

Contribution à l'étude de la contamination du lait bovin par les staphylocoques dans certaines fermes de la région d'Alger et son impact sur la santé humaine

Cet article (n° 28102014-00051-FR) a été évalué par les pairs, accepté, puis soumis à une révision linguistique approuvée par les auteurs. Il n'a pas encore été mis en page pour impression. Il sera publié en décembre 2014 dans le volume 33 (3) de la *Revue scientifique et technique*.

M. Hamiroune ^{(1)*}, A. Berber ⁽²⁾ & S. Boubekour ⁽²⁾

(1) Laboratoire d'hygiène et sécurité alimentaire, École nationale supérieure vétérinaire (ENSV), B.P. 161, El Harrach, Alger, Algérie

(2) Laboratoire de microbiologie, Département des sciences vétérinaires, Université SAAD Dahleb, B.P. 270, Route de Soomâa, Blida, Algérie

* Auteur chargé de la correspondance : hamivet.2001@yahoo.fr

Résumé

Les auteurs décrivent une étude comportant une enquête et une recherche de germes staphylococciques. L'étude a porté sur 14 élevages de bovins laitiers de la région d'Alger, où 203 échantillons de lait de vache ont été prélevés en vue d'une analyse bactériologique.

Les résultats de l'enquête montrent que les mauvaises conditions de l'élevage sont le principal facteur d'explication de la présence de ces germes dans le lait des vaches. Trente pour cent des vaches dont le lait a été prélevé ont présenté des staphylocoques.

Ces résultats sont influencés par divers facteurs :

– le taux de contamination augmente avec le nombre de gestations, l'âge, le niveau de la production lactée et l'épaisseur de la litière ;

- le taux de contamination du lait est plus important lorsque la traite est effectuée en dehors d'une salle de traite et lorsque la traite est effectuée mécaniquement ;
- un taux plus élevé de contamination par les staphylocoques est constaté dans le lait de vaches en fin de lactation, pour les animaux pie rouge et dont les trayons sont en forme cylindrique.

L'identification des bactéries (staphylocoques) trouvées a montré que les staphylocoques à coagulase négative étaient présents dans 67,21 % des prélèvements, alors que les staphylocoques à coagulase positive n'étaient présents que dans 32,79 % des laits. La moyenne du dénombrement de ces derniers est égale à $0,54 \times 10^{+4}$ UFC/ml de *Staphylococcus aureus*.

Bien que 70 % des laits analysés aient été exempts de staphylocoques et que la plupart des bactéries identifiées n'étaient pas pathogènes pour les consommateurs (staphylocoques à coagulase négative), la consommation du lait frais présente tout de même un certain risque.

Mots clés

Algérie – Analyse bactériologique – Coagulase négative – Coagulase positive – Lait – Prévalence – Santé publique – Staphylocoques.

Introduction

Le lait est l'une des principales sources de protéines animales nécessaires à l'alimentation humaine ; il contribue à l'augmentation des revenus familiaux et à la sécurité alimentaire. La filière lait est génératrice d'emplois à tous les échelons depuis l'élevage jusqu'à la vente du produit fini en passant par la transformation, la distribution, l'encadrement technique, etc.

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

Afin d'obtenir une production de lait satisfaisante en quantité comme en qualité et de diminuer la dépendance de l'Algérie vis-à-vis des importations, la santé de la mamelle doit être maîtrisée ; c'est ce qui a motivé les auteurs à conduire des investigations à ce sujet.

Matériel et méthodes

Prélèvements et analyse des échantillons de lait

L'étude a été réalisée durant l'année 2008-2009.

Les échantillons de lait ont été prélevés aseptiquement. Tous les quartiers d'une même vache ont été prélevés dans un même pot stérile.

Matériel et réactifs de prélèvement

Le matériel suivant a été utilisé : flacons (pots) stériles en plastique ; coton hydrophile et papier absorbant ; eau oxygénée ; alcool à 70° ; savon + eau ; glacière et pains de glace.

Protocole du prélèvement

Les recommandations de Mialot relatives à la technique de prélèvement (1) ont été suivies, à savoir :

1. lavage des mains ;
2. lavage de la mamelle à l'eau ;
3. essuyage des trayons avec du papier absorbant ;
4. désinfection de l'extrémité du trayon avec un coton imbibé d'alcool à 70° ;
5. élimination du premier jet de lait ;
6. remplissage du flacon avec quelques jets du lait de chaque quartier ;
7. identification du flacon (date, numéro de la vache) en utilisant un feutre indélébile ;

8. conservation des prélèvements dans une glacière et acheminement vers le laboratoire.

Répartition des prélèvements

Les 203 prélèvements de lait de vache analysés provenaient de 14 élevages. La répartition des prélèvements par élevage est consignée dans le Tableau I.

Analyses bactériologiques

La recherche bactériologique a porté sur la présence de staphylocoques (à coagulase négative et positive) dans les prélèvements de lait.

Laboratoires d'analyse

Les prélèvements ont été acheminés sous froid, dans une glacière, vers les laboratoires de l'École nationale supérieure vétérinaire (ENSV) à Alger ou de Draa Ben Khedda à Tizi Ouzou.

Matériel utilisé

Le matériel courant de laboratoire a été utilisé : étuve réglable à 37 °C ± 1 °C, bain d'eau réglable à 47 °C ± 2 °C, réfrigérateur réglable à +4 °C, etc.

Milieux de cultures et réactifs

Les milieux de culture et réactifs suivants ont été utilisés :

- **milieux de cultures** (Institut Pasteur, Algérie) : milieu gélosé de Baird Parker, bouillon cœur-cerveille, milieu mannitol-mobilité ;
- **réactifs** (Institut Pasteur, Algérie) : tellurite de potassium, plasma de lapin, alcool à 70°, violet de gentiane, lugol, fuchsine ;
- **autres** (Institut Pasteur, Algérie) : émulsion d'œuf, eau oxygénée, eau physiologique stérile, eau distillée stérile.

Protocole d'analyse bactériologique

Le protocole d'analyse bactériologique suivant a été appliqué :

- isolement des staphylocoques sur milieu de Baird Parker ;
- étude des caractères microscopiques : épreuve de coloration de Gram (Gram +) ;
- étude des caractères biochimiques : épreuve à la catalase ; épreuve à la coagulase libre ;
- recherche de la mobilité et de la dégradation du mannitol (2).

Enquête de terrain et collecte de données

Une enquête de terrain a été réalisée parallèlement à la prise d'échantillons ; un questionnaire (comportant des questions posées oralement à chaque éleveur au cours d'un entretien) a été élaboré à cette fin et rempli par l'un des auteurs. Les questions posées ont porté sur la quantité du lait produit par vache, le stade de lactation, la destination du lait, le nombre de gestations, l'alimentation, les pratiques d'hygiène.

Résultats

Enquête épidémiologique

Les exploitations concernées étaient pour la majorité privées (85,91 %). Dans leur majorité (78,57 %), les exploitations livraient le lait qu'elles produisaient à l'usine.

Sur les 14 élevages de l'étude, 85 % possédaient un effectif de vaches supérieur ou égal à 10, contre 15 % qui possédaient un effectif inférieur.

L'âge des vaches prélevées variait de 2 à 13 ans.

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

Le nombre de gestations des vaches était compris entre 1 et 10.

Le niveau de la production lactée variait de 4 litres par jour à 32 litres par jour.

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

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

Certaines fermes pratiquaient l'élevage sur litière, d'autres pas.

Dans certaines fermes la traite était effectuée mécaniquement, dans d'autres elle était effectuée manuellement.

Analyse bactériologique

Résultats globaux

Les résultats obtenus lors de l'analyse des 203 prélèvements peuvent être résumés comme suit :

- 69,96 % (soit 142/203) des prélèvements étaient exempts de staphylocoques ;
- 30,04 % (soit 61/203) des prélèvements étaient contaminés par des staphylocoques.

Les 61 prélèvements contaminés par des staphylocoques se répartissaient comme suit :

- 41 prélèvements (soit 67,21 % = 41/61) pour lesquels la coagulase était négative (staphylocoques à coagulase négative) ;
- 20 prélèvements (soit 32,79 % = 20/61) pour lesquelles la coagulase était positive (staphylocoques à coagulase positive). La moyenne du dénombrement de ces derniers était égale à $0,54 \times 10^{+4}$ UFC/ml de *Staphylococcus aureus*.

Répartition des résultats suivant l'origine des prélèvements

Dans le cadre de cette étude, les auteurs ont analysé des échantillons de lait de vache prélevés dans 14 fermes ; les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau II.

Dénombrement des *Staphylococcus aureus* par comptage des colonies à 37 °C

Le dénombrement des *S. aureus* a été réalisé par comptage des colonies caractéristiques (2).

Les colonies caractéristiques sont des colonies noirâtres, brillantes, entourées d'une zone transparente, positives au test de mannitol et convexes.

Calcul du nombre de colonies identifiées présentes dans la prise d'essai (lait de la vache)

Si le nombre de colonies dans la boîte était inférieur à 15, le résultat était donné par la formule suivante :

$$N = a \times 10$$

Où :

a : était le nombre de colonies de *S. aureus*

× 10 : car le volume étalé sur chaque boîte était de 0,1 ml.

Si le nombre de colonies dans la boîte était supérieur ou égal à 15 et inférieur à 150 (colonies), la formule suivante a été utilisée :

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

Où :

Σa : était la somme des colonies caractéristiques identifiées sur les deux boîtes retenues (à la dilution 10^{-2} et 10^{-3}),

V : était le volume étalé sur chaque boîte (= 0,1 ml),

F : était le taux de dilution correspondant à la dilution 10^{-2} .

Expression des résultats

Les résultats du dénombrement sont présentés dans le Tableau III.

Étude descriptive et analytique

Facteurs de variation

Les résultats ont montré l'influence des facteurs suivants :

- le taux de contamination augmentait avec le nombre de gestations, l'âge, le niveau de la production lactée et l'épaisseur de la litière ;
- le taux de contamination du lait était plus important lorsque la traite était effectuée en dehors d'une salle de traite (directement dans l'étable) et lorsque la traite était effectuée mécaniquement ;
- les vaches dont le lait prélevé présentait le taux le plus élevé de contamination par les staphylocoques étaient des vaches en fin de lactation, pie rouge et dont les trayons étaient en forme d'entonnoir.

Comparaison des facteurs influant sur le taux de contamination du lait de vache par des staphylocoques dans les exploitations étudiées

Afin de faire une comparaison entre les facteurs, un test d'indépendance au seuil de 5 % a été réalisé.

Les calculs ont été réalisés au moyen du logiciel Microsoft Office Excel[®] 2007.

Le test a permis de constater l'existence d'une corrélation entre plusieurs facteurs et le taux de contamination, à savoir :

- l'âge et le niveau de la production lactée,
- la robe et la forme des trayons,

- l'âge et le nombre de gestations.

En revanche, aucune corrélation entre la couleur de la robe (pie rouge ou pie noire) et le volume de production de lait n'a semblé influencer le taux de contamination du lait par des staphylocoques.

Discussion

Des prélèvements de lait bovin (en nombre de 203) provenant de la région d'Alger ont été analysés aux laboratoires de Draa Ben Khedda à Tizi Ouzou et de l'ENSV à Alger, dans le but de rechercher la présence de staphylocoques. L'exploitation des résultats a permis de déterminer une prévalence de 30,04 %.

Le taux d'échantillons positifs par élevage variait de 0 % à 55,56 %, le taux le plus élevé correspondant à l'exploitation II-C (10 échantillons sur les 18 prélevés, soit 55,56 %, étaient contaminés par des staphylocoques). 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 les exploitations visitées dans le cadre de cette étude que la majorité des éleveurs :

- 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,
- ne procédaient pas au trempage des trayons après la traite.

D'après Bareille et Lemarchand (3), la désinfection des trayons après la traite permet de réduire de 50 % à 95 % la fréquence des nouvelles infections intramammaires dues aux staphylocoques.

Facteurs de variation

Âge

D'après Bouchard (4), 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 7 à 15 ans, avec un pic dans la tranche d'âge 13-15 ans (100 %). Parmi les facteurs qui pourraient expliquer la plus grande sensibilité des mamelles aux infections chez les vaches âgées de 7 à 15 ans, 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 40 % chez les vaches hautes productrices (volumes compris entre 30 et 40 litres par jour) et de 25,27 % à 38,78 % chez les vaches faibles productrices (de 0 à 30 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

Les périodes les plus critiques pour l'acquisition de nouvelles contaminations sont le début du tarissement et la période péripartum (4).

Dans cette étude, les fréquences respectives de contaminations observées pendant les différentes phases de lactation étaient les suivantes : 32,78 % en début de lactation, 13,13 % en pic de lactation, 54,09 % avant le tarissement. 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 (5) ;
- 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 (6).

La robe

Les résultats de l'analyse bactériologique conduite dans le cadre de la présente étude ont montré que 50,82 % des prélèvements de lait contaminés provenaient de vaches laitières pie rouge, et 49,18 % de vaches pie noir.

Guérin (5) estime que le bétail hautement laitier pie rouge est davantage exposé à un plus grand nombre de contaminations. La fréquence de contamination est en relation avec le niveau de production laitière.

Nombre de gestations

Dans cette étude, les échantillons les plus fréquemment rencontrés contaminés étaient ceux issus de vaches multigestantes (5 à 11 gestations), qui présentaient un taux de contamination oscillant entre 46,15 % et 55,56 % avec un pic chez les vaches dont le nombre de gestations était compris entre 9 et 11 (55,56 %). 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 cette étude ont montré que la fréquence de contamination du lait par les staphylocoques variait selon la forme des trayons, avec les fréquences respectives suivantes : 57,38 % (soit 35/61) chez les vaches qui possédaient des trayons cylindriques ou « en bouteille » et 42,62 % (soit 26/61) chez les vaches qui possédaient des trayons en forme d'entonnoir. Cette dernière forme évite les phénomènes de « grimpage » des gobelets trayeurs.

Technique de traite

Les résultats de l'étude ont montré l'augmentation de la fréquence de contamination du lait chez les vaches dont la traite était effectuée mécaniquement (68,85 %), alors que dans les cas de traite manuelle le taux de contamination était de 31,15 %. Les facteurs pouvant expliquer ces résultats sont notamment les suivants :

- 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 (5) a observé une corrélation positive entre le degré d'hyperkératose du canal du trayon et la prévalence des infections mammaires à *S. aureus*. Ainsi les critères morphologiques de la mamelle et des trayons sont-ils de plus en plus souvent pris en compte dans les systèmes de sélection ;
- la technique de traite et le fonctionnement de la machine à traire sont impliqués dans les mammites par deux mécanismes : les lésions du trayon et les phénomènes de reflux de lait ou phénomène d'impact (7) ;
- l'équipement de traite induit une transmission mécanique des staphylocoques.

La litière

La présente étude a révélé une augmentation de la fréquence de contamination du lait par les staphylocoques dans les fermes pratiquant l'élevage sur litière : 54,10 % (33/61), contre 45,90 % dans

les fermes ne pratiquant pas l'élevage sur litière. La contamination augmente avec l'épaisseur de la litière. Ces résultats peuvent être expliqués comme suit :

- la litière est une source évidente de contamination, étant régulièrementensemencée en staphylocoques ; dans la mesure où elle est suffisamment paillée, elle offre à sa surface les conditions idéales de température, d'humidité ou d'oxygénation pour la multiplication des germes. Les contaminations ont lieu en dehors de la traite ;
- une étude serbe a montré une diminution de 27 % des cas de contamination du lait par les staphylocoques dans les troupeaux en stabulation extensive par rapport aux troupeaux en stabulation intensive (8).

Type de staphylocoques

Les résultats ont montré que la fréquence de contamination du lait variait avec le type de staphylocoques, avec les fréquences respectives suivantes : 67,21 % pour les staphylocoques à coagulase négative et 32,79 % pour les staphylocoques à coagulase positive ; la moyenne du dénombrement de ces derniers était égale à $0,54 \times 10^{+4}$ UFC/ml de *S. aureus*.

Cela peut être expliqué comme suit :

- d'après Guérin (5), les staphylocoques à coagulase négative sont les premiers germes impliqués dans les infections mammaires des vaches lors de leur première lactation ;
- le nombre élevé de staphylocoques à coagulase négative (SCN) isolés dans l'exploitation n° II-C serait dû aux mauvaises conditions d'hygiène de la traite. Par ailleurs, un nombre plus faible de SCN a été retrouvé dans les exploitations n° III-G, V et VI, qui, elles, pratiquaient la désinfection des trayons après la traite. Plusieurs travaux montrent que la désinfection des trayons après la traite contribue à la diminution de la prévalence des SCN ;

– selon Rekartozandrindrainy et Foucras (9), les SCN présents dans les infections mammaires sub-cliniques affectant la vache laitière varient selon les pays. Dans les pays développés, la fréquence des isolements de staphylocoques dans le lait bovin a fortement diminué. À l'inverse, dans les pays en voie de développement, la fréquence des isolements des staphylocoques dans le lait bovin est très élevée.

Conclusion

Bien que 69,96 % des laits analysés dans le cadre de cette étude soient exempts de staphylocoques et que la plupart des bactéries identifiées ne soient pas pathogènes pour le consommateur (staphylocoques à coagulase négative), la consommation du lait frais présente tout de même un certain risque.

Il sera très utile de procéder à un dépistage systématique dans tous les élevages laitiers du pays ; cela contribuerait à mieux lutter contre cette maladie mais permettrait également d'améliorer l'indépendance de l'Algérie vis-à-vis de l'étranger pour ce qui concerne les importations de lait, procurant ainsi à terme des avantages pour toute l'économie du pays.

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

Remerciements

Les auteurs remercient l'ensemble du personnel de laboratoire régional vétérinaire de Draa Ben Khedda à Tizi Ouzou ainsi que les techniciens supérieurs du laboratoire d'Hidaoa et du laboratoire de parasitologie de l'ENSV d'Alger.

Références

1. Mialot J.P. (1983). – Technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique. *Rec. Méd. vét.*, **159** (11), 1057–1058.
2. Agence française de normalisation (2004). – Norme F V08-057-1. Microbiologie des aliments - Méthode de routine pour le

dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37 °C – Partie 1 : technique avec confirmation des colonies. Agence française de normalisation.

3. Bareille N. & Lemarchand F. (2004). – La désinfection des trayons avant et après la traite ; comment choisir les méthodes et les produits ? Dossier spécial : hygiène de la mamelle et traitement des mammites. *Bull. GTV*, **24**, 21–27.

4. 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).

5. Guérin 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, École nationale vétérinaire de Nantes, 67 pp.

6. Hanzen C.H. & Castaigne J.L. (2002). – Pathologie infectieuse de la glande mammaire, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège. Mise à jour le 2 février 2002. Page web : www.fmv.ulg.ac.be/oga/formation/chap30/30-19.htm (consultée le 8 février 2009).

7. Wattiaux M. (2004). – Lactation et récolte du lait : la maladie et sa transmission. Institut Babcock pour la recherche et le développement international du secteur laitier. Page web : <http://babcock.wisc.edu/node/216> (consultée le 12 février 2009).

8. Milojevic Z., Siradovic M., Marovic D., Sandor D., Micic R., Kojevic S., Ismailovic M. & Filipovic S. (1988). – Effect of various management systems on udder infections and the occurrence of mastitis. *Nauka u Praski*, **18** (2), 231–236.

9. Rekartozandrindrainy R. & Foucras G. (2007). – Étiologie bactérienne des mammites des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. *Rev. Méd. vét.*, **158** (02), 106–110.

Tableau I
Répartition des prélèvements suivant les exploitations étudiées

N° d'exploitation	I- A	I- B	II- C	II- D	II- E	II- F	III- G	III- H	IV- I	IV- J	V	VI	VII	VIII	Total
Nombre de prélèvements	5	10	18	11	10	24	6	16	14	15	32	17	15	10	203

Tableau II
Résultats de la recherche des staphylocoques selon les exploitations de l'étude

N° d'exploitation	I-A	I-B	II-C	II-D	II-E	II-F	III-G	III-H	IV-I	IV-J	V	VI	VII	VIII	Total
Nombre de prélèvements positifs	0	2	10	2	3	10	1	7	5	6	3	4	5	3	61
Nombre de prélèvements négatifs	5	8	8	9	7	14	5	9	9	9	29	13	10	7	142
Total	5	10	18	11	10	24	6	16	14	15	32	17	15	10	203

Tableau III
Résultat du dénombrement des *Staphylococcus aureus* par
comptage des colonies à 37 °C

N° de prélèvement contaminé par des staphylocoques à coagulase positive	Expression des résultats (nombre de <i>S. aureus</i> / 1 ml)	Log ₁₀ (de <i>S. aureus</i>) / 1 ml
18	0,36 × 10 ⁴	3,55
22	1,80 × 10 ⁴	4,25
23	0,91 × 10 ⁴	3,95
31	0,54 × 10 ⁴	3,73
32	0,72 × 10 ⁴	3,85
59	0,09 × 10 ⁴	2,95
75	0,18 × 10 ⁴	3,25
90	–	–
106	0,54 × 10 ⁴	3,73
110	–	–
125	0,54 × 10 ⁴	3,73
128	0,27 × 10 ⁴	3,43
129	0,91 × 10 ⁴	3,95
137	–	–
162	1,10 × 10 ⁴	4,04
178	–	–
182	0,36 × 10 ⁴	3,55
192	0,18 × 10 ⁴	3,25
196	0,91 × 10 ⁴	3,95
202	0,91 × 10 ⁴	3,95
Moyenne	0,54 × 10 ⁴	3,73