre 2005
11. **BOUTONNIER JL. (2008)**. Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320), Paris.
12. **CALLON, C., GILBERT, FB., DE CREMOUX, R., MONTEL, MC., (2007)**. Application of variable number of tandem repeat analysis to determine the origin of *S.aureus* contamination from milk to cheese in goat cheese farms. Food Control. ; 19, p143-150.
13. **CAYOT P. ET LORIENT D. (1998)**. Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.
14. **CHRISTIAN J.P. (1999)**. Elevage de la vache laitière en zone tropicale, CIRAD, p314

15. **CODEX ALIMENTARIUS. (1999).** Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie
CODEX STAN 206-1999. pp : 1-4.
16. **DE BUYSER M.L., (1996)** Les staphylocoques. In : Bourgeois C., Mescle J.F. (Eds),
Microbiologie alimentaire. Tome 1. Lavoisier : Paris, 106-119.
17. **DEBRY G. (2001).** Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
18. **DEFORGES J., DERENS E., ROSSET R. ET SERRAND M. (1999).** Maitrise de la chaine du froid
des produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc, Paris
19. **DWORKIN, M., FALKOW, S., ROSENBERG, E., SCHKEUFER, KH., STACKEBRANDT, E.** The
Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3eme éd. ; Springer, New-York, 2006.Vol
4, Chap.1.2.1. The genera Staphylococcus and Micrococcus, p4-75.
20. **EDMISTON JR.CE., SEABROOK, GR., CAMBRIA, RA., BROWN, KR., LEWIS, BD., SOMMERS,
JR., KREPEL, CJ., WILSON, PJ., SINSKI, S., TOWNE, JB., (2005)** Molecular epidemiology of
microbial contamination in the operating room environment : Is there a risk for infection
Surgery. ; 138 (4), p573-582.
21. **EUZEBY J.P., (2005).** Index alphabétique des taxons site :
www.bacterio.cict.fr/s/staphylococcus.html. Date de consultation : 11/05/2013
22. **FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO
Alimentation et nutrition n°28.
23. **FLEURETTE J., (2000).** Taxonomie et écologie des staphylocoques à coagulase négative, 90,
6-15
24. **FREDOT E., (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la
diététique, Tec et Doc, Lavoisier :10-14 (397 pages).
25. **GORDON B. ET LOISEL W. (1991).** Dosage des protéines. Dans : Multon J.L., Techniques
d'analyses et de contrôle dans les industries agronomiques. Vol 4, 2ème édition, Tec& Doc,
Lavoisier, Paris.
26. **GOURSAUD J., (1985).** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits
laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M..
Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
27. **GOY D., HÄNI JP., WECHSLER D. ET JAKOB E. (2005).** Valeur de la teneur en caséine du lait
de fromagerie. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Gruyère N°27.
28. **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 de doctorat en médecine vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Nantes, 67 pp.
29. **HANZEN C. ET CASTAIGNE J., (2002).** Faculté de Médecine Vétérinaire. Université de Liège. Chapitre 30 : pathologie infectieuse de la glande mammaire
 30. **HENNEKINE, JA., KEROUANTON, A., BRISABOIS, A., DE BUYSER, ML. (2003)** Discrimination of *Staphylococcus aureus* biotypes by pulsed-field gel electrophoresis of DNA macro-restriction fragments. J Appl Microbiol. ; 94, p321-329.
 31. **IKEDA, T., TAMATE, N., YAMAGUCHI, K., MAKINO, S., (2005)** Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. Appl Environ microbiol. ; 71, p2793-2795.
 32. **JAY, J.M (1986).** Modern food microbiology. 3th Ed, Van Nostrand Reinhold CY
 33. **JOHNS C K (1953)** In: Proc. XIII Int. Dairy Conger, La Haye, 2, 241.
 34. **JOHNS C K (1955)** Canad. Dairy J., 34, N°1, 35
 35. **KLOOS, WE., ZIMMERMAN, RJ., SMITH, RF., (1976).** Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. Appl Environ Microbiol. ; 31, p53-49.
 36. **LACASSE P, (2007).** cours sur la biologie de lactation. Département de biologie - Université de Sherbrooke: <http://www.usherbrooke.ca/>
 37. **LAMONTAGNE, M., CLAUDE, P., CHAMPAGNE., JOELLE, R., MOINEAU S., GARDNER, N., LAMOUTEUX, M., JEAN, J et FLISS, I (2002).** Science technologie du « transformation du lait », chapitre II, P 74-145
 38. **LARPENT J.P (1996).** « Lait et produits laitiers non fermentés » In BOURGEOIS, C.M., MESCLE, J.F. et ZUCCA, J « Microbiologie alimentaire tome I » : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Edit Lavoisier Tech&Doc, Paris, p 671.
 39. **LARPENT J.P (1997).** Microbiologie alimentaire (technique de laboratoire) TEC et DOC Lavoisier Paris; P1073
 40. **LEBERT P., BERTHELOT X. & PETIT C. 1986.** Les infections mammaires de la vache laitière. Tome 1 connaissance fondamentale, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 89pp.
 41. **LUQUET F. M. (1985).** Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.
 42. **MATHIEU J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
 43. **MADJI A. (2009).** Séminaire sur les fromages AOP ET IGP.INAT. Tunisie

44. **MARCHIN S. (2007).** Dynamique de la micelle de caséines : caractérisation structurale. Thèse INRA/ Agrocampus Rennes.
45. **MIRANDA G. ET GRIPON J-C. (1986).** Origin, nature and technological significance of proteolysis in milk . International dairy journal, n°66. pp:1-18.
46. **MORRISSAY PA. (1995).** Lactose : chemical and physicochemical properties. dans : Developments in dairy chemistry 3. (FOX PF). Elsevier, London.
47. **POUGHEON S. (2001).** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.
48. **POUTREL B., (1985).** Généralités sur les mammites de la vache laitière. Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthode de controle. Les mammites bovines. 161, 495-512
49. **RAMET J.P. (1985).** La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Collection FAO Alimentation et nutrition n°48.
50. **REUMONT P., (2009).** Licencié Kinésithérapie, <http://www.medisport.be>.
51. **RHEOTEST M., (2010).** Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK – Produits alimentaires et aromatisants www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf.
52. **ROBINSON, R.K (1981).** Dairy microbiology. Vol 1 : The microbiology of milk. London : Appl. Sci. Publ
53. **ROGOLSKY, M., (1979).** Nonenteric toxins of Staphylococcus aureus. Microbiological Reviews, 43, 320-360.
54. **SERIEYS, F. (1985).** Les mammites bovines, 161, 553-566
55. **SMITH, AJ., JACKSON, MS., BAGG, J., (2001)** The ecology of staphylococcus species in the oral cavity. J Med Microbiol. ; 50, p940-946.
56. **SOUREK, J.,VYMOLA, F., TROJANOVA, M., ZELENKOVA, L., MATEJOVSKA, V., & BERGDOLL, M.S., (1979)** Enterotoxin production by Staphylococcus aureus strains isolated from cases of chronic osteomyelitis. Journal of Clinical Micro-biology, 9, 266-268
57. **THIEULIN G. ET VUILLAUME R., (1967).** Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des œufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris : 71-73(388 pages).
58. **VIERLING E., (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine :11(270 pages).

59. **WASTON, K., CARVILLE, K., BOWMAN, J., JACOBY, P., RILEY, TV., LEACH, AJ., LEHMANN, D. (2006).** Upper Respiratory Tract Bacterial Carriage in Aboriginal and Non-Aboriginal Children in a Semi-Arid Area of Western Australia. *Pediatr infec Dis J.* ; 25, p782-790.
60. **WEGRZYNOWICZ, Z., HECZKO, P.B., JELJASZEWICZ, J., NEUGEBAUER, M., PULVERER, G. (1979)** Pseudocoagulase activity of staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 9 , 15-19.
61. **WILLIAMS, RE., (1963).** Healthy carriage of *Staphylococcus aureus* : its prevalence and importance. *Bacteriol Rev.* ; 27, p56-71.
62. **YU, VL., GOETZ, A., WAGENER, M. (1986)** *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on hemodialysis : efficacy of antibiotic prophylaxis. *N Eng J Med.*; 315, p91-96.



ANNEXES

ANNEXE 1

FICHE DE PRELEVEMENTS POUR ANALYSE BACTERIOLOGIQUE

Questionnaire pour la récolte des données sur les vaches prélevées

Région :

Date : / / 2016

Ferme :

Questionnaire n° :

| N° de prélèvement | Age | Nombre de porté | Race | Les trayons cylindriques « bouteille » | Les trayons en forme d'entonnoir | Quantité du lait produite (l/j) | Stade de lactation | Destination du lait (point de vente) |
|-------------------|-----|-----------------|------|----------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------------|
| 01 | | | | | | | | |
| 02 | | | | | | | | |
| 03 | | | | | | | | |
| 04 | | | | | | | | |
| 05 | | | | | | | | |
| 06 | | | | | | | | |
| 07 | | | | | | | | |
| 08 | | | | | | | | |
| 09 | | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | | |

FICHE D'ENQUETE

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

Elevage N° :

Date : //

Région :

Questionnaire N° :

Localisation de l'élevage :

I- CARACTERISTIQUES DES VACHES LAITIERES

a) - Nombre de vaches total : dont :

➤ Primipares : race :

➤ Multipares : race :

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 :

II- 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

III- 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) - 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-trempeage Pas de nettoyage Autre...
- Concernant la méthode de Le pré-trempeage :
 - ✓ Quel produit utilisez-vous ?.....
 - ✓ Essayez-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 2

RESULTATS DE L'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE « INFORMATIONS GENERALE SUR LES VACHES PRELEVEES »

| N° de prélèvement | Age (ans) | Nombre de porté | Race | | Quantité du lait produite (l/j) | Forme de trayons | Stade de lactation | Destination du lait (point de vente) |
|-------------------|-----------|-----------------|-----------------|----|---------------------------------|------------------|--------------------|--------------------------------------|
| 1 | 5,5 | 2 | Brune des Alpes | Br | 9,9 | Cylindrique | Fin de lactation | COLAITAL |
| 2 | 4 | 1 | Brune des Alpes | Br | 14,90 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 3 | 4 | 1 | Brune des Alpes | Br | 15,45 | Entonnoir | Début de lactation | COLAITAL |
| 4 | 5 | 2 | Montbéliarde | PR | 14,63 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 5 | 3,5 | 1 | PN Holstein | PN | 14,71 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 6 | 7 | 4 | PN Holstein | PN | 17,50 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 7 | 4 | 1 | Montbéliarde | PR | 14,60 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 8 | 6,5 | 4 | Brune des Alpes | Br | 13,75 | Entonnoir | Début de lactation | COLAITAL |
| 9 | 5 | 2 | PN Holstein | PN | 14,03 | Entonnoir | Début de lactation | COLAITAL |
| 10 | 4,5 | 2 | Brune des Alpes | Br | 16,40 | Cylindrique | Fin de lactation | COLAITAL |
| 11 | 6 | 3 | PN Holstein | PN | 14,23 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 12 | 5 | 2 | Montbéliarde | PR | 16,9 | Cylindrique | Fin de lactation | COLAITAL |
| 13 | 7 | 4 | Brune des Alpes | Br | 15,78 | Entonnoir | Début de lactation | COLAITAL |
| 14 | 4 | 1 | Brune des Alpes | Br | 15,08 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 15 | 5,5 | 2 | PN Holstein | PN | 14,84 | Entonnoir | Début de lactation | COLAITAL |
| 16 | 6,5 | 3 | Montbéliarde | PR | 17,94 | Cylindrique | Fin de lactation | COLAITAL |
| 17 | 5 | 2 | PN Holstein | PN | 13,97 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 18 | 4 | 1 | PN Holstein | PN | 15,65 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 19 | 6 | 3 | Montbéliarde | PR | 13,23 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |
| 20 | 4 | 1 | Brune des Alpes | Br | 11,92 | Entonnoir | Fin de lactation | COLAITAL |
| 21 | 7,5 | 4 | PN Holstein | PN | 18,34 | Entonnoir | Fin de lactation | COLAITAL |
| 22 | 5,5 | 2 | Brune des Alpes | Br | 14,70 | Cylindrique | Début de lactation | COLAITAL |

Br : Brune

PN : Pie Noir

PR : Pie Rouge

ANNEXE 3

Résultats de dénombrement de Staphylocoques à coagulase positive dans lait cru de la ferme ITELV

| N° de prélèvement | Nombre de Staphylocoques à coagulase positive / ml |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 1 | 0 |
| 2 | 12 |
| 3 | 0 |
| 4 | 0 |
| 5 | 8 |
| 6 | 4,6 10 ² |
| 7 | 0 |
| 8 | 0 |
| 9 | 0 |
| 10 | 0 |
| 11 | 0 |
| 12 | 0 |
| 13 | 0 |
| 14 | 0 |
| 15 | 0 |
| 16 | 1,45 10 ² |
| 17 | 0 |
| 18 | 0 |
| 19 | 0 |
| 20 | 0 |
| 19 | 0,54 10 ² |
| 22 | 0 |
| Mélange | 8,18 |

ANNEXE 4

Résultats de température de stockage et de dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive dans lait cru de laiterie de COLAITAL (BIR KHADEM)

| Prélèvements | Température (C°) | Dénombrement de Staphylocoques à coagulase positive (UFC/ml) |
|--------------|------------------|--------------------------------------------------------------|
| 1 | 16,3 | 0 |
| 2 | 15,0 | 0 |
| 3 | 17,5 | 0 |
| 4 | 18,1 | 0,56 x 10 ³ |
| 5 | 16,8 | 0 |
| 6 | 16,5 | 0 |
| 7 | 17,9 | 0 |
| 8 | 17,6 | 0 |
| 9 | 18 | 0 |
| 10 | 17,1 | 0 |