

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
وزارة لتعليم العالي والبحث العلمي
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE-ALGER
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة- الجزائر

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences Vétérinaires
Option : Hygiène et Sécurité Alimentaire

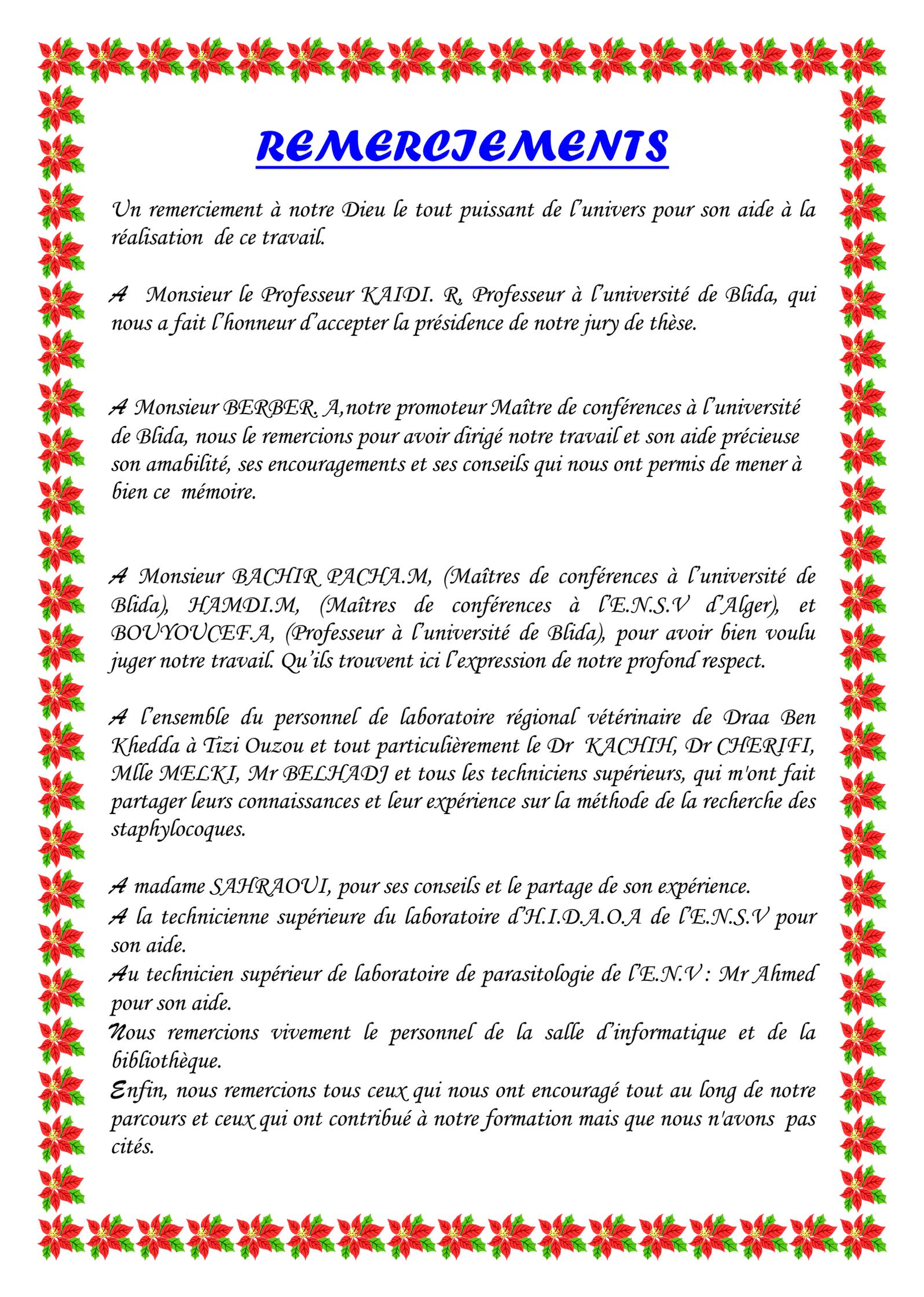
CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CONTAMINATION DU
LAIT PAR LES STAPHYLOCOQUES DANS CERTAINES
FERMES DE LA REGION D'ALGER ET SON IMPACT SUR LA
SANTE HUMAINE.

Présenté par : D^r HAMIROUNE Mourad.

Jury :

Président :	M ^r . KAIDIR	Professeur	Université de Blida.
Promoteur :	M ^r . BERBER.A	Maître de conférences	Université de Blida.
Examineur :	M ^r . HAMDLM	Maître de conférences	E.N.S.V d'Alger.
Examineur :	M ^r . BOUYOUCEF.A	Professeur	Université de Blida.
Examineur :	M ^r . BACHIR PACHA.M	Maître de conférences	Université de Blida.

Année universitaire : 2008 /2009



REMERCEMENTS

Un remerciement à notre Dieu le tout puissant de l'univers pour son aide à la réalisation de ce travail.

À Monsieur le Professeur KAIDI. R, Professeur à l'université de Blida, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

À Monsieur BERBER. A, notre promoteur Maître de conférences à l'université de Blida, nous le remercions pour avoir dirigé notre travail et son aide précieuse son amabilité, ses encouragements et ses conseils qui nous ont permis de mener à bien ce mémoire.

À Monsieur BACHIR PACHA.M, (Maîtres de conférences à l'université de Blida), HAMDI.M, (Maîtres de conférences à l'E.N.S.V d'Alger), et BOUYOUCEF.A, (Professeur à l'université de Blida), pour avoir bien voulu juger notre travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre profond respect.

À l'ensemble du personnel de laboratoire régional vétérinaire de Draa Ben Khedda à Tizi Ouzou et tout particulièrement le Dr KACHIH, Dr CHERIFI, Mlle MELKI, Mr BELHADJ et tous les techniciens supérieurs, qui m'ont fait partager leurs connaissances et leur expérience sur la méthode de la recherche des staphylocoques.

À madame SAHRAOUI, pour ses conseils et le partage de son expérience.

À la technicienne supérieure du laboratoire d'H.I.D.A.O.A de l'E.N.S.V pour son aide.

Au technicien supérieur de laboratoire de parasitologie de l'E.N.V: Mr Ahmed pour son aide.

Nous remercions vivement le personnel de la salle d'informatique et de la bibliothèque.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont encouragé tout au long de notre parcours et ceux qui ont contribué à notre formation mais que nous n'avons pas cités.

DEDICACES

📌 *A mes parents :*

Merci de m'avoir accompagné jusque là, d'avoir fait en sorte que j'aie au bout des études que je voulais faire, sans contraintes ni difficultés. Pour leur aide précieuse à la relecture de ce travail. Pour leur disponibilités.

✚ *Pour leur soutien indéfectible. Par tous les temps ;*

✚ *Le rêve d'enfant est devenu réalité ;*

✚ *C'est grâce à eux que je suis ici aujourd'hui.*

📌 *A mes trois frères : Naim, Boualem, Salim et ma sœur ; Saida.*

📌 *A notre promoteur : Dr BERBER Ali ;*

Pour son sens du contact, sa volonté de partage de ses connaissances.

📌 *A mes amis d'enfance, du lycée, d'École ;*

Pour leur amitié si précieuse et tous les bons moments passés et à-venir.

HAMIROUNE MOURAD.

RESUME

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

L'objectif de notre travail est d'identifier les staphylocoques présents dans le lait des vaches laitières issues de 14 fermes de la région d'Alger et de comprendre les paramètres qui gèrent le taux de contamination dans cette région. Pour cela, nous avons réalisé une enquête, un examen organoleptique et des analyses bactériologiques au niveau des deux laboratoires d'hygiène et de sécurité alimentaire de Draa Ben Khedda et de l'E.N.S.V.

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

Les résultats bactériologiques ont montré que 30,04% des vaches prélevées ont présenté des staphylocoques dans leurs laits. Ces résultats sont influencés par les facteurs étudiés (le nombre de gestation, l'âge, le niveau de la production lactée, l'épaisseur de la litière....).

L'identification des bactéries (staphylocoques) trouvées a montré que les staphylocoques coagulase (-) étaient présents dans 67,21% des prélèvements, alors que les staphylocoques coagulase (+) n'étaient présents que dans 32,79% des laits. Parmi ces derniers nous avons trouvé une moyenne de $0,54 \cdot 10^4$ UFC/1ml de *Staphylococcus aureus*.

Bien que 69,96% des laits stériles vis-à-vis aux staphylocoques et la plupart des Staphylocoques identifiées ne sont pas pathogènes pour le consommateur [staphylocoques coagulase (-)], la consommation du lait frais reste tout de même à risque.

Mots clés : staphylocoques, coagulase positive, coagulase négative, analyse bactériologique, élevage, vache laitière, Alger.

SUMMARY

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

The objective of our experimental study aims to identify the staphylococci in the milk of dairy cows from 14 farms in the area of Algiers and understand the parameters that manage the rate of contamination in this region. To do this, we conducted an investigation, an examination of the organoleptic and bacteriological analysis at two laboratories of hygiene and food safety Draa Ben Khedda and the ENSV

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

Bacteriological results have shown that 30.04% of cows sampled had staphylococci in their milk. These results are influenced by the factors studied (the number of gestation, age, level of milk production, the thickness of the litter).

The identification of bacteria (staphylococci) has found that staphylococci coagulase (-) were present in 67.21% of the cases, while *Staphylococcus coagulase (+)* was present in 32.79% of milk. Among them we found an average of $0.54 \cdot 10^4$ UFC/1ml of *Staphylococcus aureus*.

Although 69.96% of sterile milk and most staphylococci identified were not pathogenic for the consumer [Staphylococcus coagulase (-)], consumption of fresh milk is still at risk.

Key words: staphylococci, coagulase positive, coagulase negative bacteriological analysis, livestock, dairy, Algiers.

العضو الذي ينتج الحليب هو الضرع. عامة يكون عرضة للاصابة بـ *Staphylococcus aureus* التي تمثل إحدى الأمراض الثمينة لدى أبقار الحلوب.

14

14 203
30,04
67,21
32,79
(
)
 $10^4 \cdot 0,54$
69,96
(

ستا فيلوكوك، الكواقلز الموجب، الكواقلز السالب، التحليل البكتيري، القطيع، البقرة الحلوبية، الجزائر..

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Evolution du développement bactérien dans du lait cru en fonction de sa température.....	6
Tableau II: Règle d'interprétation des résultats du CMT aspect résultat Cellules par MI Interprétation.....	10
Tableau III: Les différentes espèces du genre <i>Staphylococcus</i>	13
Tableau IV: Caractères distinctifs entre les quatre genres de la famille des <i>Micrococcaceae</i> et les genres <i>Streptococcus</i> et <i>Enterococcus</i>	16
Tableau V: Fréquence de reconnaissance de la fibronectine par les différentes espèces de staphylocoques.....	26
Tableau VI: Germes responsables des toxi-infections en France (70-77). Classement par fréquence des foyers observés.....	36
Tableau VII: Aliments et germes responsables des toxi-infections alimentaires en France (70-77).....	38
Tableau VIII: Les principaux facteurs de virulence de <i>S. aureus</i>	42
Tableau IX: Propriétés des entérotoxines de <i>S. aureus</i>	46
Tableau X-A: Mesures de prévention et de contrôle du lait	49
Tableau X-B: Mesures de prévention et de contrôle du lait.....	50
Tableau X-C: Mesures de prévention et de contrôle du lait	50
Tableau XI: Caractéristiques des troupeaux étudiés.....	66
Tableau XII: Caractéristiques de conduites des troupeaux étudiés.....	67
Tableau XIII: Informations sur l'hygiène des troupeaux étudiés.....	68
Tableau XIV: Pourcentage de la prévalence dans les fermes étudiées.....	70
Tableau XV: Résultats de la recherche des staphylocoques en fonction des fermes étudiées.....	71
Tableau XVI -A: Répartition des résultats selon l'âge.....	73
Tableau XVI-B: Pourcentage des résultats selon l'âge.....	73
Tableau XVII -A: Répartition des résultats selon le niveau de la production lactée.....	74
Tableau XVII-B: Pourcentage des résultats selon la production du lait.....	74
Tableau XVIII -A: Répartition des résultats selon le nombre de gestations	75
Tableau XVIII-B: Pourcentage des résultats selon le nombre de gestations.....	75
Tableau XIX: Répartition de la prévalence selon le stade de lactation.....	76

<u>Tableau XX:</u> Répartition de la prévalence selon la robe.....	77
<u>Tableau XXI:</u> Pourcentage de la prévalence en fonction de la forme des trayons.....	78
<u>Tableau XXII:</u> Pourcentage de la positivité selon le mode de la traite.....	79
<u>Tableau XXIII:</u> Pourcentage de la positivité selon la présence ou l'absence de la salle de traite.....	80
<u>Tableau XXIV:</u> Pourcentage de la positivité selon la présence ou l'absence de la litière.....	81
<u>Tableau XXV:</u> Répartition des prélèvements contaminés par production lactée et par âge.....	82
<u>Tableau XXVI:</u> Répartition des prélèvements contaminés par robe et par production lactée.....	83
<u>Tableau XXVII:</u> Répartition des prélèvements contaminés par robe et par forme des trayons.....	83
<u>Tableau XXVIII:</u> Répartition des prélèvements contaminés par âge et par nombre de gestation.....	84
<u>Tableau XXIX:</u> Répartition des résultats de l'épreuve de la coagulase	85
<u>Tableau XXX:</u> Résultat du dénombrement des <i>Staphylocoques aureus</i> par comptages des colonies à 37C°.....	86
<u>Tableau XXXI:</u> Répartition des TIAC en Algérie.....	88
<u>Tableau XXXII:</u> Comparaison des isollements bactériens avec des études françaises et étrangères.....	97

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Mode d'emploi de CMT.....	9
Figure 2: Réservoirs de germes.....	23
Figure 3: Modes de transmission des bactéries (<i>S. aureus</i>) d'un quartier infecté à un quartier sain de la même mamelle ou d'une autre mamelle.....	24
Figure 4: Contamination du canal du trayon par capillarité (litières).....	25
Figure 5: Différentes origines des germes qui contaminent l'extrémité et la peau du trayon.....	25
Figure 6: Interactions entre les défenses mammaires et les bactéries.....	27
Figure 7: Déroulement du processus infectieux.....	28
Figure 8: Classification des défenses de la mamelle.....	30
Figure 9: Phénomène d'impact.....	32
Figure 10: Les étapes de prélèvement.....	57
Figure 11: Les étapes de l'épreuve de coagulase.....	62
Figure 12: Traitement du prélèvement au laboratoire.....	65
Figure 13: Prévalence de staphylocoques dans les fermes étudiées.....	70
Figure 14: Répartition des résultats selon les fermes.....	72
Figure 15: Répartition de la prévalence par groupe d'âge.....	73
Figure 16: Fréquence des résultats selon la production lactée.....	74
Figure 17: Fréquence des résultats bactériologiques selon le nombre de gestations.....	75
Figure 18: Répartition de la prévalence selon le stade de lactation.....	76
Figure 19: Fréquence de la prévalence bactériologiques selon la race.....	77
Figure 20: Pourcentage de la prévalence en fonction de la forme des trayons.....	78
Figure 21: Fréquence de la positivité selon le mode de la traite.....	79
Figure 22: Répartition de la prévalence selon la présence ou l'absence de la salle de traite.....	80
Figure 23: Fréquence de la positivité selon la présence ou l'absence de la litière.....	81
Figure 24: Répartition des résultats de l'épreuve de la coagulase.....	84
Figure 24: La moyenne générale des <i>Staphylocoques aureus</i>	87
Figure 26: Distribution des valeurs de <i>Staphylocoques aureus</i>	87
Figure 27: Incidence annuelle des intoxications alimentaires (1999-2005).....	89
Figure 28 : Conséquences du tarissement sur la sensibilité des mamelles aux infections.....	93

LISTE DES PHOTOS

<u>Photo 1:</u> Inspection du filtre à lait.....	8
<u>Photo 2:</u> Staphylocoques.....	11
<u>Photo 3:</u> Colonie de staphylocoque sur le milieu de Baird Parker.....	17
<u>Photos 4:</u> Matériels de prélèvement.....	54
<u>Photos 5:</u> Technique de prélèvement du lait pour examen bactériologique.....	56
<u>Photos 6:</u> Coloration de Gram.....	59
<u>Photo 7:</u> Catalase positive.....	60
<u>Photos 8:</u> Ensemencement de colonies dans le de bouillon cœur-cerveille (BHIB).....	60
<u>Photos 9:</u> Préparation de plasma de lapin.....	61
<u>Photos 10:</u> Ensemencement 0,1 ml de chaque culture de bouillons BHIB dans un tube de plasma de lapin (0,3 ml).....	61
<u>Photo 11:</u> Résultats positifs et négatifs de la recherche la mobilité et la dégradation du mannitol.....	63

LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGNES UTILISES

Abréviations	Significations
C	Cytosine
G	Guanine
SCP	Staphylocoque à coagulase Positive.
SCN	Staphylocoque à coagulase Négative.
IL-1	Interleukine-1.
TNF	Tumor Necrosis Factor.
TIAC	Toxi-infectieux alimentaire collective.
pH	Potentiel Hydrogène.
CMT	California Mastitis Test.
UI	Unité Internationale.
E.N.S.V	Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire.
I.N.S.P	Institut National de la Santé Publique

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Historique.....	3

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le lait: définition et qualité bactériologique.....	4
I.1. Définition du lait	4
I.2. Les règles requises pour traire un lait de qualité.....	4
I.3. Qualité bactériologique du lait de vache.....	5
I.3.1. Classification	5
I.3.2. Les mammites.....	6
I.4. Examen du lait.....	7
I.4.1. Examen macroscopique.....	7
I.4.2. California Mastitis Test (C.M.T).....	8
I.4.3. Examen bactériologique.....	10
II. Les staphylocoques.....	11
II.1. Taxonomie.....	11
II.2. Pathogénie.....	14
II.3. Maladies staphylococciques.....	15
II.4. Identification et différenciation du genre et des espèces.....	15
II.4.1. Critères phénotypiques.....	17
II.4.2. Critères génotypiques.....	18
II.4.3. Tests d'identification du genre <i>Staphylococcus</i>	18
II.4.4. Tests d'identification de l'espèce staphylococcique.....	19
III. Habitat des staphylocoques et contamination du lait	21
III.1. Habitat des staphylocoques.....	21
III.1.1. Les staphylocoques dans Le lait.....	21
III.1.2. Les staphylocoques isolés chez l'homme.....	22
III.1.3. Les staphylocoques isolés chez l'animal.....	22

III.2. Contamination du lait bovin.....	22
III.2. 1. Réservoirs.....	22
III.2.2. Exposition de l'agent pathogène.....	25
III.2.3. Pénétration des staphylocoques dans la mamelle.....	26
III.2.4. Infection de la glande.....	27
III.2.5. Devenir de l'infection.....	28
III.2.6. Réponse de l'organisme.....	28
III.3. La machine à traire facteur intrinsèque de pénétration des staphylocoques dans la mamelle.....	30
III.3.1. Forces de contamination de la machine à traire par les staphylocoques.....	31
III.3.2. Effet traumatisant de la machine à traire.....	32
III.3.3. Effet vecteur de la machine à traire.....	33
IV. Les intoxications staphylococciques.....	35
IV.1. Les Intoxications.....	35
IV.1. 1. Historique et découverte.....	35
IV.1.2. Définition	35
IV.1.3. Fréquence.....	35
IV.1.4. Mode de contamination.....	36
IV.1.5. Physio pathogénie.....	37
IV.1.6. Description de plusieurs intoxications.....	37
IV.1.7. Aliments responsables.....	38
IV.1.8. Symptomatologie.....	38
IV.1.9. Diagnostic.....	39
IV.1.10. Traitement.....	39
IV.2. Impact des intoxications alimentaires dues à <i>Staphylococcus aureus</i> sur la santé humaine.....	39

PARTIE EXPERIMENTALE

Introduction.....	52
I. Objectifs de l'étude.....	52
II. Région de l'étude.....	52
II.1. Présentation de la région d'étude.....	52
II.2. Présentation des élevages.....	53
III. Matériel et méthodes.....	54
III.1. Durée de l'étude.....	54
III.2. Prélèvement des échantillons.....	54
III.2.1. Prélèvement.....	54
III.2.2. Matériel et réactifs de prélèvement.....	54
III.2.3. Technique de prélèvement.....	55
III.2.4. Transport des échantillons.....	57
III.2.5. Conservation des échantillons.....	57
III.3. Analyses bactériologiques.....	58
III.3.1. Matériel utilisé.....	58
III.3.2. Milieux de culture et réactifs.....	58
III.3.3. Protocole d'analyse bactériologique.....	58
IV. Résultats bactériologiques et interprétations.....	66
IV.1. Résultats d'enquête.....	66
IV.2. Résultats bactériologiques.....	69
IV.3. Expression des résultats de dénombrement des <i>Staphylocoques aureus</i> par comptage des colonies à 37C°.....	86
V. Analyse des données statistiques sur les TIAC en Algérie.....	88
VI. Discussion.....	90
Conclusion.....	99
Recommandations.....	101
Bibliographie	
Annexes	

INTRODUCTION

Les productions animales n'ont cessé de connaître dans les pays industrialisés une évolution considérable tant dans l'aspect quantitatif que qualitatif. Grâce à des campagnes de prophylaxie intenses et à un contrôle sanitaire rigoureux, il est rare qu'une denrée alimentaire non conforme soit livrée au consommateur. La transmission alimentaire de certaines affections a disparu grâce à l'amélioration des conditions sanitaires des élevages, ainsi qu'au développement des techniques de conservation du lait.

Le lait est l'une des principales sources de protéines animales pour l'homme, il est surtout un élément important dans l'apport en acides aminés essentiels et un élément de base pour l'alimentation humaine. La filière lait est générative 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.

Le lait peut être aussi une source majeure des différents processus pathologiques menaçant la santé du consommateur, et parfois être à l'origine de mortalités.

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

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

Le taux de réforme lié aux mammites est en constante augmentation depuis les 15 dernières années, passant de 6,5% en 1984 à 14,5% en 1999 à la France (LACASSE, 2007).

Depuis le début des années 180, *Staphylococcus aureus* est devenu le pathogène dominant, présent dans plus de 90% des troupeaux laitiers (LACASSE, 2007). Il synthétise de

nombreuses protéine et enzymes (hémolysine, Dnase, coagulase) responsables de ses possibilités de toxinogénèse (intoxication alimentaire).

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

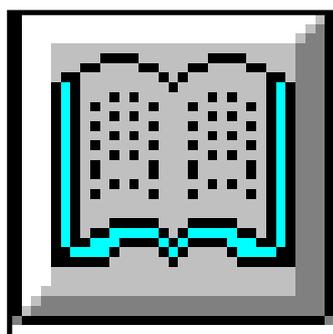
ROSSET en 1978, montre que le *Staphylococcus aureus* est le second germe responsable des TIAC juste derrière les Salmonelles en France.

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

Les objectifs de notre travail est d'apporter une contribution à l'étude de la contamination du lait par les Staphylocoques ; après une étude bibliographique sur le lait, les Staphylocoques et les intoxications alimentaires à Staphylocoques, nous avons effectué des prélèvements du lait puis des analyses bactériologiques à fin d'identifier la prévalence des Staphylocoques ; Enfin, nous avons analysé des résultats d'enquête effectuée sur le terrain relative aux facteurs qui influents sur le taux de contamination et aux TIAC en Algérie.

HISTORIQUE

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



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the central text. The motifs are stylized, resembling small flowers or leaves, and are arranged in a continuous line around the page.

CHAPITRE I

LE LAIT DE VACHE : DEFINITION ET QUALITE BACTERIOLOGIQUE.

I. LE LAIT : DEFINITION ET QUALITE BATERIOLOGIQUE

I.1. Définition du lait

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (ARRETE INTERMINISTERIEL, 1993).

I.2. Les règles requises pour traire un lait de qualité

De nombreux facteurs peuvent agir sur la qualité du lait. Avec de bonnes routines de traite et un équipement de traite adéquat, le risque de développement de mammites sera réduit de manière significative. Pour traire un lait de qualité il faut suivre les règles suivantes (ANONYME 2, 2007).

➤ Préparation de la mamelle

Trois objectifs :

- 1-déclencher le réflexe ocytocique,
- 2-obtenir la propreté des trayons,
- 3-détecter des mammites cliniques par la présence de grumeaux dans la sécrétion ; mammites qui doivent être traitées immédiatement. Plus accessoirement détecter les lésions des trayons et quartier.

Chronologie :

- **1° étape :** Nettoyage et essuyage des trayons par l'utilisation des lavettes individuelles ou douchettes et papier à usage unique.
- **2° étape :** Elimination de 1 à 2 premiers jets de lait de chaque trayon dans un bol à fond noir. L'objectif est la mise en évidence de grumeaux dans le lait ; grumeaux qui signent une infection mammaire clinique. De plus l'élimination d'un jet de lait permet de rincer le conduit papillaire.
- **3° étape** (dans certains élevages) : Eventuellement pré-trempage grâce à l'utilisation de produit détergent sous forme de mousse qui est laissé sur le trayon pendant 30 secondes puis ôté par essuyage avant la pose du faisceau trayeur.

2-Pose du faisceau trayeur selon une technique qui permet d'éviter ou de limiter les entrées d'air.

3-Traite proprement dite.

4-Dépot du faisceau trayeur

Le décrochage du faisceau trayeur se fait soit manuellement ou de façon automatique :

5-Trempage des trayons.

6. Nettoyer les équipements de traite immédiatement après la traite.

7. Refroidir le lait selon des procédures appropriées

Une procédure de réfrigération correcte permet de ralentir, voir d'empêcher le développement de la plupart des bactéries.

8. Contrôler régulièrement la qualité du lait, les équipements de traite ainsi que les données de la performance de traite (ANONYME 2, 2007).

I.3. Qualité bactériologique du lait

La plus ou moins grande contamination du lait en fonction du stade de lactation a une importance primordiale pour sa transformation. Différents facteurs sont en jeu.

I.3.1. Classification

Le risque zoonotique lié à la contamination du lait par certains germes fait l'objet de préoccupations de santé publique (SEEGERS et *al.*, 1997). En effet, le lait contaminé peut être vecteur d'agents responsables de toxi-infections alimentaires (Staphylococcose, salmonellose) (POUTREL, 1985). De fait, en l'absence de pasteurisation, des germes pathogènes pour l'homme provenant de quartiers infectés peuvent contaminer les produits laitiers (BRADLEY, 2002). Certains sont très étudiés : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, Brucelles ou *Salmonella*. D'autres le sont moins comme *Escherichia coli* (SEEGERS et *al.*, 1997).

Les données de MIQUEL (1977) du tableau -I- concerne l'évolution du développement bactérien dans du lait cru en fonction de sa température:

Tableau I : Evolution du développement bactérien dans du lait cru en fonction de sa température (MIQUEL, 1977).

	Nombre de germes par ml de lait cru		
	Lait cru à 6°C	Lait cru à 18°C	Lait cru à 22°C
Au moment de la traite	6500	6500	6500
8 heures après la traite	12000		310000
24 heures après la traite	87000	5000000	11000000

Afin de limiter le développement bactérien dans le lait cru, une réfrigération, la plus rapide possible, doit donc être effectuée (dans l'heure suivant la traite), afin d'abaisser la température du lait à 10°C au minimum (FEILLET, 1998).

La durée de conservation du lait cru est courte car le développement microbien est possible en quelques jours. Il possède en outre un grave danger potentiel : celui de la transmission de germes pathogènes (GUIRAUD, 2003).

I.3.2. Les mammites

Les infections mammaires peuvent être à l'origine de mammites qui se distinguent en :

➤ 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 (critère le plus précoce et le plus constant), 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 suraiguës, aiguës et subaiguës (POUTREL, 1985).

✓ Les mammites cliniques suraiguës :

Dues le plus souvent au *Staphylococcus aureus* ou parfois à des bactéries anaérobies telles le genre *Clostridium*. La sécrétion lactée est soit interrompue, soit très modifiée et présente alors un aspect séreux, aqueux ou hémorragique. Ce type de mammite se caractérise par une très grande rapidité d'apparition et d'évolution (d'une traite à l'autre par exemple). Elle est rare mais souvent mortelle (HANZEN et CASTAIGNE, 2002).

Les mammites gangreneuses dues au *Staphylococcus aureus* sont les plus souvent mortelles.

✓ **Les mammites cliniques aiguës**

Elles surviennent à tous les stades de la lactation et sont déclenchées par différentes bactéries. La production laitière est modifiée en qualité et en quantité. Le lait présente un aspect crémeux, de couleur bleu verdâtre et d'odeur nauséabonde. Cette mammité « mammité d'été » est due le plus souvent à l'action conjuguée de plusieurs bactéries dont le *Corynebacterium pyogènes* (HANZEN et CASTAIGNE, 2002).

✓ **Les mammites cliniques subaiguës et chroniques**

Le lait présente de façon plus ou moins régulière, des grumeaux dans les premiers jets. Petit à petit, la sécrétion diminue, le quartier s'indure et finit par se tarir complètement. L'évolution chronique est la forme la plus caractéristique des infections dues à des Staphylocoques ou à des Streptocoques (HANZEN et CASTAIGNE, 2002).

➤ **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. De même, son analyse biochimique révèle la présence de modifications parfois très importantes de la composition du lait (HANZEN et CASTAIGNE, 2002). Elles ne sont diagnostiquées qu'à l'aide d'examens complémentaires qui mettent en évidence une augmentation du taux cellulaire du lait ou de la conductivité du lait (numération cellulaire du lait individuel, Californian Mastitis Test, mesure de la conductivité du lait) (POUTREL, 1985).

I.4. Examen du lait

I.4.1. Examen macroscopique

Un peu de lait sera examiné visuellement afin de rechercher toute modification de couleur, de consistance, la présence de sang, de grumeaux. La recherche des grumeaux peut être facilitée par la mise en place sur le tuyau long à lait de détecteurs en ligne constitués d'un filtre amovible (HANZEN et CASTAIGNE, 2002) (Photo 1).



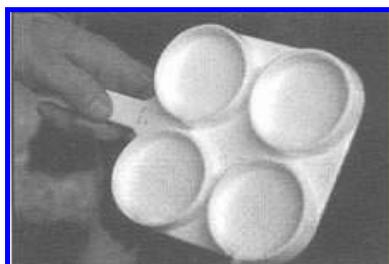
Photo 1 : Inspection du filtre à lait
(HANZEN, 2005-2006).

I.4.2. California Mastitis Test (C.M.T)

Se fait pendant la préparation de la mamelle (après lavage) à la traite. Le principe repose sur la lyse des membranes cellulaires, le détergent libère l'ADN des cellules qui forme alors un gel dont la viscosité est proportionnelle au nombre de cellules dans le lait. Le mode d'emploi est le suivant:



- ✓ essuyage du trayon ;
- ✓ Éliminer les premiers jets ;
- ✓ Recueillir quelques jets de chaque quartier dans le godet correspondant ;
- ✓ Éviter de mélanger le lait de 2 quartiers.



- ✓ Incliner la palette afin de ne conserver que la quantité nécessaire de lait, à savoir environ 2 millilitres (jusqu'à ce que le trait horizontal soit visible).



- ✓ Ajouter autant de réactif qu'il n'y a de lait, soit environ 2 ml.



- ✓ Agitez la solution par de petits mouvements circulaires du poignet, en laissant bien la palette à l'horizontale.
- ✓ Lire le résultat après 10 secondes selon le tableau au dessous.
- ✓ Il est également utile lors de la lecture d'incliner la palette pour visualiser comment le lait s'écoule.

Figure 1 : Mode d'emploi de CMT.

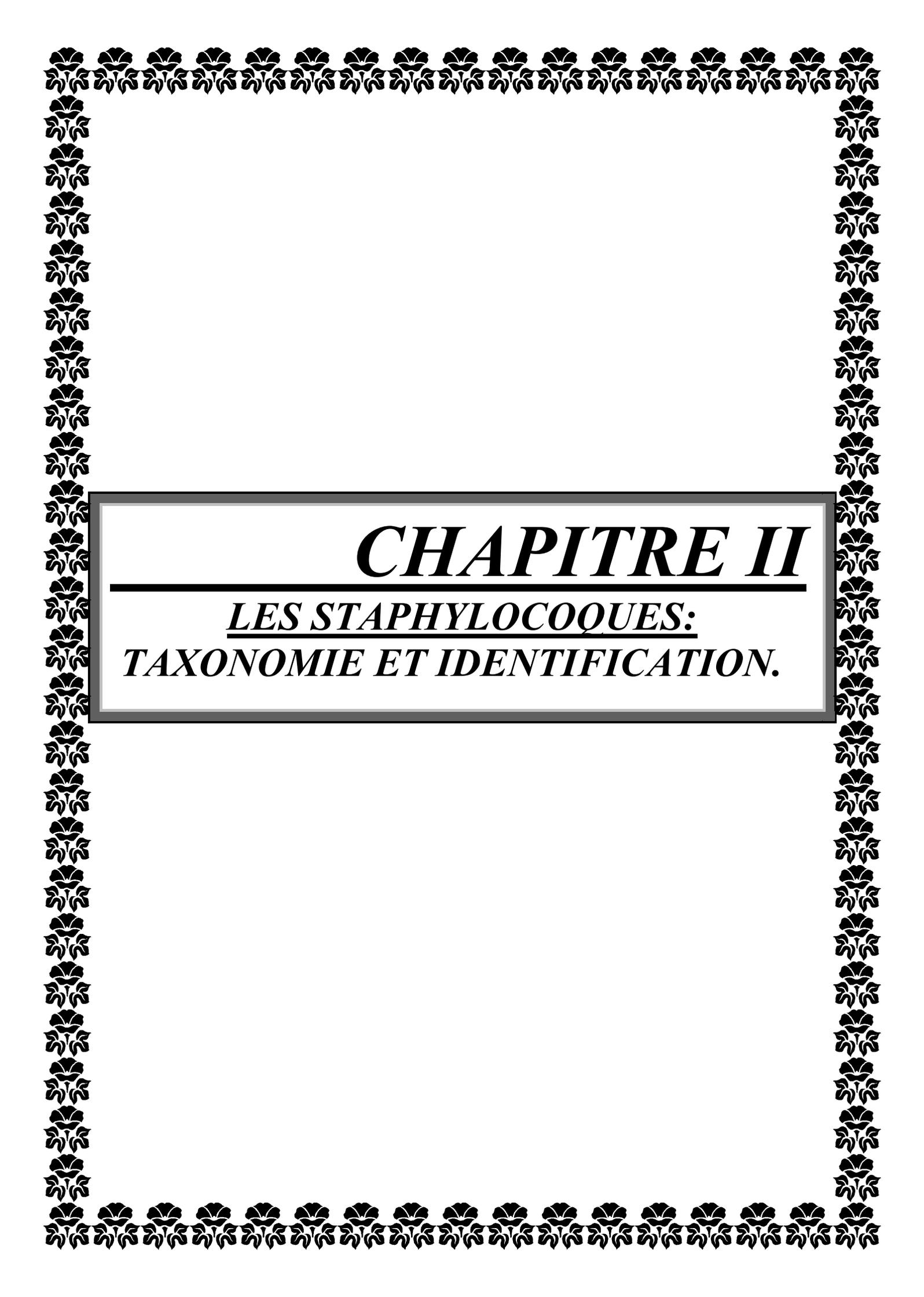
(D'après BOUDRY, 2005)

Tableau II : Règle d'interprétation des résultats du CMT (BERTHELOT *et al.*, 1987).

ASPECT	RESULTAT	CELLULES PAR ML	INTERPRRTATION
Aucun flocculat	-	<500 000	Pas d'infection sub-clinique
Flocculat léger persistant	+	500 000 à 1 000 000	Infection sub-clinique légère.
Flocculat épais adhérent	++	1 000 000 à 5 000 000	Infection sub-clinique nette
Gel épais « blanc d'œuf »	+++	>5 000 000	Infection sub-clinique à clinique

I.4.3. Examen bactériologique

L'apport de la bactériologie s'avère restreint pour ce qui concerne les modifications morphologiques de la mamelle. Les méthodes de la recherche des agents pathogènes sont variées en fonction de type des bactéries.

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the page. The motifs are stylized, resembling small flowers or leaves, and are arranged in a continuous line along all four edges of the page.

CHAPITRE II

LES STAPHYLOCOQUES: TAXONOMIE ET IDENTIFICATION.

II. LES STAPHYLOCOQUES: TAXONOMIE ET IDENTIFICATION

Le genre *Staphylococcus* regroupe des espèces bactériennes constituées de cellules arrondies (cocci) à Gram positif, immobiles, disposées en amas, à la façon d'une grappe de raisin. Les staphylocoques produisent une catalase, ce qui les distingue des streptocoques et des entérocoques. Ils sont aéro-anaérobies et se cultivent facilement sur milieu ordinaire. Les espèces anaérobies strictes sont regroupées dans *Peptococcus* (Photo 2) (JEAN-LOUP, 1997).

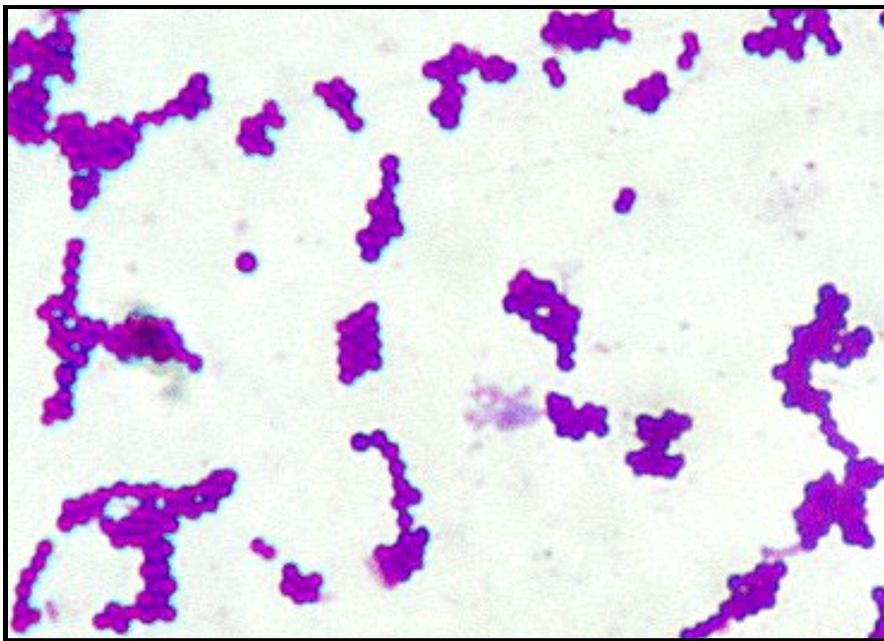


Photo 2: Staphylocoques.
(ANONYME 3, 2008)

II.1. Taxonomie

La famille des *Micrococcaceae* était constituée des bactéries appartenant aux genres *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Planococcus* et *Stomatococcus* (BASCOMB & MANAFI, 1998). Avec l'évolution des techniques génomiques, le genre *Staphylococcus* a été reclassé avec les bactéries à Gram positif dont l'ADN présente un GC% inférieur à 55. Le GC% et la composition de la paroi sont des marqueurs robustes pour séparer le genre *Staphylococcus* des autres cocci à Gram positif et à catalase positive.

Les staphylocoques sont des coques à Gram positif de 0,5 à 2,5 micromètres de diamètre, catalase positive, oxydase négative, immobiles, souvent groupés en amas irréguliers (GUIRAUD, 2003). Ils ont un métabolisme aéro-anaérobie facultative, mais se multiplie plus facilement en aérobiose (ORLANDINI, 1999). On distingue (tableau III):

- **Les staphylocoques à coagulase positive (SCP) :** dont la principale espèce est *Staphylococcus aureus* qui apparaît comme la plus pathogène pour l'homme et les animaux (SUTRA et al., 1998), mais il existe aussi d'autres espèces comme *S.hyicus* ou *S.intermedius* (BOURGEOIS et al., 1996). Le caractère coagulase positive est fortement lié à la capacité de toxinogénèse de la bactérie.

- **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* (BOURGEOIS et al., 1996).

Tableau III : Les différentes espèces du genre *Staphylococcus* (LAURENT et al., 1998).

<u>Espèces à coagulase positive</u>	
<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ;	<i>S. intermedius</i> ;
<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i> ;	<i>S. lutrae</i> ;
<i>S. delphini</i> ;	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i> ;
<i>S. hyicus</i> (certaines souches).	
<u>Espèces à coagulase négative :</u>	
<i>S. arlettae</i> ;	<i>S. lentus</i> ;
<i>S. auricularis</i> ;	<i>S. lugdunensis</i> ;
<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i> ;	<i>S. muscae</i> ;
<i>S. capitis</i> subsp. <i>ureolyticus</i> ;	<i>S. pasteurii</i> ;
<i>S. caprae</i> ;	<i>S. piscifermentans</i> ;
<i>S. carnosus</i> ;	<i>S. pulvereri</i> ;
<i>S. caseolyticus</i> ;	<i>S. saccharolyticus</i> ;
<i>S. chromogenes</i> ;	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i> ;
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i> ;	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i> ;
<i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i> ;	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i> ;
<i>S. epidermidis</i> ;	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i> ;
<i>S. felis</i> ;	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnatus</i> ;
<i>S. gallinarum</i> ;	<i>S. simulans</i> ;
<i>S. haemolyticus</i> ;	<i>S. vitulus</i> ;
<i>S. hominis</i> ;	<i>S. wernerii</i> ;
<i>S. hyicus</i> ;	<i>S. xylosus</i> ;
<i>S. kloosii</i> .	

Toutes les souches de staphylocoques à coagulase positive ne produisent pas des toxines. D'après une étude de Mossel et *al*, (1999), 50 % des souches isolées dans du lait de vache, produisent des toxines. Cependant aucun caractère ne permet de distinguer une souche capable ou non de produire des toxines (ORLANDINI, 1999).

II.2. Pathogénie

a). Cas général

Le mécanisme d'infection pour les staphylocoques peut se résumer en quatre étapes (ARQUILLIERE, 2000) :

- tout d'abord un événement déclenchant ou un facteur favorisant, comme une brèche vasculaire ou cutanée, des lésions endovasculaires, une inoculation per opératoire, la pose de matériel étranger ;
- puis une phase d'adhésion grâce aux adhésines ou autres facteurs d'adhésion ;
- une phase de colonisation avec un début de multiplication, synthèse de coagulase, de protéine A ou encore d'exopolysaccharides;
- enfin une phase de diffusion de l'infection avec synthèse des exoenzymes, la production des toxines.

b). Cas de l'intoxination staphylococcique:

La toxine que produit la bactérie a un effet pathogène sur l'homme. Seules les espèces de staphylocoques capables de produire des entérotoxines sont considérées comme pathogènes pour l'homme. Le consommateur se contamine en ingérant la toxine préformée dans le lait donc on parle plutôt d'intoxination que de toxi-infection (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

➤ **Dans l'estomac**, la toxine stimule les récepteurs intestinaux et gastriques qui transmettent alors le stimulus au centre émétique du cerveau, par l'intermédiaire du nerf vague. Ceci entraîne l'apparition de vomissements (GUIRAUD, 2003).

CHAPITRE-II _____ Les staphylocoques : taxonomie et identification

La quantité minimale de toxine produite par les *Staphylococcus aureus* entraînant des symptômes cliniques chez l'homme varie de 100 ng à 1 microgramme (ORLANDINI, 1999).

Les autres espèces produisent des entérotoxines de façon instable. Leur responsabilité dans les accidents alimentaires est difficile à évaluer puisque :

- ✓ La production des toxines est en quantité moindre.
- ✓ ne sont pas recherchés dans les aliments (BOURGEOIS et *al.*, 1996).

II.3. Maladies staphylococciques

Selon ARQUILLIERE en 2000, les manifestations pathologiques dues à staphylocoques sont très nombreuses et nécrotiques. On distingue deux grands types :

- ✓ **Infection localisée**, comme dermites, métrites, vaginites, arthrites, mammite.
- ✓ **Infection généralisée**, comme septicémies, méningites.

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

L'identification des souches des espèces appartenant au genre *Staphylococcus* est possible grâce à l'utilisation complémentaire de méthodes de caractérisation phénotypique et de méthodes de caractérisation génotypique (Tableau IV).

Tableau IV: Caractères distinctifs entre les quatre genres de la famille des *Micrococcaceae* et les genres *Streptococcus* et *Enterococcus* (LAURENT et al., 1998).

Caractères	<i>Staphylo</i>	<i>Micro</i>	<i>Plano</i>	<i>Stomato</i>	<i>Strepto</i> <i>Entero</i>
Associations cellulaires prédominantes	Amas, paires	Amas, tétrades	Paire, tétrades	Amas, paires (rare)	Chaînettes, paires
Type respiratoire (a)	AnF	AeS	AeS	AnF	AnF
Métabolisme (b)	R+F	R	R	R+F	F
Fermentation du glucose	+	-	-	+	+
Catalase	+	+	+	Faible ou -	-
Test de l'oxy-ase	-	+	Nd	-	-
Présence de cytochromes	+	+	+	+	-
Mobilité	-	-	+	-	-
Résistance à la lysostaphine	Sensible	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant
Acide teichnoïque dans la paroi	+	-	+	-	V(c)
G+C %	30-39	64-75	39-52	56-61	34-46

Staphylo:*Staphylococcus*;

Micro:*Micrococcus*;

Plano:*Planococcus*;

Stomato:*Stomatococcus*;

Strepto : *Streptococcus* ;

Entero ; *Enterococcus* ;

(+) : présence ou réaction positive ; (-) : réaction négative ou absence ; **nd** : non déterminé ;

(a) **AnF** : anaérobie facultatif ; **V** : variable ; **AeS** : aérobie strict ; (b) **R** : respiratoire ;

F : fermentatif ; (c) : présence d'acide teichnoïque chez les souches du séro groupe D.

II.4.1. Critères phénotypiques

II.4.1.1. Caractéristiques culturelles :

- Les staphylocoques sont hétérotrophes et requièrent des milieux complexes pour se multiplier. Le potentiel de croissance est estimé sur des milieux de culture (gélose P) contenant 15%NaCl après une incubation de 48 heures à 30 C° (KLOOS et *al.*, 1974).
- La capacité à cultiver en présence d'azote inorganique est estimée sur des milieux contenant $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ et NH_4CL comme uniques sources d'azote (KLOOS et WOLFSHOHL, 1979).
- La température optimale est déterminée par une culture sur gélose P à 15 et à 45C° après 48 heures d'incubation.
- **Milieu d'isolement** : Dans les aliments ; le milieu le plus utilisé est le milieu de Baird Parker au jaune d'œuf et au Tellurite de Potassium (Photo 3).

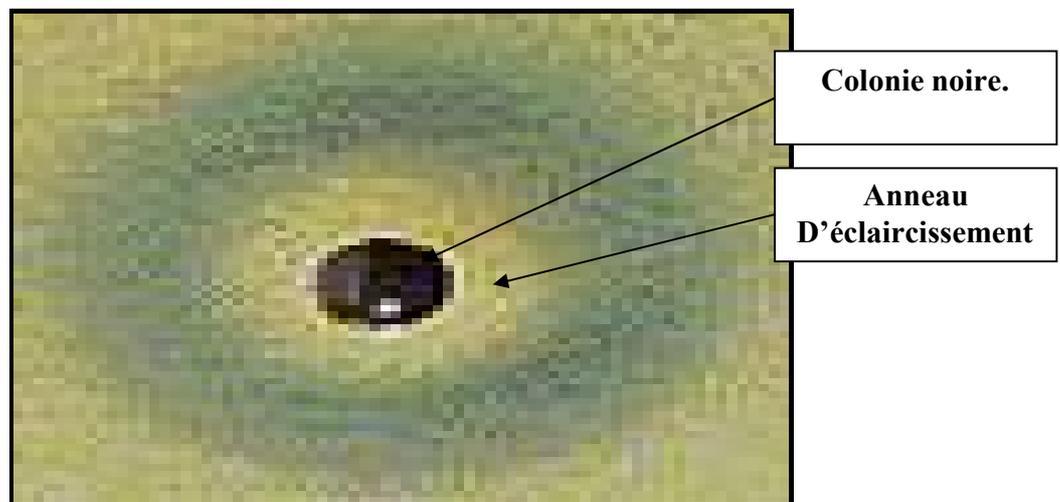


Photo 3: Colonie de staphylocoque sur le milieu de Baird Parker.
(ANONYME 4, 2008)

II.4.1.2. Morphologie et pigmentation de la colonie

Après incubation des milieux de culture ensemencés dans des conditions favorables ; des caractéristiques comme la taille, la couleur, la texture sont relevées sur les colonies obtenues (KLOOS et BANNERMAN, 1994).

II.4.1.3. Sensibilité à la novobiocine

La sensibilité à la novobiocine est estimée par sa concentration minimale inhibitrice (KLOOS et SCHEIFER, 1975).

II.4.1.4. Activités enzymatiques

Les activités des enzymes suivantes sont testées afin de déterminer leur présence dans les différentes souches :

Nitrate réductase, Phosphatase alcaline, Arginine dihydrolase, Ornithine décarboxylase, Uréase, Cytochrome oxydase, Staphylocoagulase libre , Thermonuclease, Activité hémolytique sur gélose au sang (ARQUILLIERE, 2000).

II.4.2. Critères génotypiques

L'identification des différentes espèces par des méthodes d'analyse du génotype de souches reste indissociable d'une identification phénotypique, cette dernière devant corroborer les résultats obtenus par les méthodes de biologie moléculaire (WAYNE et *al.*, 1987).

Les études d'hybridation doivent se faire par comparaison entre la souche d'intérêt et toutes les souches de références représentatives des différentes espèces connues. Le pourcentage d'homologie obtenu doit cependant être interprété avec précaution à cause de la variabilité des conditions expérimentales (FRENEY et *al.*, 1999).

La technique de PCR (Polymérase Chaîne Réaction) permet d'obtenir des profils différents, correspondant aux différentes espèces et sous espèces. Une digestion par une enzyme de restriction des segment amplifiés est parfois nécessaire pour obtenir des profils facilement différenciables les uns des autres (BUSSE et *al.*, 1996).

II.4.3. Tests d'identification du genre *Staphylococcus*

Les tests effectués permettent de définir les caractéristiques métaboliques des bactéries, afin de les identifier. En fonction des tests réalisables, on parvient à une identification plus ou moins précise (famille, genre ou espèce). En effet, certains sont très coûteux ou très complexes, donc

tous les laboratoires ne disposent pas des moyens de les réaliser. Les principaux tests utilisables sont :

- ✓ Coloration de Gram (voir la partie expérimentale).
- ✓ Recherche de la catalase (voir la partie expérimentale).

II.4.4. Tests d'identification de l'espèce staphylococcique

II.4.4.1. Recherche de l'oxydase (voir la partie expérimentale).

II.4.4.2. Recherche de la Staphylocoagulase libre (voir la partie expérimentale).

II.4.4.3. Test de la sensibilité à la novobiocine

- ✓ Le caractère de la sensibilité à la novobiocine peut être mis en évidence au moyen de disques chargés à 5 µg de novobiocine déposé sur une gélose Mueller Hicton ensemencée par la souche à étudier (ALMEIDA et JORGENSEN, 1982) ;
- ✓ Mesurer le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne ;
- ✓ *Souches résistantes* : lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 16mm;
- ✓ *Souches sensibles* : lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 16mm (BRUN et BES, 1990).

II.4.4.4. Détermination du biotype

- ✚ Base sur l'ID32 Staph : est un système d'identification rapide de certains *cocci* à Gram positif ;
- ✚ Chaque galerie contient 32 couples dont 26 permettant d'effectuer des tests biochimiques ;
- ✚ Il est utilisé avec l'automate bioMerieux ATB système, qui est composé d'un densitomètre, un inoculateur, un appareil de lecture, une imprimante et un logiciel, incluant pratiquement toutes les espèces d'origine humaine et de nombreuses espèces d'origine animales et environnementales ;
- ✚ Le système permet également l'identification de *Stomatococcus mucilaginus* et de 6 espèces de microcoques avec genres apparentés (KONEMAN et *al.*, 1997) ;

CHAPITRE-II _____ Les staphylocoques : taxonomie et identification

Toutes les espèces de staphylocoques ne sont pas référencées et il ne permet pas de différencier les espèces ayant des profils biochimiques proches, comme par exemple *Staphylococcus weneri* et *Staphylococcus pasteurii* ou *Staphylococcus simulans* et *Staphylococcus felis* (ARQUILLIERE, 2000).

A decorative border consisting of a repeating pattern of stylized floral motifs, possibly roses or similar flowers, arranged in a rectangular frame around the central text.

CHAPITRE III

*HABITAT DES
STAPHYLOCOCCIQUES ET
CONTAMINATION DU LAIT.*

III. HABITAT DES STAPHYLOCOQUES ET CONTAMINATION DU LAIT

III.1. Habitat des staphylocoques

Les staphylocoques sont largement répandus dans la nature et sont couramment isolés de la flore commensale du lait de vache, des glandes, de la peau et des muqueuses des mammifères. Ils sont parfois retrouvés dans la bouche, le sang, les glandes mammaires ainsi qu'au niveau des intestins, des tractus génital et respiratoire de ces hôtes (NAGASE *et al.*, 2002). Les staphylocoques peuvent subsister dans l'environnement de leurs hôtes, comme les mamelles des vaches, qui constitueraient l'un des hôtes naturels majeurs de ce genre bactérien.

III.1.1. Les staphylocoques dans Le lait

De nombreux travaux se sont intéressés aux SCN présents dans le lait de vache, du fait de leur implication dans des pathologies telles que les mammites. Par conséquent, quelques auteurs s'attachèrent à identifier les espèces présentes dans le lait et à déterminer le lien entre espèce et réaction inflammatoire due aux mammites.

- Dans le lait de vache atteintes ou non de mammites, de nombreuses espèces ont été identifiées, comme *S. capitis*, *S. chromogenes*, *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lentus*, *S. saprophyticus*, *S. simulans*, *S. warneri* et *S. xyloso* (BEN HASSEN *et al.*, 2003).
- ARIZNABARRETA *et al.* en 2002, isolèrent du lait de brebis majoritairement *S. epidermidis* (53% des isolats) : parmi cette espèce, 24% des souches étaient impliquées dans des mammites. Les différentes espèces de SCN isolées furent classées en trois catégories :
 - ✓ celles qui ont provoqué des inflammations importantes (*S. caprae*, *S. simulans*),
 - ✓ celles qui ont engendré une réaction modérée (*S. capitis*, *S. epidermidis*, *S. chromogenes*, *S. haemolyticus* et *S. hominis*),
 - ✓ et enfin les espèces qui ont induit une réaction inflammatoire transitoire (*S. lentus* et *S. xyloso*) (ARIZNABARRETA *et al.*, 2002).
- Dans le lait de chèvres saines, de nombreuses espèces ont aussi été isolées, comme par exemple *S. caprae*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. warneri* et *S. xyloso* (BJORLAND *et al.*, 2005).

III.1.2. Les staphylocoques isolés chez l'homme

Les staphylocoques représentent près de 50% des bactéries aérobies isolées sur la tête, les aisselles, les bras, les jambes et dans les narines. Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière contre les bactéries de la flore transitaire. Les espèces de SCN les plus fréquentes sont *S. capitis*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* et *S. hominis* (KLOOS *et al.*, 1976).

III.1.3. Les staphylocoques isolés chez l'animal

Chez les animaux sauvages, les espèces *S. kloosii* et *S. xylosus* sont prédominantes. Chez les animaux domestiques, peu d'études sur l'écologie microbienne ont été réalisées:

- ✚ Les bovins sont porteurs de *S. saprophyticus* subsp. *bovis*, *S. vitulinus* tandis que *S. muscae* est associé aux mouches au voisinage des bovins (KLOOS, 1980).
- ✚ Les ovins hébergent *S. kloosii* et *S. lentus*. Des espèces de SCN ont aussi été caractérisées au niveau cutané-muqueux chez des petits mammifères: écureuil (*S. kloosii*, *S. sciuri*, *S. vitulinus*), chat (*S. felis*)... (KLOOS, 1980).
- ✚ Les chèvres hébergent *S. lentus* et diverses espèces trouvées dans leur lait comme *S. arlettae*, *S. capitis*, *S. nepalensis*, *S. pasteurii* et *S. simulans* (DEVRIESE *et al.*, 1985).
- ✚ Les chevaux hébergent les espèces *S. equorum* subsp. *equorum*, *S. kloosii* et *S. vitulinus*.
- ✚ Les espèces résistantes à la novobiocine semblent plus fréquemment isolées dans les narines et sur la peau des animaux de ferme que chez l'homme (DEVRIESE *et al.*, 1985).

La connaissance de l'habitat des staphylocoques reste très incomplète car beaucoup d'espèces-hôtes animales n'ont pas encore été étudiées. De plus, l'exploration de nouvelles niches écologiques aboutit souvent à la description de nouvelles espèces (*S. nepalensis*, *S. succinus*...).

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.

III.2. 1. Réservoirs

La distribution des germes dans l'élevage est très large. Cependant, pour chaque germe on reconnaît des réservoirs primaires et des réservoirs secondaires. Les réservoirs primaires sont

occupés en permanence par les germes. Les réservoirs secondaires sont occupés transitoirement par les germes provenant des réservoirs primaires (Fig. 2).

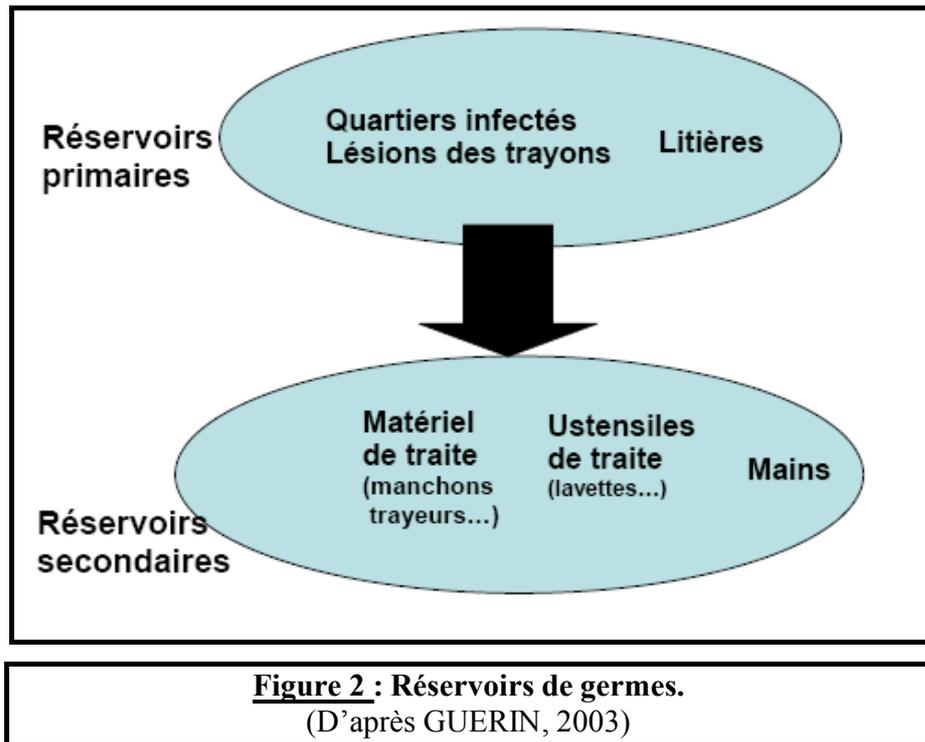


Figure 2 : Réservoirs de germes.

(D'après GUERIN, 2003)

Ex : *S. aureus* a pour réservoir I^{aire}, les quartiers infectés et les lésions des trayons.

D'après GUERIN en 2003 ; les principales sources d'infections sont (Fig. 4 et 5) :

➤ **Quartiers infectés :** Les facteurs d'introduction sont ; la détection trop tardive des infections, la limite d'efficacité du traitement (germes inaccessibles ...) et l'absence de politique de réforme des vaches incurables.

➤ **Lésions infectées des trayons :** gerçures, crevasses, éversion du canal du trayon, qui constituent de véritables gîtes pour les staphylocoques. Ces germes prolifèrent dans ces lésions et sont très difficiles à déloger.

➤ **Lésions virales d'origine infectieuses** (exemple: herpès virus): Il s'agit de surinfection par les staphylocoques.

➤ **Les conditions d'habitat :** litière traumatisante, logettes étroites, grilles d'élimination des déjections trop étroites ou trop espacées.

➤ **Transmission pendant la traite :** par les mains des trayeurs et le matériel de traite (manchons trayeurs, lavette ...) (Fig. 3).

➤ **Transmission entre les traites** : par capillarité via le canal du trayon (qui reste ouvert environ 20 minutes après la traite) après la traite. C'est surtout lors de contact avec la litière que la contamination s'effectue (décubitus après la traite sur aire paillée fortement contaminée) (Fig. 3).

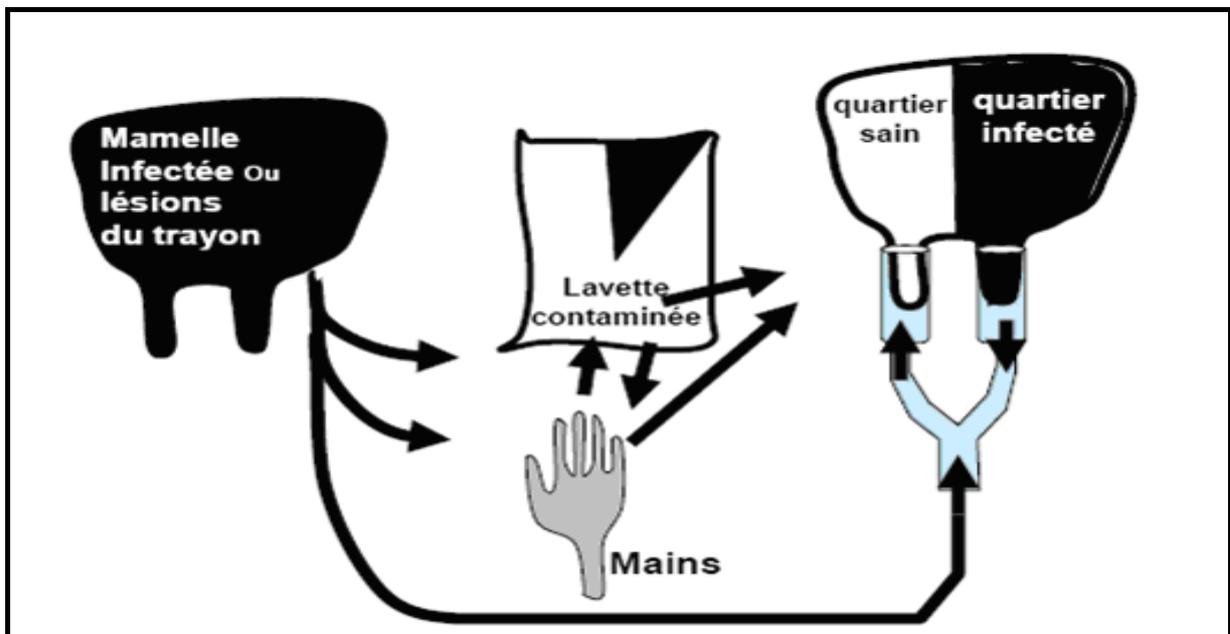


Figure 3: Modes de transmission des bactéries (*S. aureus*) d'un quartier infecté à un quartier sain de la même mamelle ou d'une autre mamelle.

(D'après BERTHELOT et *al.*, 1987)

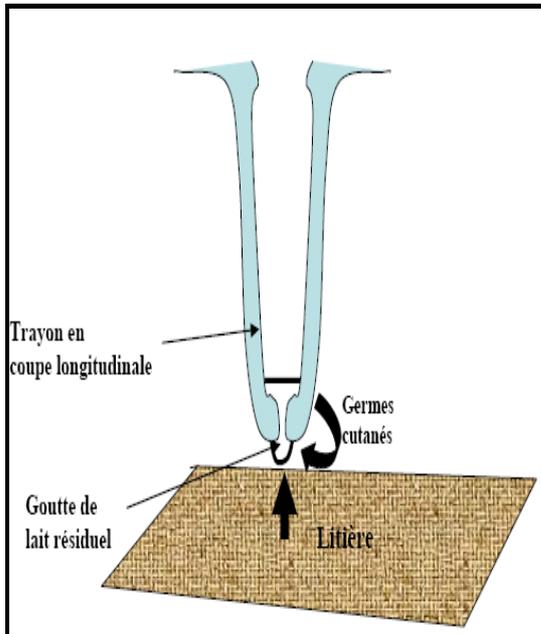


Figure 4: Contamination du canal du trayon par capillarité (litières).
(D'après GUERIN, 2003)

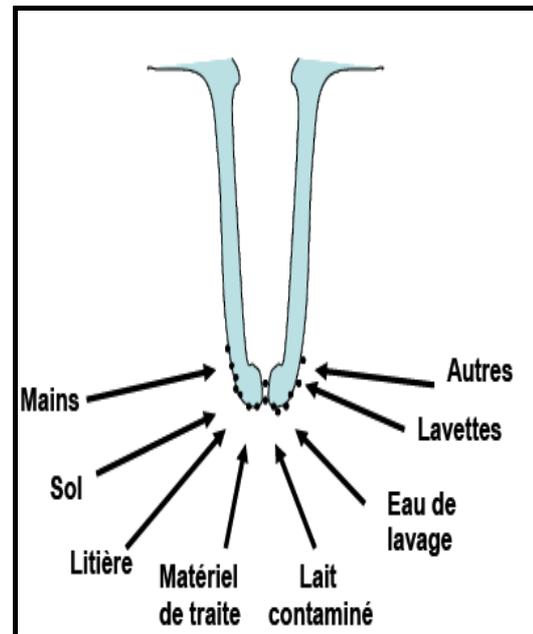


Figure 5 : Différentes origines des germes qui contaminent l'extrémité et la peau du trayon.
(D'après GUERIN, 2003)

III.2.2. Exposition de l'agent pathogène

La contamination peut se faire :

➤ **Par infection hématogène** : seuls certains pathogènes sont capables de passer dans le lait à l'état vivant et donc de provoquer une infection d'origine endogène. Ce sont des germes plutôt rares comme les staphylocoques, les salmonelles, *listéria*, et les mycobactéries (CAINAUD, 2005).

➤ **Par entrée du germe à l'extrémité du trayon** : en l'absence de maladie systémique, la porte d'entrée la plus fréquente pour les infections est le canal du trayon. L'exposition varie en fonction de l'état de la mamelle et donc des causes possibles de lésions des trayons (Le logement et le climat sont donc à rapporter à ce facteur puisqu'ils peuvent être à l'origine de lésions de la mamelle). L'hygiène de traite et le fonctionnement de la machine à traire ont également un rôle important dans l'exposition aux staphylocoques (CAINAUD, 2005).

III.2.3. Pénétration des staphylocoques dans la mamelle

Elle se fait à travers le canal du trayon entouré d'un sphincter musculaire involontaire, puis à travers les replis muqueux de la rosette de Fürstenberg, à travers le sinus papillaire et enfin le sinus glandulaire. La muqueuse du canal est tapissée de cellules kératinisées possédant des propriétés bactériostatiques. Ces cellules desquament régulièrement, ce qui contribue à l'élimination des staphylocoques dans le lait en début de traite (Fig. 6) (POUTREL, 1985).

Le franchissement du canal du trayon peut se faire par multiplication des staphylocoques dans des moments adéquats. L'ouverture du sphincter étant maximale à la fin de la traite, c'est lors de la traite et dans la demi-heure suivant la traite qu'a lieu la majorité des infections. De même le canal du trayon voit son diamètre augmenter au vêlage et au tarissement, d'où une sensibilité accrue des vaches aux infections pendant ces périodes. Un canal du trayon « sain » est un mécanisme de défense efficace qui s'oppose à la remontée des staphylocoques (LEBRET et *al.*, 1990).

Les bactéries s'établissent alors à proximité des cellules épithéliales bordant les canaux sécrétoires, absorbant des facteurs nutritifs du lait tout en expulsant des toxines nocives qui attaquent et détruisent l'épithélium. Par le fait que l'effet du dépôt de *Staphylococcus* dans le canal dépend de la profondeur de ce dépôt. Dans les quartiers où le dépôt a été effectué à 4 mm de profondeur les infections mammaires sont beaucoup plus fréquentes que dans les quartiers où cette inoculation a été effectuée à 3 mm. Les staphylocoques ont des fréquences de reconnaissance de la fibronectine variables en fonction des espèces (Tableau V) (GUERIN, 2003).

Tableau V : Fréquence de reconnaissance de la fibronectine par les différentes espèces de staphylocoques (GUERIN, 2003).

	Espèces	Fréquence de reconnaissance
Staphylocoques coagulase (+)	<i>S. aureus</i>	95-98 %
Staphylocoques coagulase (-)	<i>S. simulans</i>	80 %
	<i>S. haemolyticus</i>	80 %
	<i>S. epidermidis</i>	71 %
	<i>S. saprophyticus</i>	65 %
	<i>S. warneri</i>	58 %
	<i>S. cohnii</i>	20 %
	<i>S. capitis</i>	14 %
	<i>S. xylosus</i>	0 %

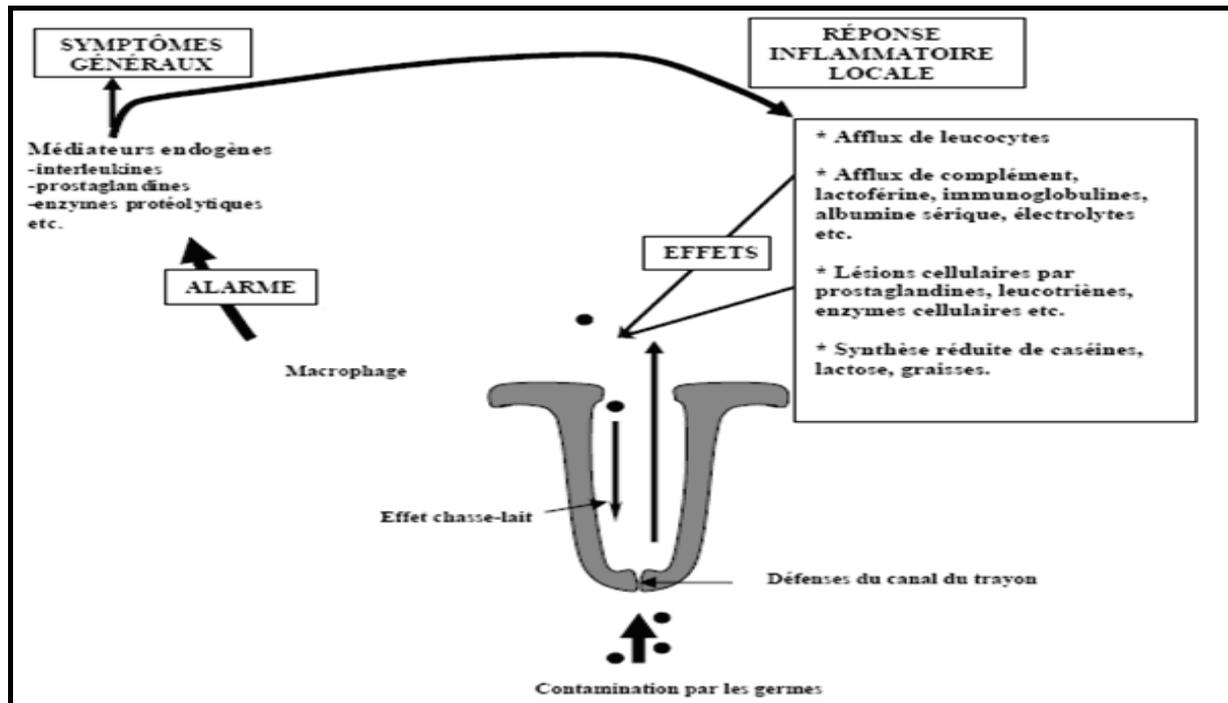


Figure 6 : Interactions entre les défenses mammaires et les bactéries.

(D'après KREMER et *al.*, 1990)

III.2.4. Infection de la glande

La traite par son effet de vidange permet une élimination mécanique partielle des staphylocoques. Ces germes qui provoquent l'infection ont donc des propriétés d'adhésion à l'épithélium du sinus lactifère (NOIRETERRE, 2006).

Les staphylocoques vont coloniser la mamelle et s'y multiplier grâce à leur équipement enzymatique qui va leur permettre d'adhérer aux cellules épithéliales des canaux lactifères, d'échapper au système immunitaire, d'envahir localement les tissus et de provoquer une modification qualitative du lait produit (RICHARD, 1998).

Le lait est un bon milieu de culture, car il contient peu de cellules immunitaires et les grands volumes secrétés diluent les systèmes de défenses (FLACHE, 2002).

Lors de l'infection par les staphylocoques, les polynucléaires neutrophiles deviennent la population cellulaire majoritaire et représentent 80% du nombre total de cellules. Ce sont eux qui assurent la phagocytose, qui se fait en deux étapes : ingestion de la bactérie puis destruction à l'intérieur du phagolysosome (fig. 7) (PAAPE M et *al.*, 1999).

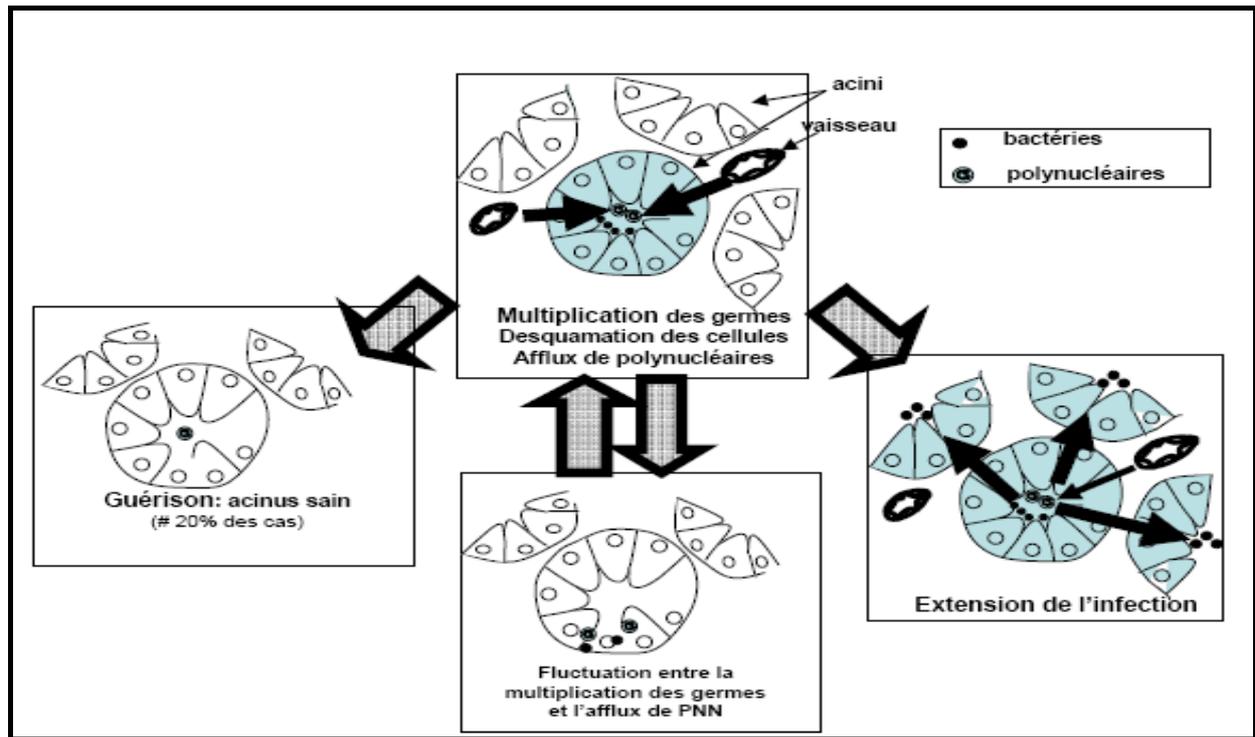


Figure 7 : Déroulement du processus infectieux.

(D'après BERTHELOT et *al.*, 1987)

III.2.5. Devenir de l'infection

Le devenir de l'infection staphylococcique va dépendre de l'intensité de la réponse inflammatoire et des caractéristiques de l'agent causal. L'infection peut alors être clinique, avec plusieurs degrés de gravité. L'état de gravité de l'infection peut évoluer au cours du temps : une diminution de résistance de l'animal peut conduire à une aggravation de l'infection (FLACHE, 2002).

III.2.6. Réponse de l'organisme

Les mécanismes de défenses sont classés en deux grands types (fig. 8) :

III.2.6.1. Les défenses passives

Ils siègent essentiellement dans le canal du trayon (LEBRET et *al.*, 1990). Le diamètre du canal du trayon est plus grand dans sa partie proximale (0,8 mm) que dans sa partie distale (0,4 mm). Il constitue de ce fait un élément de résistance important (BOUCHARDE, 2003).

Un sphincter rapproche les bords du canal du trayon. De plus, les bactéries peuvent être adsorbées par la kératine et éliminées par la desquamation à la faveur d'une traite. Certains composants de l'enduit kératinisé sont doués d'activité anti-bactérienne et les replis de la muqueuse obstruent le canal du trayon au niveau de la rosette de Fürstenberg (BOUCHARDE, 2003).

III.2.6.2. Les défenses actives

Ces mécanismes sont essentiellement ceux qui sont mis en jeu une fois que l'agent infectieux a dépassé le canal du trayon.

Parmi les cellules qui interviennent dans la première ligne de défense contre les infections intramammaire, les macrophages qui représentent la majorité des cellules somatiques dans un lait de vache normal, ils initient l'inflammation lorsque et/ou après avoir été stimulés par la phagocytose des bactéries ou par les toxines qu'elles larguent, ils sécrètent des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 et le TNF- α qui initient les symptômes généraux de l'inflammation et conduisent à un afflux massif de cellules dans la mamelle (SALSBERG *et al.*, 1984).

D'après FLACHE en 2002 ; d'autres moyens d'activités anti-bactériennes non spécifiques représentés par plusieurs protéines du lait :

➤ **Le système du complément** : L'activation du complément est renforcée par les anticorps qui élargissent également son spectre d'activité. Il peut s'attaquer aux bactéries qui l'activent, et comporte un complexe d'attaque membranaire bactéricide

➤ **Les enzymes du lait** : certaines enzymes sont inactivées par la pasteurisation. Elles peuvent induire des modifications technologiques (perte de rendement) et organoleptiques (lipases et protéinases). Elles ont un rôle antibactérien.

➤ **Les anticorps du lait** : sont dirigés contre les toxines bactériennes et jouent un rôle protecteur important, mais ils ne permettent pas l'élimination de l'infection (RAINARD, 1991).

➤ **Le lysozyme du lait** : est un enzyme capable de lyser la paroi de certaines bactéries.

➤ **La lactoferrine du lait** : qui ralentit la croissance des bactéries dont les besoins en fer sont importants par le fixage de fer ferrique en présence d'ions bicarbonates lors d'inflammation très importante.

III.3.1. Forces de contamination de la machine à traire par les staphylocoques

III.3.1.1. Le retour de lait ou la traite humide

Le phénomène de retour de lait, correspond à un retour de lait du faisceau trayeur vers le trayon durant la traite. Ce lait chargé des staphylocoques 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. C'est en fin de traite que ce phénomène est le plus dangereux pour la santé mammaire. Dans le cas de traite humide, le lait contaminé par les staphylocoques est alors aspiré à l'intérieur du trayon (BOUDRY, 2005).

Pour limiter le risque de ces contaminations durant la traite, il est crucial de donner priorité à l'évacuation du lait et à la stabilité du vide sous le trayon.

III.3.1.2. Le phénomène d'impact

Il s'agit d'entrée d'air dans le système par les manchons trayeurs essentiellement (lors de la pose ou lors de la dépose ou à l'occasion de glissement du faisceau trayeur). Cet air projette violemment du lait contaminé par les staphylocoques dans le canal du trayon ou sur les trayons voisins (de la même vache ou des vaches voisines si la réserve de vide est insuffisante) ; et le lait contaminé provient non plus du quartier touché mais de l'un des autres quartiers. En pratique, l'entrée soudaine d'air au niveau des manchons ou sifflements est à l'origine des phénomènes d'impact (fig. 9) (GUERIN, 2003).

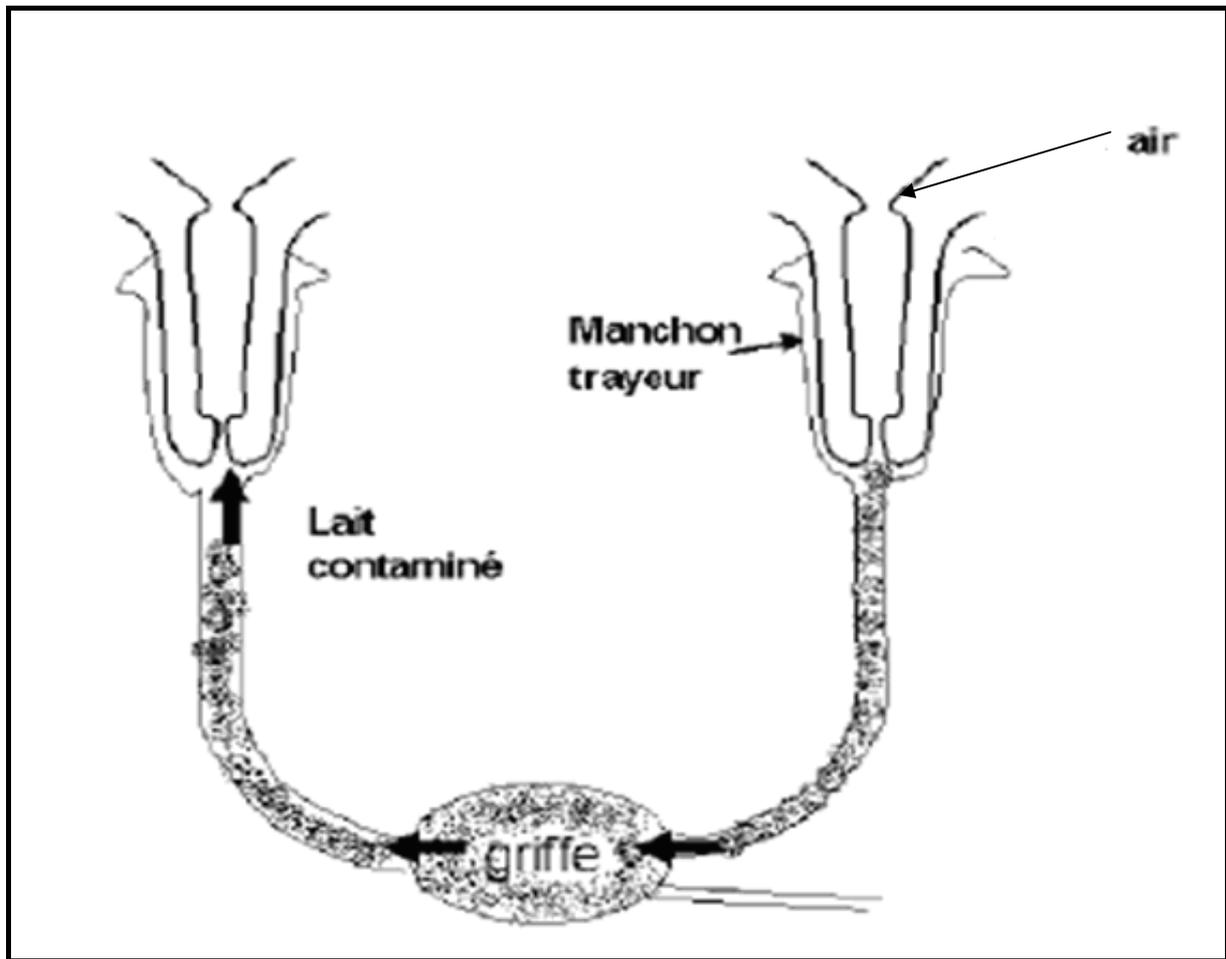


Figure 9: Phénomène d'impact.
(D'après GUERIN, 2003)

III.3.2. Effet traumatisant de la machine à traire

III.3.2.1. Différents types de lésions du trayon

L'examen clinique des trayons permet parfois de mettre en évidence de nombreuses lésions de même type sur les vaches du troupeau.

Le canal du trayon s'oppose à la pénétration des staphylocoques dans la mamelle selon deux types de mécanismes distincts (BARTHELOT et *al.*, 1991):

➤ **Ceux liés à la conformation du trayon**

Grâce à la forme conique du canal du trayon, des fibres musculaires lisses associées à des fibres élastiques et du collagène forme l'obstrue au canal à l'apex du trayon et enfin des replis de la muqueuse renforce l'occlusion du canal.

➤ **Ceux liés au fonctionnement du canal du trayon**

Les staphylocoques sont entraînés par le renouvellement régulier des assises cellulaires kératinisées du canal du trayon qui forment un véritable film tampon possible de l'observer à la base du trayon des vaches qui persiste plusieurs minutes après la traite (LACOMBE., 1995).

III.3.2.2.Effet de la machine à traire sur les trayons

Selon FEDERICI et *al* en 2002, les erreurs de techniques de traite et de fonctionnement de la machine sont la cause primaire des changements à court, moyen et long terme de l'intégrité des trayons :

- ✓ Changement de couleur,
- ✓ Anneau de compression,
- ✓ Oedème de l'extrémité du trayon,
- ✓ Ouverture de l'orifice externe du trayon,
- ✓ Etat de la peau des trayons,
- ✓ Lésions vasculaires,
- ✓ L'hyperkératose de l'extrémité des trayons.

III.3.3. Effet vecteur de la machine à traire

Lors de la traite, les manchons sont contaminés par les staphylocoques provenant de la peau des trayons et des quartiers infectés. Il s'ensuit un transport microbien de trayon à trayon et de vache à vache durant toute la traite. Les conséquences de ce transport passif de staphylocoques sur la santé mammaire seront importantes si elles sont potentialisées par des effets traumatisants ou contaminants de la machine à traire. L'hygiène du logement et l'hygiène des trayons avant la traite diminueront l'apport des staphylocoques dans les manchons. De même, la gestion des vaches infectées durant la traite est un moyen de lutte efficace contre les contagions pendant la traite : ordre de traite, utilisation d'une griffe réservée à la traite des vaches infectées, rinçage

CHAPITRE-III _____ ***Habitat des staphylocoques et contamination du lait.***

et/ou désinfection des griffes durant la traite, réformes des vaches infectées chroniques (BOUDRY, 2005).

Il reste une certitude absolue et bien connue : des manchons usagés et craquelés sont des vecteurs très importants de transfert de staphylocoques d'une vache à l'autre. Il convient par conséquent d'être très vigilant sur leur état. Un changement régulier au moins une fois par an ou toutes les 2500 traites est absolument nécessaire (GIRODON, 2001).

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the central text. The motifs are stylized, resembling small flowers or leaves, and are arranged in a continuous line around the page.

CHAPITRE IV

LES INTOXINATIONS STAPHYLOCOCCIQUES.

IV. LES INTOXINATIONS STAPHYLOCOCCIQUES

IV.1. Les intoxications

IV.1. 1. Historique et découverte

En 1884, VAUGHN décrit pour la première fois une intoxication d'origine staphylococcique frappant 300 personnes ayant consommé du fromage. VAUGHN consomme lui-même cet aliment suspect et reproduit les symptômes observés lors de l'intoxication. L'examen microscopique du fromage révèle la présence de bactérie sphériques.

A la suite d'une intoxication alimentaire, en 1914, BARBER met en évidence des staphylocoques dans du lait provenant d'une vache atteinte de mammites.

JORDAN et *al* en 1930, préparent des bouillons à partir de gâteaux responsables d'une intoxication. Ils donnent ces bouillons à des volontaires humains qui présentent alors les mêmes symptômes. Ils en déduiront l'existence d'un nouveau type d'intoxication alimentaire d'origine staphylococcique.

IV.1.2. Définition

C'est une intoxication pure et non une infection ou une toxi-infectieux. Les troubles ne sont pas provoqués par les staphylocoques, mais par l'entérotoxine qu'ils ont élaborée en pullulant dans le lait. Cette entérotoxine possède trois types antigéniques : A, B et C, et est thermostable : une durée de chauffage de 20 à 30 minutes à 100C° ne l'altère pas (KOUAR, 1979).

IV.1.3. Fréquence

Parmi les intoxications alimentaires, celles d'origine staphylococcique tiennent une place prépondérante. TAYLOR attribue au staphylocoque plus de 90% des cas d'intoxications survenues pendant la guerre dans l'armée Américaine. Cependant les intoxications alimentaires sont responsables à 30% des épidémies staphylococciques dans le monde (BENDALI, 1978)

ROSSET en 1978, a fait une étude très intéressante sur les germes responsables des toxi-infections d'origine alimentaire en France durant les années 1970 à 1977. Les résultats qu'elle a obtenus sont résumés dans le tableau VI :

Tableau VI : Germes responsables des toxi-infections en France (70-77). Classement par fréquence des foyers observés (ROSSET, 1978).

Nb de foyers	Germes	Salm	Staph	Clost.B	Clost.P	AUTRES GERMES	INCONNUS
	Année	.S					
47	1970	11	19	5		1	11
29	1971	16	4	1		3	5
62	1972	22	13	3	5	5	14
74	1973	19	18	4	2	2	29
69	1974	27	19	3	5	1	14
67	1975	20	20	6	1	2	18
73	1976	13	21	3	3		33
63	1977	8	6	4	1	5	39
	Total	136	120	29	17	19	163
	Classement	1°	2°	3°	5°	4°	

Nb : Nombre ;

Salm .S : Salmonelle Shigelle ;

Staph : Staphylocoque ;

Clost.B: Clostridium Botulinum;

Clost.P: Clostridium Perfringens.

IV.1.4. Mode de contamination

Contrairement aux salmonelles, les staphylocoques sont en général d'origine humaine. La pasteurisation et l'ébullition du lait ne détruisent pas l'entérotoxine responsable de ces accidents. Des défauts d'hygiène commis à la ferme au cours de la traite et de la manipulation du lait, associés au fait que l'ouvrier agricole ne prend pas toujours le soin de laisser les bidons dans l'endroit frais depuis la traite jusqu'au ramassage, entraînent cette possibilité d'intoxication d'origine lactée. De plus, il y a lieu d'attribuer certaines épidémies au lait et produits laitiers contaminés par des staphylocoques d'origine bovin (KOUAR, 1979).

IV.1.5. Physio pathogénie

La toxine est préformée dans l'aliment (entérotoxine) et il n'y a pas de croissance dans l'intestin (la bactérie n'intervient plus): un microgramme de toxine est suffisant pour développer une toxoinfection. Les toxines résorbées se fixent sur des neurorécepteurs au niveau du tube digestif; ces neurorécepteurs stimulés transfèrent le message via le nerf vague et stimule le centre du cerveau qui commande les vomissements (ANONYME 5, 2008).

IV.1.6. Description de plusieurs intoxications

Les intoxications d'origine staphylococcique ont une gravité variable, cela est montré par des expériences faites sur des élèves. Les deux exemples suivants montrent les intoxications d'origine staphylococcique et les symptômes observés :

➤ DNISON en 1936 décrit l'intoxication de 94 élèves après consommation d'une crème fouettée contenant de 50 à 70 millions de *Staphylococcus aureus* par gramme ;

- ✓ Deux à quatre heures après le repas, les élèves ont des légères nausées, suivies de crampes abdominales, puis des vomissements importants et contenus pendant une à 8 heures ;
- ✓ Ces vomissements contiennent du sang dans 13% des cas;
- ✓ Une diarrhée, quelquefois hémorragique, accompagne le plus souvent les vomissements ou survient plusieurs heures après;
- ✓ La température est normale ou sub-normale ;
- ✓ le pouls augmenté et l'individu est en état de choc ;
- ✓ La guérison complète s'effectue au bout de un à deux jours dans la plupart des cas.

➤ Une description proche de celle de DENISON est faite par le « Centre for Disease Control » en 1973. Sur 300 personnes consommées d'une salade souillée par des cuisiniers porteurs de staphylocoques, 84 sont hospitalisées. Les symptômes suivants: sont observés quatre à cinq heures après le repas. Par ordre d'importance il y a :

- ✓ des nausées (76%) ;
- ✓ des crampes (71%) ;
- ✓ des vomissements (44%) ;
- ✓ des sueurs froides (25%) ;
- ✓ un collapsus (9%) ;
- ✓ La guérison a été observée dans tous les cas.

IV.1.7. Aliments responsables

ROSSET en 1978 nous donne des chiffres concernant la gravité des intoxication a staphylocoques, le nombre de foyers et les aliments responsables.

D'après le tableau VII, le lait et les produits laitiers sont aussi responsables des intoxications d'origine staphylococciques :

Tableau VII : Aliments et germes responsables des intoxications alimentaires en France (70 -77) (ROSSET, 1978).

Nombre de foyers	Aliments	Staphylocoques
11	Lait et produits laitiers	6
17	Œufs, ovo produits, crème glacée, mayonnaise,	9
27	Pâtisserie	18
68	Charcuterie, viande volaille	21
36	Plats cuisinés	17
4	Conserves industrielles	3

IV.1.8. Symptomatologie

La durée d'incubation est très courte, et les premiers symptômes apparaissent très précocement : deux à quatre heures après le repas toxique.

Le début est brutal et s'accompagne de :

- ✚ douleurs très vives à type de coliques s'étendant à tout l'abdomen.
- ✚ nausées;
- ✚ vomissement du repas infectant;
- ✚ diarrhée très fréquente et profuse;
- ✚ toutefois il a été constaté une forte asthénie accompagnée de crampes musculaires.

L'évolution se fait sans fièvres vers le rétablissement des malades (KOUAR, 1979).

IV.1.9. Diagnostic

C'est un diagnostic de laboratoire, basé sur la mise en évidence de l'entérotoxine staphylococcique. La technique de la recherche comporte deux parties :

➤ **IN VITRO**

- ✓ Culture des staphylocoques entérotoxiques sur plaque de gélose gélatine ;
- ✓ Incubation ;
- ✓ Inondation des plaques par une solution saturée de sulfate d'ammonium, et les colonies suspectes s'entouraient d'une auréole transparente très nette (LESCURT, 1951)

Cette technique est modifiée par proposition d'un milieu qui évite d'immerger les colonies tout en ayant les mêmes résultats.

➤ **IN VIVO**

- ✓ Cela consiste en l'ingestion soit de l'aliment contaminé, soit de la souche, soit de l'entérotoxine purifiée par un animal sensible.
- ✓ Le jeune chat réagissait au bout de 15 à 30 mn lors de l'injection intrapéritonéale d'un cm³ d'entérotoxine par kg de poids vif (LESCURT, 1951).

IV.1.10. Traitement

- ✓ C'est un traitement purement symptomatique basé sur l'utilisation d'un antibiotique adéquat.
- ✓ Traitement des porteurs de staphylocoques (furoncles, angine, etc.....) (KOUAR, 1979).

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

IV.2.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie ubiquiste, commensale de la peau des animaux et de l'homme. Des mammites à *Staphylococcus aureus* entraînent une contamination importante du lait (SUTRA et al., 1998).

Lors de suspicion de TIAC due à *Staphylococcus aureus*, il convient de mettre en évidence la présence de toxines à l'aide de méthodes immunologiques permettant d'identifier les sérotypes (ORLANDINI, 1999).

IV.2.1.1. Caractéristiques

➤ L'entérotoxine

L'entérotoxine est une petite protéine globulaire de 26 000 à 35 000 daltons environ, constituée d'une unique chaîne d'acides aminés (ORLANDINI, 1999). Les entérotoxines sont excrétées, dans le milieu de culture, au cours de la croissance (BOURGEOIS, 1996). Les différents sérotypes sont désignés par des lettres et par ordre décroissant de fréquence, sont :

- ✓ A : responsable de 80 % des TIAC à staphylocoques.
- ✓ D.
- ✓ C1, C2, C3.
- ✓ B.
- ✓ E (BOURGEOIS *et al.*, 1996).

Une même souche de staphylocoque peut produire deux ou trois sérotypes de toxine en même temps (ORLANDINI, 1999).

Résistances des toxines:

D'après SUTRA *et al.*, en 1998, Les toxines sont résistantes à :

- ✚ La pepsine et l'enzyme gastrique si le pH est supérieur à 2.
- ✚ pH allant de 2 à 11.
- ✚ Les enzymes protéolytiques (trypsine, chymotrypsine...).
- ✚ Thermostable, notamment la pasteurisation. Les toxines résistent jusqu'à 30 minutes à 121°C et plusieurs heures entre 80 et 100°C.

➤ La bactérie

Staphylococcus aureus est une bactérie mésophile : elle peut se développer de 6°C à 46°C avec un optimum à 37°C. Cependant la toxinogénèse n'est possible qu'entre 10°C et 45°C. Elle peut se multiplier pour des valeurs de pH comprises entre 4,2 et 9,3, avec un optimum de croissance de 7 à 7,5 (SUTRA *et al.*, 1998).

D'après ORLANDINI en 1999, *Staphylococcus aureus* est résistant à :

- ✓ La congélation.
- ✓ Activité réduite de l'eau.
- ✓ Le lysozyme.
- ✓ NaCl : *Staphylococcus aureus* peut se développer en présence d'une concentration en NaCl allant jusqu'à 10 %.

D'après BOURGEOIS et *al.*, 1996 en 1999, *Staphylococcus aureus* est sensible à :

- ✓ *L'acidité* : pH < 4 pour la croissance et pH < 5 pour la toxinogénèse (GUIRAUD, 2003).
- ✓ *La chaleur* : destruction par la pasteurisation. Cependant certains composants des aliments peuvent protéger *S. aureus* de la chaleur (lipides, protéines, sucres, sels).
- ✓ *Une microflore compétitive* : son développement est alors inhibé.

IV.2.1.2. Facteurs de virulence

La virulence des souches *S. aureus* impliquées dans des infections mammaires est liée à la production d'une grande variété de composés. Ces derniers sont soit associés à la paroi de la bactérie (protéine A, récepteurs pour des glycoprotéines de l'hôte, polysides capsulaires), soit excrétés dans l'environnement de la bactérie (toxine, Coagulase) (SUTRA et *al.*, 1998).

Les facteurs de virulence majeurs de *S. aureus* sont présentés dans le tableau VIII:

Tableau VIII: Les principaux facteurs de virulence de *S. aureus* (SUTRA et al., 1998).

Composés	Caractéristiques	Rôle démontré ou présumé dans la virulence
Composés associés à la paroi Protéine A Polyosides capsulaires Adhésines	Fixation des IgG par leur partie Fc Deux sérotypes prédominants (5 et 8). Forment des microcapsules pouvant masquer la paroi Fixation de la fibronectine ou du collagène.	Résistance à la phagocytose (?) Résistance à la phagocytose Adhésion aux cellules de l'hôte. Colonisation.
Toxiques protéiques Toxines α , β , γ et δ Entérotoxines (A, B, C, D, D, E et H) Exfoliatine Toxine du syndrome du choc toxique (TSST-1)	Action sur la membrane cellulaire. Effet cytotoxique et/ ou cytolytique. Activité hémolytique <i>in vitro</i> Action sur les fibres nerveuses digestives. Superantigènes Rupture des liaisons intercellulaires Superantigènes (action des lymphocytes T).	Lésions cellulaires et tissulaires. Lyse des hématies (?) Action émétique. Etat de choc modéré Découlement des couches superficielles de l'épiderme Etat de choc
Coagulase et enzymes Coagulase Hyaluronidase Lipase, phosphatase, nucléases, protéases	Coagulation du plasma sanguin Hydrolyse de l'acide hyaluronique Hydrolyse de différentes macromolécules biologiques (lipides, acides nucléiques, protéines)	Formation de thrombus Diffusion tissulaire de <i>S. aureus</i> Dégradations tissulaires ou cellulaires. Fourniture de nutriments à <i>S. aureus</i> .

D'après le tableau ci-dessus, les infections staphylococciques peuvent être classées en deux catégories :

- Les pathologies dues à la production par la souche infectante de plusieurs facteurs de virulence, sans que l'un d'entre eux ne puisse seul rendre compte des symptômes observés.
- Les pathologies dont les symptômes sont dus exclusivement ou de manière prépondérante à un seul type de toxine.

IV.2.1.3. Réservoirs

S. aureus est une bactérie fréquemment présente sur les muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud qui constituent les deux principaux réservoirs de ce germe.

➤ **Chez l'homme**

- ✓ Les fosses nasales sont considérées comme le site le plus fréquemment colonisé par *S. aureus*.
- ✓ *S. aureus* a été isolé de la gorge et de différentes zones cutanées chez l'homme comme la face, le cuir chevelu, le périnée et les aisselles.
- ✓ *S. aureus* peut aussi faire l'objet de portage intestinal chez les adultes.
- ✓ La contamination de la peau par *S. aureus* pourrait se faire à partir de deux sources majeures : le nez et l'intestin.

➤ **Chez les animaux domestiques**

- ✓ *S. aureus* a été isolé chez les bovins et les ovins (fosses nasales, muqueuses génitales, peau de la mamelle) (COLWELL et HUQ, 1994).
- ✓ Chez les femelles laitières en production (vache), les mammites dues à *S. aureus* constituent une source importante de contamination du lait de troupeau par cette bactérie (FOURNIER et VILLENEUVE, 1998).
- ✓ *S. aureus* a été isolé de l'environnement naturel, de l'environnement domestique de l'homme et en milieu hospitalier (surface de meubles, draps, couvertures..) et de denrées alimentaires (COLWELL et HUQ, 1994).

IV.2.2. Aliments mis en causes

IV.2.2.1. Mode de contamination des laits et produits laitiers par *Staphylococcus aureus*

La contamination par *Staphylococcus aureus* se produit lors de la préparation des lait et produits laitiers. La source principale est l'homme.

➤ **Animal**

Lors de mammite clinique il y a la contamination du lait et donc par la suite les produits laitiers. Les mammites subcliniques sont indétectables cliniquement, peuvent contaminer le lait. La source de contamination peut être aussi cutanée. Cette contamination est caractérisée de primaire (SUTRA et *al.*, 1998).

➤ **Homme**

L'homme peut être porteur sain de la bactérie, ce qui est de ce fait difficile à détecter. Il peut aussi être victime d'une infection staphylococcique ouverte (plaies infectées, sinusites, angines).

La contamination a lieu aussi lors de la préparation des aliments (par manipulations) car la bactérie est commensale de la peau de l'homme, donc il faut se laver les mains régulièrement (GUIRAUD, 2003).

L'homme n'est pas la source unique de contamination des laits et des produits laitiers par *Staphylococcus aureus*. L'animal ou l'environnement peuvent également être des sources de contamination.

La contamination peut survenir :

- ✓ Lors de la préparation domestique du produit.
- ✓ Lors de la fabrication du produit (par l'intermédiaire d'aérosols respiratoires par manipulation directe) (ORLANDINI, 1999).

➤ **Environnement**

L'aliment contaminé par ambiant, les expectorations, le matériel ou les insectes, doit offrir des conditions favorables à la croissance et à la toxinogénèse pour que l'accident alimentaire se produise (3 à 4 heures à température ambiante par exemple).

Le défaut d'acidification du caillé des fromages peut être à l'origine d'accidents staphylococciques (SUTRA et *al.*, 1998).

IV.2.2.2. Mécanisme de toxinogènèse

La toxinogènèse n'intéresse pas toutes les souches de staphylocoques; celles qui sont susceptibles de produire des toxines possèdent:

- ✓ Une Coagulase
- ✓ Une DNase
- ✓ Une thermonucléase

La majorité des *Staphylococcus aureus* sont entérotoxinogènes, on distingue les protéines de surface (Adhésines) qui permettent la colonisation de l'hôte, des facteurs qui conduisent au développement et à l'extension de l'infection (hyaluronidase, exfoliatine, Coagulase: pus), des toxines spécifiques responsables de syndromes toxiques (entérotoxines) et des enzymes.

La quantité d'entérotoxine avalée (dans le tube digestif) détermine le moment d'apparition des symptômes, ainsi que leur gravité. Il faut 500.000 à 5.000.000 germes/g pour produire suffisamment de toxine et déclencher les troubles (ANONYME 3, 2008).

➤ Stabilité des entérotoxines

Les entérotoxines staphylococciques sont résistantes aux enzymes protéolytiques telles que la trypsine, la chymotrypsine et la papaïne. La pepsine, enzyme gastrique, dégrade les entérotoxines à pH<2 mais est inefficace à pH>2. Les entérotoxines peuvent résister à l'action des sucs digestifs, gastrique ou intestinal (SUTRA et al., 1998).

Elles sont aussi relativement thermostables. Le barème thermique pour une inactivation totale d'une entérotoxine varie en fonction des entérotoxines et dépend des conditions expérimentales : de 5 à 30 minutes à 121 C° à plusieurs heures entre 80 et 100 C°. La stabilité varie aussi en fonction du pH, elle est maximale à pH neutre (SUTRA et al., 1998).

➤ Caractéristiques biochimiques et antigéniques des entérotoxines

A ce jour, huit entérotoxines de *S. aureus* ont été décrites : les entérotoxines A, B, C1, C2, C3, D, E, G et récemment H. Les entérotoxines de *S. aureus* sont des protéines monomérique de faible masse moléculaire (de 26,9 à 29,6 kDa) et dont le pont isoélectrique varie de 5,7 à 8,6. Leurs caractéristiques biochimiques sont présentées dans le tableau IX:

Tableau IX: Propriétés des entérotoxines de *S. aureus* (BERRY et al., 1994).

Caractéristiques	Entérotoxines							
	A	B	C1	C2	C3	D	E	H
Masse moléculaire (kDa)	28,8	28,4	27,5	27,6	26,9	27,3	29,6	27,9
Point isoélectrique	7,3	8,6	8,6	7,0	8,2	7,4	7,0	5,7
Nombre d'acides aminés	233	239	239	239	236	238	230	218
Acide aminé N-terminal C-terminal	Ser Ser	Glu Lys	Glu Gly	Glu Gly	Ser Nd	Ser Lys	Ser Thr	Glu Val
Absorption maximale (λ en nm)	277	277	277	277	277	278	277	Nd
Dose émétique (μ g)	5	5	5	5-10	5-10	20	10	Nd

Sur la base des séquences en acides aminés, les entérotoxines de *S. aureus* peuvent être classées en trois groupes (CHIKAHIRA et HAMADA, 1998):

- ✓ **Le groupe 1:** contient les entérotoxines B, C1, C2 et C3 qui présentent entre 66 et 99 % d'identité de séquences ;
- ✓ **Le groupe 2:** qui regroupe les entérotoxines A et E (84% d'identité de séquence) et D ;
- ✓ **Le groupe 3:** contient uniquement l'entérotoxine H (seulement 38% d'identité avec l'entérotoxine E).

Les gènes qui codent pour les entérotoxines sont dénommés *ent* suivi de la lettre correspondant à l'entérotoxine (par exemple *entA* pour l'entérotoxine A). Les gènes *entA*, *entB*, *entC* sont situés sur le chromosome bactérien. Mai le gène *entA* est porté par un phage lysogénique intégré dans le locus de la toxine β . Le gène *entD* et localisé sur un plasmide de 27,6 kb présent chez toutes les souches productrices d'entérotoxine D (ISLAM et al., 1996). Les souches de *S. aureus* entérotoxigènes peuvent produire un seul ou plusieurs types d'entérotoxines.

➤ Mécanismes d'action des entérotoxines

D'après CHIKAHIRA et HAMADA en 1998, l'action des entérotoxines staphylococciques se situe à deux niveaux :

- ✓ Elles stimuleraient certains récepteurs nerveux des fibres sensibles du nerf vague au niveau de la muqueuse de l'estomac. Leur stimulation activerait le centre du vomissement et entraînerait les vomissements violents observés lors d'intoxication alimentaires dues à *S. aureus*.

- ✓ Les entérotoxines de *S. aureus*, comme la toxine TSST-1 et les toxines erythrogyène et pyrogène de *Streptococcus pyogènes* sont de superantigènes qui sont des molécules capables de stimuler des populations importantes de lymphocytes T. La stimulation des lymphocytes T par un superantigène est différente d'une stimulation des lymphocytes T spécifique d'un antigène qui implique une dégradation de l'antigène par l'APC et la présentation d'un peptide antigénique par la molécule de classe II du CMT au TCR de lymphocyte T. Cette interaction est relativement spécifique car elle concerne des populations de lymphocytes T dont le TCR comporte des types particuliers de chaîne β .

- ✓ Le choc toxique, dû à la TSST-1 et le choc entérique dû au LPS, se traduisent entre autres symptômes par des diarrhées et des vomissements et s'accompagnent d'un taux sanguin très élevé de cytokines.

- ✓ Les entérotoxines même si elles parviennent à franchir la barrière intestinale et à passer dans la circulation sanguine, elles sont rapidement éliminées par les reins si bien qu'une concentration sanguine suffisante ne peut vraisemblablement pas être atteinte.

IV.2.3. Tableau clinique

- ✚ La durée d'incubation est de un à six heures (en moyenne trois heures).

- ✚ Une personne ne développe les symptômes cliniques que si elle a ingéré une dose suffisante de toxine (supérieure à 100 nanogrammes, soit au moins 10^5 cellules de *S. aureus* par gramme d'aliment) (SUTRA et al., 1998).

- ✚ Il est difficile de définir une dose minimale de toxine à ingérer pour déclencher des symptômes cliniques car cela dépend de différents facteurs (GUIRAUD, 2003).

- ✓ Le type de toxine,
- ✓ La quantité d'aliment ingéré,

- ✓ L'état de santé général de la personne,
- ✓ La sensibilité individuelle de la personne.

✚ Les symptômes cliniques reposent sur le caractère émettant de la toxine. Voici les symptômes observés, par ordre décroissant de fréquence (CELINE, 2004):

- ✓ Vomissements spectaculaires qui ne cessent qu'à l'élimination totale de la toxine.
- ✓ Nausées.
- ✓ Diarrhée aqueuse et douleurs abdominales.
- ✓ Vertiges et céphalées.
- ✓ Aucune hyperthermie n'est observée ou celle-ci est légère (38°C).
- ✓ La guérison survient après 24 à 48 heures, sans traitement.
- ✓ Une sensation de fatigue peut persister pendant plusieurs jours.
- ✓ Des complications: déshydratation, crampes musculaires, hypotension, état de choc, collapsus.
- ✓ Le seul traitement à envisager consiste à réhydrater la personne malade.

IV.2.4. Incidence

L'incidence des intoxications dues à *S. aureus* est difficile à connaître avec précision et est très sous-évaluée. Ces intoxications étant de courte durée et d'évolution rapidement favorable, beaucoup de cas isolés ou familiaux ne font pas l'objet de prise en charge médicale et de déclaration (SUTRA et al., 1998).

Par exemple :

- ✓ Au Etats-Unis ; les intoxications représentent presque 4,3% des cas déclarées entre 1973 et 1991 (CHIKAHIRA et HAMADA, 1998).
- ✓ En France ; les intoxications dues à *S. aureus* représentent 6% des cas déclarées entre 1985 et 1992 (BUCHRIESER et al, 1995).

IV.2.5. Mesures de prévention et de contrôle

Les mesures de prévention des intoxications dues à *S. aureus* ont pour but :

- ✓ D'éviter ou de limiter la contamination des aliments par *S. aureus*
- ✓ Si *S. aureus* est présent, il faut empêcher sa multiplication dans l'aliment.

La prévention des intoxications dues à *S. aureus* repose essentiellement sur des mesures d'hygiène de production et de conservation des aliments (réfrigération et respect de la chaîne du froid) (tableau XA, B, C) :

Tableau X A: Mesures de prévention et de contrôle du lait (SUTRA et al., 1998).

ETAPES	MESURES DE PREVENTION ET DE CONTROLE
<p>Production laitière</p>	<p>A la ferme</p>
	<p>Traitement et prévention des mammites en particulier à <i>S. aureus</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Hygiène de la traite ; ✓ Trempage des trayons dans une solution bactéricide après chaque traite ; ✓ Traitement antibiotique intramammaire de tous les animaux au tarissement (élimination des mammites subcliniques et prévention des mammites pendant la période de tarissement) ; ✓ Conservation du la au froid (0 à 4 C°) ; ✓ Respect des mesures d'hygiène de production (locaux, animaux, personnel).
<p>Collecte du Lait</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Utilisation de camions à citerne réfrigérée ; ✓ A l'usine : stockage du lait en cuves réfrigérées ; ✓ Thermisation (si possible) du lait en attente de transformation ; ✓ Respect des mesures d'hygiène de production (locaux, matériels, personnel et instruments en contact avec les denrées).

Tableau X B: Mesures de prévention et de contrôle du lait (SUTRA et al., 1998).

ETAPES	MESURES DE PREVENTION ET DE CONTROLE
Transformation du Lait	<p>➤ <i>Fromage au lait cru :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Contrôle bactériologique régulier du lait ; ✓ Maîtrise des procédés de fabrication (acidification du caillé) ; ✓ Température basse dans les ateliers ; <p>➤ <i>Fromage au lait pasteurisé :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Maîtrise de la pasteurisation. <p>✚ <i>Dans toutes les industries alimentaires</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Hygiène du personnel : lavage régulier des mains, port d'une tenue vestimentaire adaptée et spécifique à chaque atelier (vêtements, sur-bottes, coiffe, masque), ✓ Surveillance de l'état de santé des opérateurs. Attention aux infections cutanées (mains, visage, cou) et aux affections respiratoire, source de contamination ; ✓ Réfrigération des produits finis.
Distribution	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Réfrigération des produits lors du transport, du stockage et de la vente ; ✓ Respect de mesures d'hygiène générale.

Tableau X C: Mesures de prévention et de contrôle du lait (SUTRA et *al.*, 1998).

A La Maison	<ul style="list-style-type: none">✓ Transport des produits sensibles comme le lait cru en sac isotherme du magasin au domicile ;✓ Réfrigération immédiate ;✓ Eviter le contact du lait cru et les autres aliments ;✓ Respect les règles d'hygiène : lavage des mains ;✓ Attention aux plaies cutanées et aux affections respiratoires, sources de contamination ;✓ Traitement thermique adapté du lait cru (ébullition) ;✓ Ne jamais laisser une préparation alimentaire même cuite à température ambiante !
--------------------	--



***PARTIE
EXPERIMENTALE***

Introduction

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

I. Objectifs de l'étude

Les objectifs de cette étude sont:

- ✚ D'abord, la recherche des staphylocoques dans les échantillons de lait prélevé afin de déterminer leur prévalence dans les élevages étudiés.
- ✚ Ensuite d'interpréter les résultats d'un questionnaire pour faire apparaître les causes de contamination du lait et leurs incidence sur la santé publique.
- ✚ Enfin, de proposer des mesures correctives nécessaires pour améliorer la qualité hygiénique du lait bovin.

II. Région de l'étude

II.1. Présentation de la région d'étude

La région d'Alger est située au nord de l'Algérie, sur la mer méditerranée au pied des collines du sahel et au débouché d'une plaine fertile, la Mitidja. Superficie totale 8022 h.a.

Le climat est typiquement méditerranéen, été chaud et humide, hiver doux et humide (400 à 1000 mm de pluie par an).

Les températures moyennes 25C° en août et 12C° en janvier. Superficie agricole totale 47175ha.

La région d'Alger comprend un effectif bovin total de 13940 têtes, ovin de 23000 tête et caprin de 1000 tête.

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

II.2. Présentation des élevages

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

A partir du questionnaire [comporte des questions posées oralement à chaque éleveur au cours d'un entretien] rempli par nous-même. Les résultats sont regroupés dans les tableaux de Les annexes 1 et 2 et les tableaux XI, XII et XIII.

III. Matériel et méthodes

III.1. Durée de l'étude

L'étude s'est étalée du mois de Mai 2008 jusqu'au mois de Décembre 2008.

III.2. Prélèvement des échantillons

III.2.1. Prélèvement

Les prélèvements de lait ont été effectués lors de chaque visite. Tous les quartiers d'une même vache sont prélevés dans un même pot stérile. Le volume prélevé est d'environ 25 millilitres. Il est soumis ensuite à un examen bactériologique basé sur la recherche des Staphylocoques.

III.2.2. Matériel et réactifs de prélèvement (Photos 4)

- ✓ Les flacons (pots) stériles en plastique ;
- ✓ Coton hydrophile et papier absorbant ;
- ✓ Eau oxygénée ;
- ✓ Alcool à 70% ;
- ✓ Savon + eau.

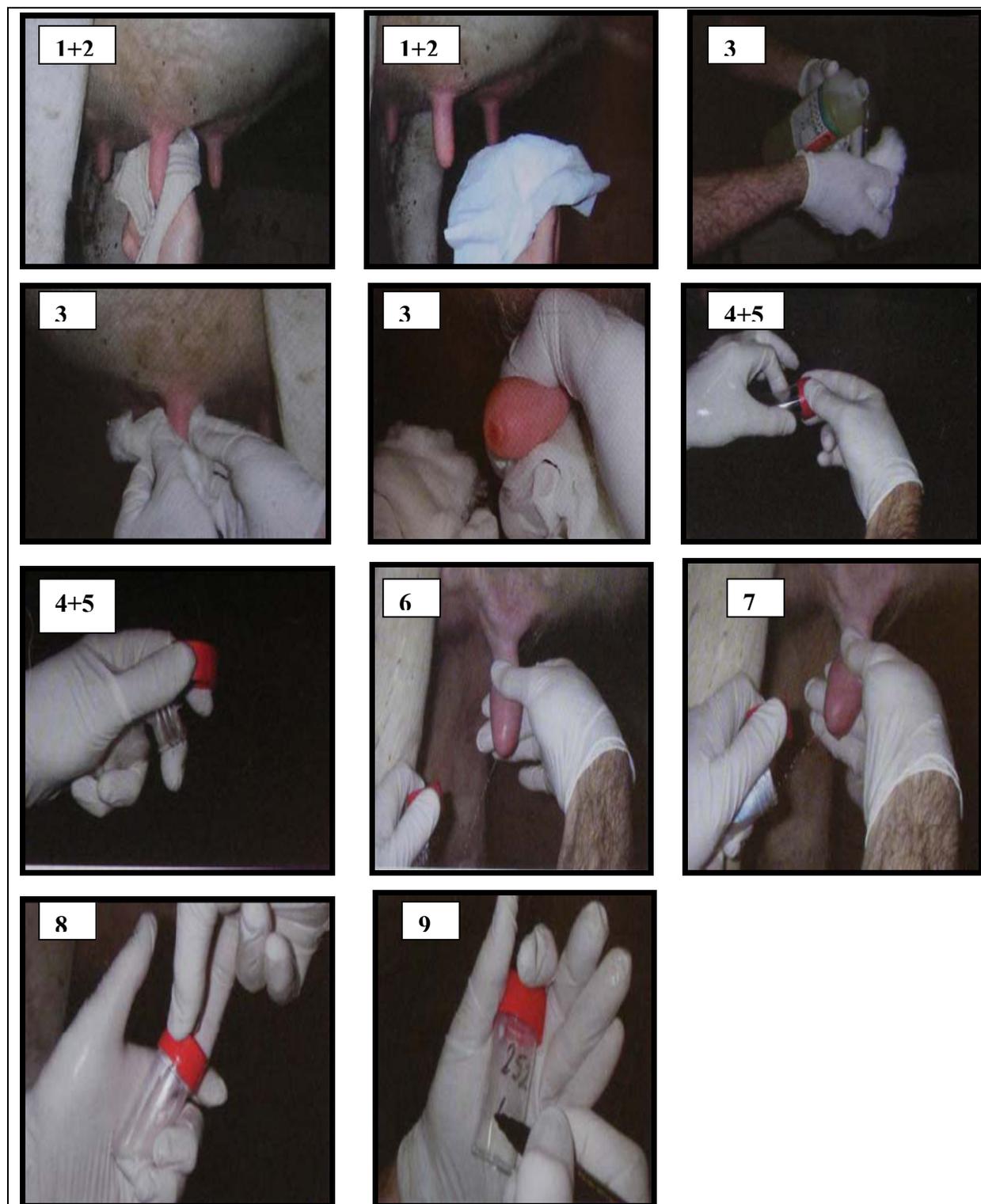


Photos 4: Matériel de prélèvement (Photo personnelle).

III.2.3. Technique de prélèvement

La technique de prélèvement suit les recommandations de MIALOT (Photos 5) (MIALOT, 1983):

1. Lavage des mains.
2. Lavage et séchage des trayons.
3. Désinfection de l'extrémité du trayon avec un coton imbibé d'alcool à 70°.
4. Le flacon à prélèvement est saisi entre le pouce et les doigts de la main gauche puis retourné, le bouchon dirigé vers le bas.
5. On dévisse le bouchon de la main droite, puis flacon et bouchon sont maintenus dans la main gauche, leurs ouvertures dirigées vers le sol afin d'éviter toute contamination.
6. Elimination du premier jet de lait.
7. 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.
8. le flacon est refermé avant d'être totalement redressé.
9. On identifie aussitôt le flacon avec la date, le numéro de la vache.



Photos 5 : Technique de prélèvement du lait pour examen bactériologique.

(D'après FAROULT ; 2006).

III.2.4. Transport des échantillons

Tous les flacons contenant les échantillons de lait prélevés dans la journée sont étiquetés (le numéro de la vache, le numéro du troupeau et la ferme). Ils sont ensuite placés dans une glacière et acheminés vers les laboratoires de l'ENSV et Draa Ben Khedda.

III.2.5. Conservation des échantillons

Les prélèvements sont réfrigérés au laboratoire à +4 °C.

N.B. les étapes utilisées lors de nos prélèvements sont résumées sur la figure 10 ci-dessous

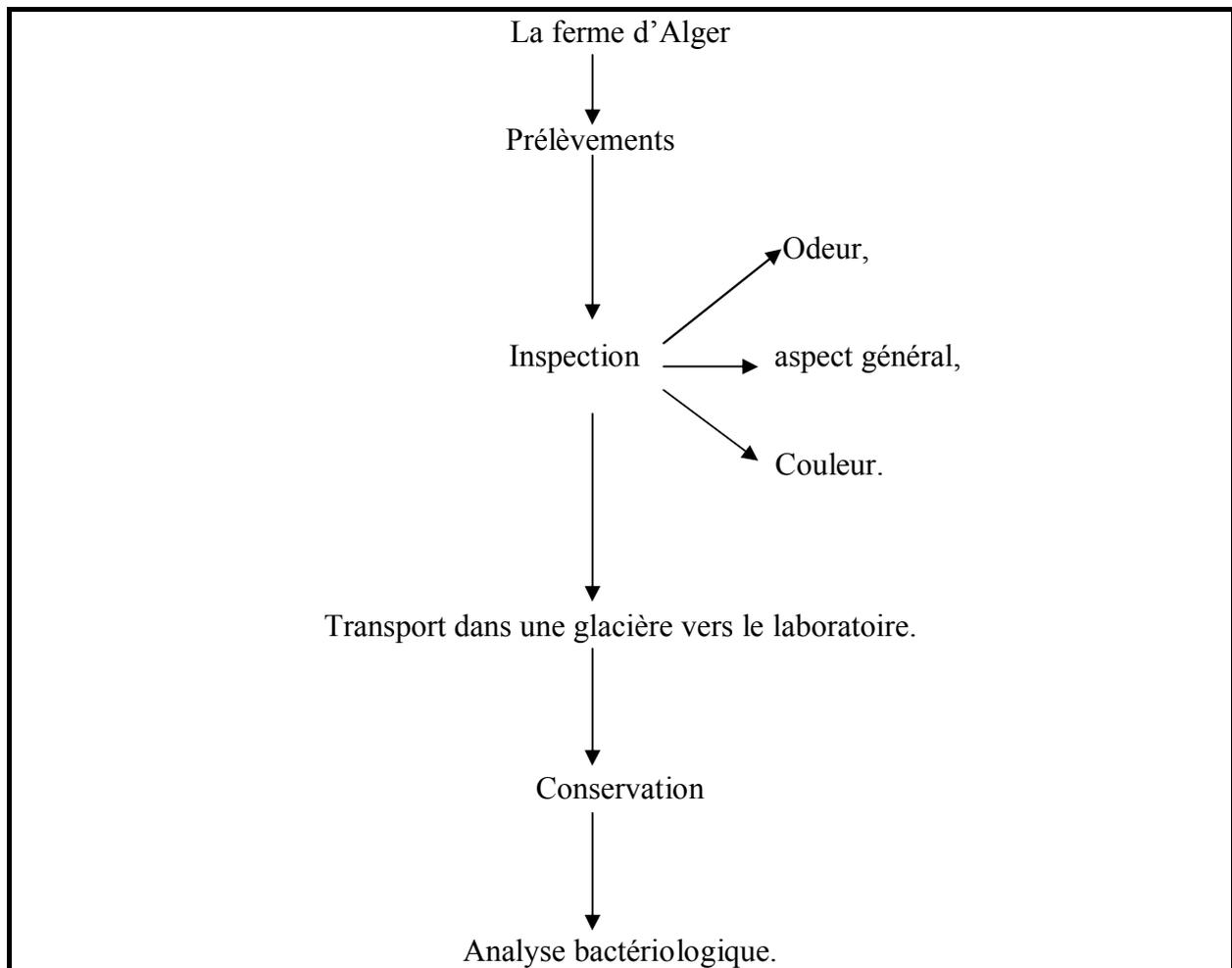


Figure 10 : Les étapes de prélèvement

III.3. Analyses bactériologiques

III.3.1. Matériel utilisé

Matériel usuel de laboratoire (cité en annexe 6).

III.3.2. Milieux de culture et réactifs

III.3.2.1. Milieux de culture

Milieu gélosé de Baird Parker ; Bouillon cœur –cervelle ; Milieu mannitol mobilité.

III.3.2.2. Réactifs

Tellurite de potassium ; Plasma de lapin ; Emulsion d'œuf ; Alcool à 70% ; Violet de gentiane ; Lugol ; Fushine ; Eau oxygénée ; L'eau physiologique stérile ; Eau distillée stérile.

III.3.3. Protocole d'analyse bactériologique (Norme NF V 08-057-1).

➤ **Première étape :**

- ✓ Nous avons utilisé le milieu de Baird Parker.
- ✓ A l'aide d'une pipette stérile, 0,1 ml de lait a été déposé sur le milieu de Baird Parker.
- ✓ Nous avons effectué les dilutions : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , avec l'utilisation d'une nouvelle pipette stérile à chaque dilution.
- ✓ Avec l'étaleur stérile, nous avons étalé le plus rapidement possible, l'échantillon et les dilutions déposées à la surface du milieu de culture.
- ✓ Les boîtes sont laissées sur la pailasse avec couvercle, pendant environ 15 min, afin que l'excès d'humidité disparaisse.
- ✓ Incubation à 37 °C pendant 24 h ± 2 h.

➤ **Deuxième étape :**

- ✓ Après l'incubation, nous avons marqué les colonies caractéristiques, sur le fond des boîtes, avec le marqueur.
- ✓ Les colonies caractéristiques sont noires ou grises, 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 grises, mais ne présentent pas de zones claires.
- ✓ Remettre les boîtes de milieu en incubation à 37 °C pendant 24 h ± 2h.

➤ Troisième étape :

a. Dénombrement des colonies caractéristiques

- ✓ Comptage de façon séparée les colonies caractéristiques, si elles sont présentes.
- ✓ Choisir 3 colonies caractéristiques pour réaliser les épreuves de confirmation, sur chacune des boîtes retenues pour le dénombrement.

b. Coloration de Gram (Photos 6)

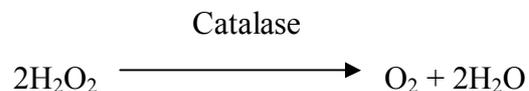
Pour chaque type de colonie, on réalise une coloration de Gram selon la technique classique (voire annexe -7-)



Photos 6: Coloration de Gram (Photo personnelle).

c. Recherche de la catalase (Photo 7)

- ✓ Sur une lame de microscope, nous avons déposé une goutte d'une solution de peroxyde d'hydrogène sur une lame de microscope et, à l'aide d'une tige de verre, nous avons émulsionné 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 selon la réaction chimique suivante :



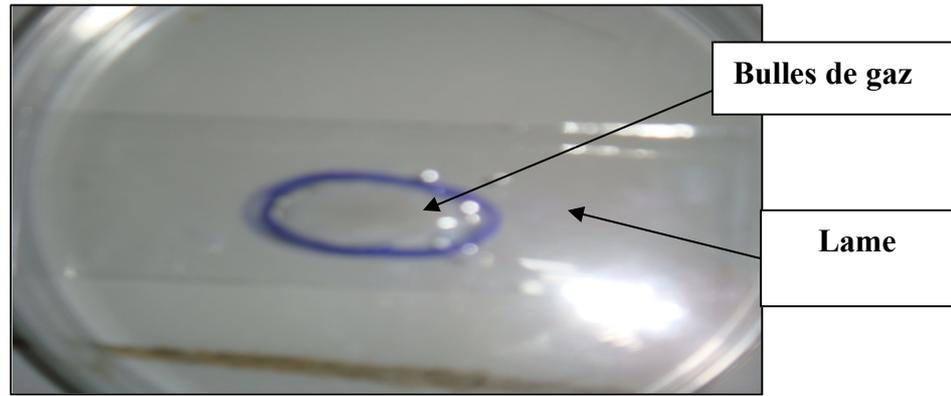


Photo 7: Catalase positive (Photo personnelle).

d. Préparation d'une culture pour la recherche de la coagulase libre (Photos 8)

- ✓ A l'aide d'un fil stérile, nous avons prélevé une de chacune des colonies sélectionnées (colonie catalase positive).
- ✓ Nous avons ensemencé, pour chaque colonie, un tube de bouillon cœur-cerveille.
- ✓ Incubation à 37°C, pendant 20 à 24 h.



Photos 8: Ensemencement de colonies dans le bouillon cœur-cerveille (Photo personnelle).

➤ ***Quatrième étape :***

- ✓ Après le retrait des tubes de l'étuve, nous avons déposé stérilement 0,1 ml de chaque culture dans un tube de plasma de lapin (0,3 ml). À titre de témoin, pour un tube de plasma de lapin, nous avons déposé 0,1 ml de bouillon cœur-cerveille stérile (Photos 10).
- ✓ Incubation à 37 °C pendant 24 h.
- ✓ Incubation : recherche de la coagulase.

✓ La réaction est considérée comme positive (souche coagulase +) lorsque le coagulum représente les 3/4 au moins du volume de liquide initial.



Photos 9: Préparation d plasma de lapin (Photo personnelle).



Photos 10: Ensemencement 0,1 ml de chaque culture de bouillons cœur-cerveille dans un tube de plasma de lapin (0,3 ml) (Photo personnelle).

✚ La méthode utilisée est résumée dans la figure 11:

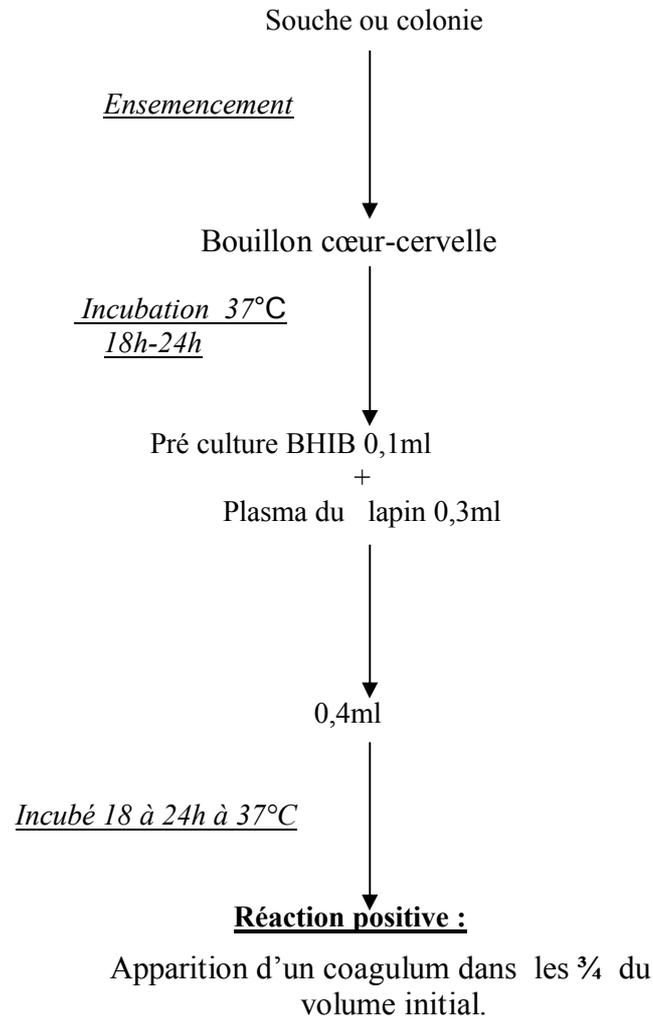


Figure 11 : Les étapes de l'épreuve de la coagulase (Figure personnelle).

N.B : afin de confirmer la présence de *Staphylocoque aureus*, nous avons **recherché la mobilité et la dégradation du mannitol** (Photo 11):

- ✓ le milieu mannitol mobilité est semi-solide.
- ✓ les souches sont ensemencées par piqûre centrale.
- ✓ Nous avons ajouté quelques gouttes d'huile de vaseline.
- ✓ Incubation 24 heures à 37°C.
- ✚ la souche est mobile lors de la croissance de part et d'autre de la piqûre centrale.
- ✚ la souche dégrade le mannitol lors de modification de l'indicateur du rouge au jaune.

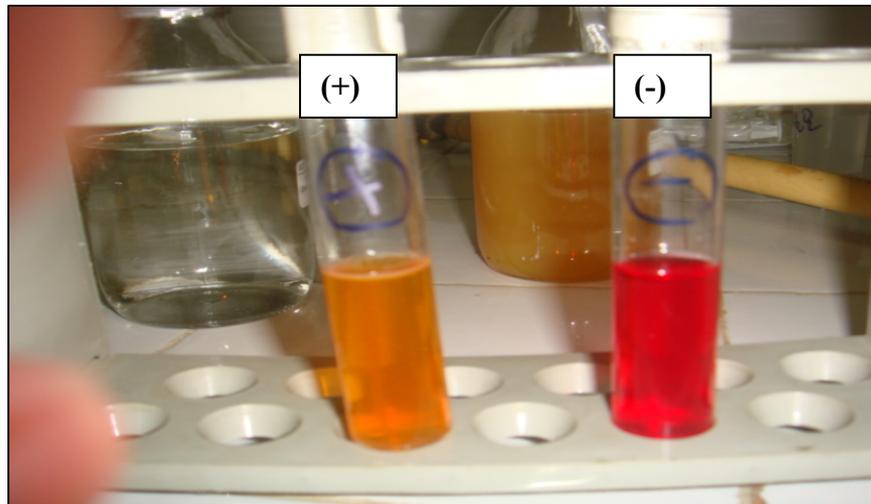


Photo 11: Résultats positifs et négatifs de la recherche de la mobilité et la dégradation du mannitol (Photo personnelle).

- **Cinquième étape : Dénombrement des *Staphylococcus aureus* par comptage des colonies à 37C° (Norme NF V 08-057-1).**

Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* se fait par comptage des colonies caractéristiques.

🍷 Les colonies caractéristiques sont des colonies :

- ✓ Noirâtres,
- ✓ Brillantes,
- ✓ Entourées d'une zone transparente,
- ✓ Convexes.

- ❖ **Calcul du nombre *N* de colonies caractéristiques identifiées présentes dans la prise d'essai (lait de la vache) :**

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

$$N = a * 10$$

- ✓ **a** : est le nombre de colonies des *Staphylocoques aureus*.
- ✓ **10** : car le volume étalé sur chaque boîte = 0,1ml.

- ✚ Si le nombre de colonies caractéristiques dans la boîte est supérieur ou égale à 15 (colonies), on utilise la formule suivante :

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

- ✓ **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} .

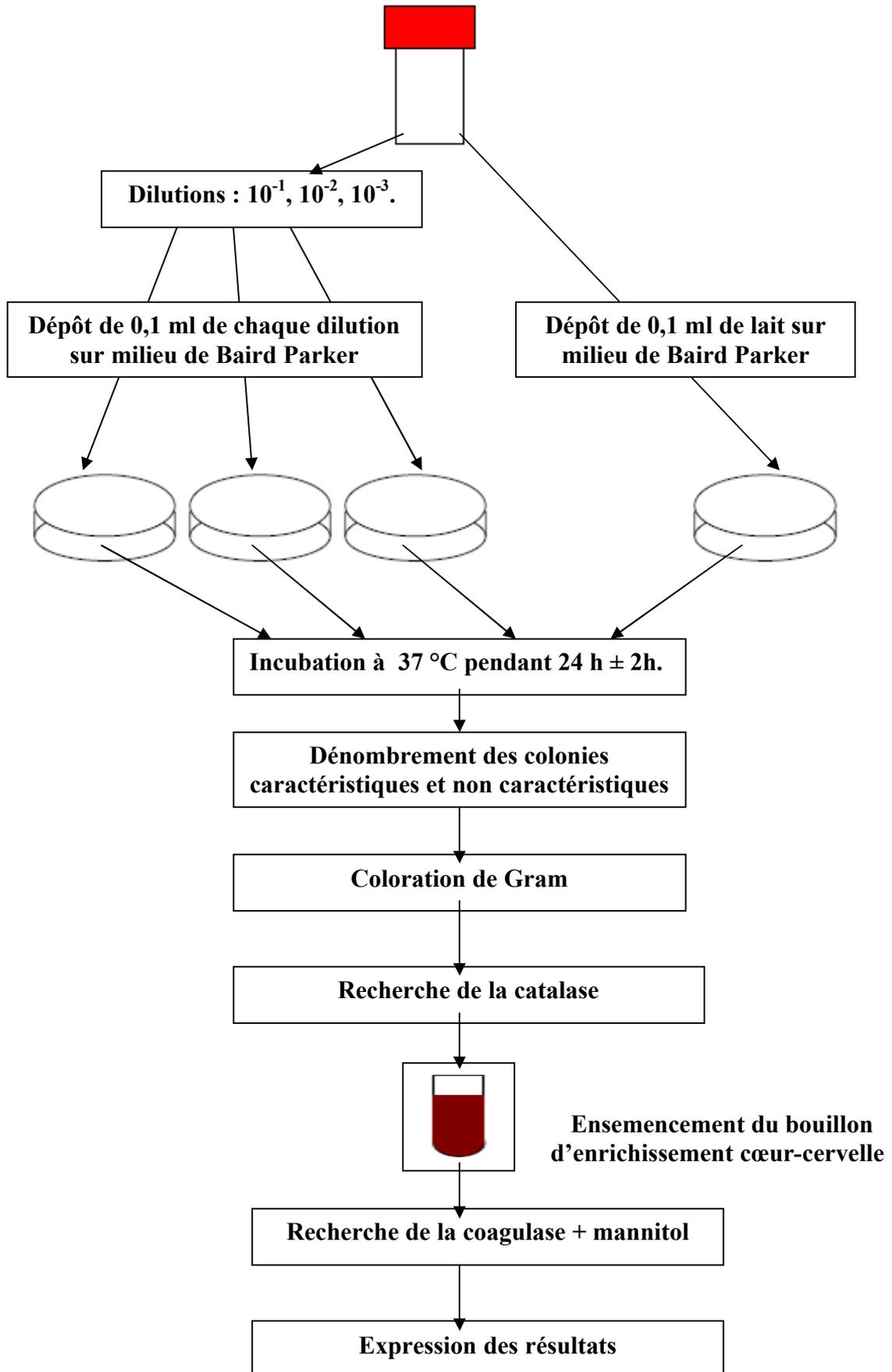


Figure 12: Traitement du prélèvement au laboratoire (Figure personnelle).

IV. Résultats bactériologiques et interprétation

IV.1. Résultats d'enquête

IV.1.1. Caractéristiques des troupeaux étudiés

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

Tableau XI : Caractéristiques des troupeaux étudiés

N° d'exploitation		production moyenne par vache et par lactation (l/j)	quota de lait produit (l/j)	Effectifs prélevés	Robes	Races
Rég.	Fer.					
I	A	14	70	5	PN+PR	Hol+Mob
	B	13	131	10	PN+PR	Hol+Mob
II	A	12	221	18	PN+PR	Hol+Mob
	B	16	180	11	PN+PR	Hol+Mob
	C	17	176	10	PN+PR	Hol+Mob
	D	15	380	24	PN+PR	Hol+Mob
III	A	12	76	6	PN+PR	Hol+Mob
	B	16	257	16	PN+PR	Hol+Mob
IV	A	14	203	14	PN+PR	Hol+Mob
	B	13	204	15	PN+PR	Hol+Mob
V		10	350	32	PN+PR	Hol+Mob
VI		22	390	17	PN+PR	Hol+Mob
VII		11	150	15	PN+PR	Hol+Mob
VIII		11	110	10	PN+PR	Hol+Mob

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

Rég. : Région.

Fer. : Ferme.

Hol. : Holstein.

Mob. : Montbéliard.

IV.1.2. Conduite des troupeaux

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

Tableau XII : Caractéristiques de conduites de troupeaux étudiés

N° d'exploitation		Répartition des vêlages	Age moyen au vêlage. (ans)	Type de stabulation	La traite		La ration alimentaire des vaches en lactation
Rég.	Fer				Salle de traite	Nombre de traite /j	
I	A	Sur toute l'année	2,5	Semi entravé	Présence	2 fois/j	Trèfle +paille +Concentrés +herbe.
	B	//	2,0	//	Absence	//	Paille+foins+trèfle.
II	A	//	3,0	//	Absence	//	Paille + foins + herbe + grain de blé.
	B	//	3,0	//	Absence	//	Paille + foins + herbe.
	C	//	2,5	//	Absence	//	Paille + herbe.
	D	//	3,0	//	Absence	//	Paille + foins + herbe.
III	A	//	2,5	//	Absence	//	Paille + foins + herbe + grain de blé.
	B	//	3,0	//	Absence	//	Paille+foins+herbe.
IV	A	//	2,5	//	Présence	//	Paille + herbe.
	B	//	2,5	//	Absence	//	Foins + paille + Concentrés + herbe.
V		//	3,0	//	Présence	//	Trèfle + paille + Concentrés + herbe +aliment (CMV, Mais, Soja ...).
VI		//	2,0	//	Présence	//	//
VII		//	2,5	//	Absence	//	Trèfle +paille +Concentrés +herbe.
VIII		//	2,5	//	Absence	//	Foins + paille + Concentrés + herbe + grain de blé.

IV.1.3. Hygiène des troupeaux

Les conditions hygiéniques des troupeaux étudiés sont représentées dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Informations sur l'hygiène des troupeaux étudiés

N° d'exploitation		Mamelle		Machine à traire		Nature de la litière	
		Hygiène	Présence des lésions	Lavage	Désinfection	Epaisseur	Fréquence de changement
Rég.	Fer.						
I	A	Lavage avec l'eau +savon+eau de javel.	Non.	Lavage avec l'eau +savon+eau de javel : 2fois/J.	Oui.	< 6cm.	2 fois par jour.
	B	Lavage avec l'eau.	Oui, sur la plupart.	Lavage avec l'eau +eau de javel : 1 fois/J.	Non.	Absence.	/
II	A	≡I-B.	≡I-B.	≡I-B.	Non.	< 10cm.	1 fois par jour.
	B	≡I-B.	Oui (moyenne).	/	Non.	Absence.	/
	C	≡I-A.	≡II-B.	≡I-A.	Non.	Absence.	/
	D	≡I-B.	≡II-B.	≡I-A.	Non.	Absence.	/
III	A	≡I-B.	≡II-B.	/	Non.	Absence.	/
	B	≡I-B.	≡II-B.	/	Non.	Absence.	/
IV	A	≡I-A + désinfection.	≡I-A.	Lavage avec l'eau : 1 fois/J.	Oui.	< 8cm.	1 fois par jour.
	B	≡I-B.	Presque absence.	/	Non.	< 7cm.	1 fois par jour.
V		≡I-A + désinfection.	≡I-A.	≡I-A.	Oui.	< 4cm.	2 fois par jour.
VI		≡I-A + désinfection.	Presque absence.	≡I-A.	Oui.	< 6cm.	2 fois par jour.
VII		≡I-B.	≡I-B.	Lavage avec l'eau +savon : 1 fois/J.	Non.	< 6cm.	1 fois par jour.
VIII		≡I-B.	Presque absence.	/	Non.	Absence.	/

NB : ≡ → Identique.

IV.2. Résultats bactériologiques

- ✚ Dans notre étude ; nous avons évalué :
 - ☐ La contamination du lait par les staphylocoques (recherche des cas positifs).
 - ☐ Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* par comptage des colonies a 37C°.
- ✚ Les variables étudiées sont les suivantes :

L'origine des prélèvements, l'âge ou nombre de lactations, le stade de lactation, le niveau de production du lait, la race, la forme des trayons, la présence ou l'absence de la litière et de la salle de la traite et la modalité de la traite.
- ✚ Par ailleurs, de nombreuses difficultés d'ordre technique notamment le manque de matériel consommable ne nous ont pas permis de mener notre travail comme nous l'aurions souhaité.

IV.2.1. Résultats globaux

Pendant les 6 mois de l'enquête, 203 prélèvements ont été effectués et ont fait l'objet d'un examen bactériologique pour la recherche des staphylocoques.

Sur ces 203 prélèvements nous comptons :

- ✓ 142 (soit ; 69,96%) prélèvements pour lesquels aucune culture n'a été obtenue.
- ✓ 61 (soit ; 30,04%) prélèvements pour lesquels la recherche des staphylocoques est positive.

N.B. Ces résultats bactériologiques sont résumés dans les tableaux A à F (cité en annexe -4-).

IV.2.2. Etude microscopique

Etat frais : nous avons observé des cocci en grappes de raisin.

Coloration de Gram : Les Staphylocoques sont des coques Gram positif.

IV.2.3. Etude descriptive et analytique

IV.2.3.1. Taux de contamination

Le taux de positivité de la recherche des staphylocoques dans le lait des vaches prélevées est de 30,04%, alors que la négativité est de 69,96% (tableau XIV et figure 13).

Tableau XIV: Pourcentage de la prévalence dans les fermes étudiées

Prélèvement	Nombre	%
Résultats positifs	61	<u>30,04</u>
Résultats négatifs	142	69,96
Total	203	100

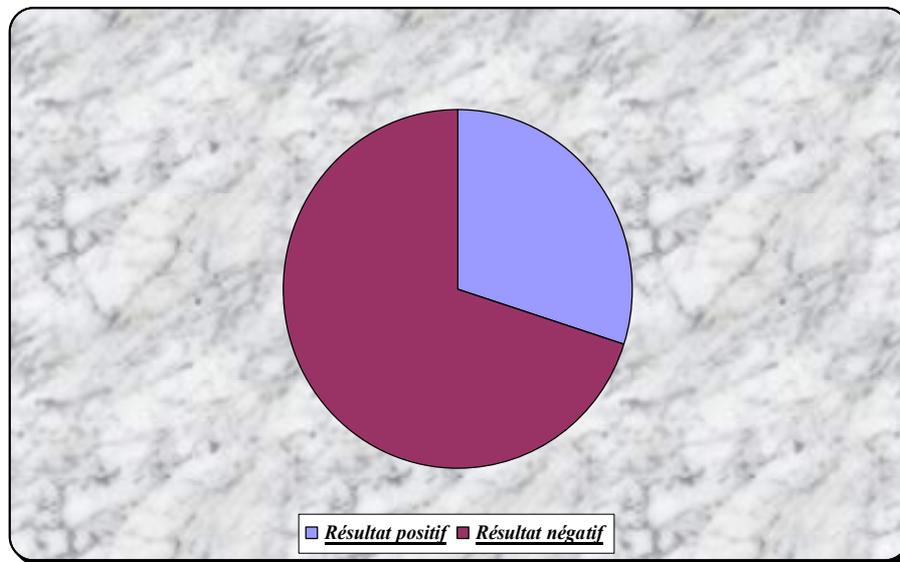


Figure 13: Prévalence de staphylocoques dans les fermes étudiées.

- Pour 30,04% (soit 61/203) de prélèvements, le lait est contaminé par les staphylocoques.
- Pour 69,96% (soit 142/203) de prélèvements du lait, le résultat de la recherche des staphylocoques est négatif.

IV.2.3.2. Répartition des résultats suivant l'origine des prélèvements

Dans notre étude, nous avons effectué des analyses bactériologiques sur des échantillons de lait prélevé dans les 14 fermes, et les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XV ci-dessous:

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

N° d'exploitation		Nombre de prélèvements (+)	Nombre de prélèvements (-)	Total
Rég.	Fer.			
I	A	0	5	5
	B	2		
II	A	10	8	18
	B	2	9	11
	C	3	7	10
	D	10	14	24
III	A	1	5	6
	B	7	9	16
IV	A	5	9	14
	B	6	9	15
V		3	29	32
VI		4	13	17
VII		5	10	15
VIII		3	7	10
Total		61	142	203

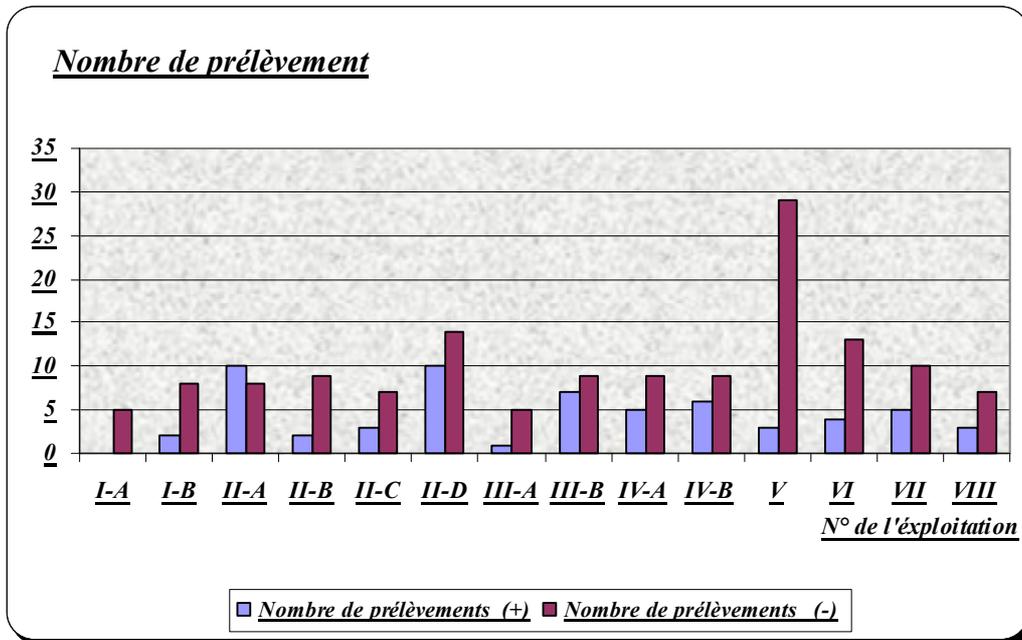


Figure 14: Répartition des résultats selon les fermes.

- Le taux de positivité le plus élevé est observé dans l'exploitation N° II-A (10/18). Alors que le taux le plus faible est observé au niveau de l'exploitation N° V (3/32).
- Le taux de positivité est nul dans l'exploitation N° I-A (0/5).

IV.2.3.3. Répartition des résultats selon l'âge

D'après les tableaux et la figure ci-dessous, la fréquence la plus élevée est observée dans la tranche d'âge des 7-15 ans avec un pic pour les 13-15 ans.

Tableau XVI -A: Répartition des résultats

selon l'âge

L'âge (ans)	Nombre de prélèvements Positifs (+)	Nombre de prélèvements Négatifs (-)	Total
[1 – 3 [0	2	2
[3 – 5 [14	50	64
[5 – 7 [11	49	60
[7 – 9[16	19	35
[9- 11[13	15	28
[11-13[6	7	13
[13-15[1	0	1

Tableau XVI-B: Pourcentage des

résultats selon l'âge

L'âge (ans)	% (+)	% (-)	Total (%)
[1 – 3 [0,00	100,0	100
[3 – 5 [21,87	78,13	100
[5 – 7 [18,33	81,67	100
[7 – 9[45,71	54,29	100
[9- 11[46,43	53,57	100
[11-13[46,15	53,85	100
[13-15[100,0	0,00	100

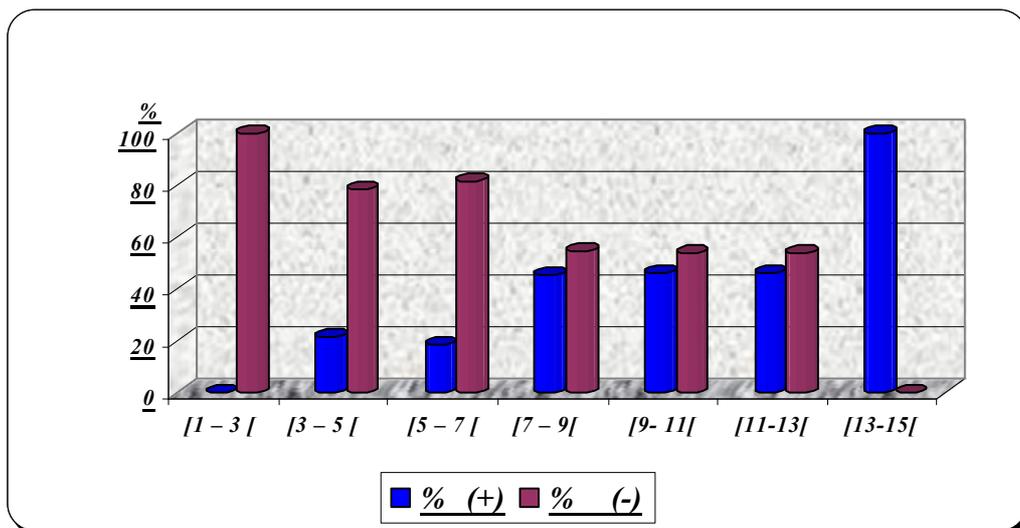


Figure 15: Répartition des résultats par groupe d'âge.

IV.2.3.4. Répartition des résultats selon le niveau de production du lait

D'après notre étude, le nombre le plus élevé de prélèvements positifs est observé dans la tranche de production lactée de 30 à 40 litres par jour (40,00%, soit 4/10), ensuite nous avons observé un taux de 38,78% dans celle qui est située entre 20 et 30 litre par jour. Le taux de positivité augmente avec le niveau de la production lactée (tableaux XVII -A et XVII-B et la figure 16 ci-dessous).

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

La production lactée (l/j).	Nombre de prélèvements (+)	Nombre de prélèvements (-)	Σ
[0- 10[15	38	53
[10-20[23	68	91
[20-30[19	30	49
[30-40[4	6	10

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

La production lactée (l/j).	% (+)	% (-)	Σ (%)
[0- 10[28,30	71,70	100
[10-20[25,27	74,73	100
[20-30[38,78	61,22	100
[30-40[40,00	60,00	100

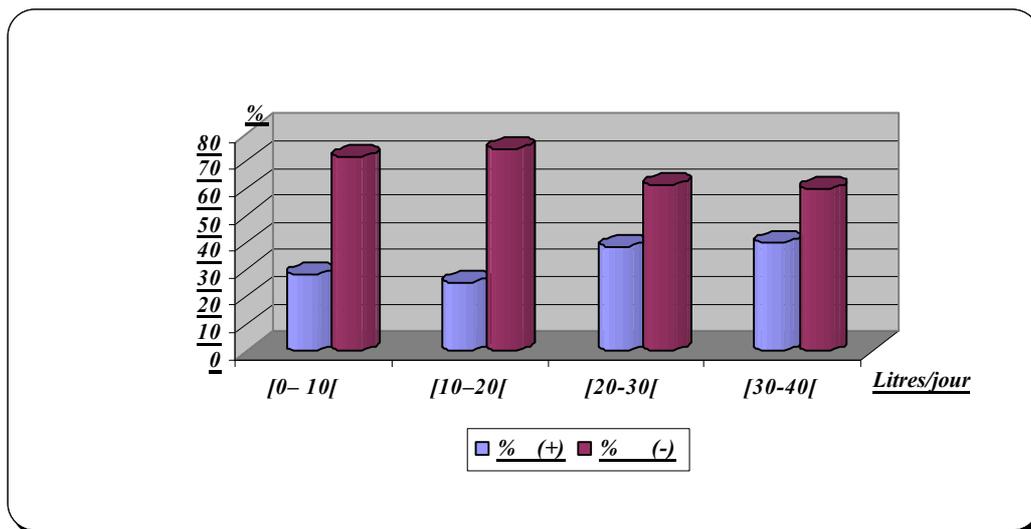


Figure 16: Fréquence des résultats selon la production lactée.

Σ = total.

IV.2.3.5. Répartition des résultats selon le nombre de gestation

Le taux de contamination du lait par les staphylocoques augmente avec le nombre de gestations (tableaux XVIII-A et XVIII-B et figure ci-dessous) :

- ✓ Pour les vaches dont le nombre de gestations est compris entre [9 - 11[, le taux de contamination du lait est de 55,56% (soit 5/9).
- ✓ Le taux de contamination le plus faible (18,92% soit 14/74) est observé dans le lait des vaches dont le nombre de gestations est compris entre [1 - 3[.
- ✓ Le taux de contamination augmente avec le nombre de gestation.

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

Nombre de gestations	Nombre de prélèvements (+)	Nombre de prélèvements (-)	Σ
[1 – 3[14	60	74
[3 – 5[13	43	56
[5 – 7[18	21	39
[7 – 9[11	14	25
[9 -11[5	4	9

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

Nombre de gestations	% (+)	% (-)	Σ (%)
[1 – 3[18,92	81,08	100
[3 – 5[23,21	76,79	100
[5 – 7[46,15	53,79	100
[7 – 9[44,00	56,00	100
[9 -11[55,56	44,44	100

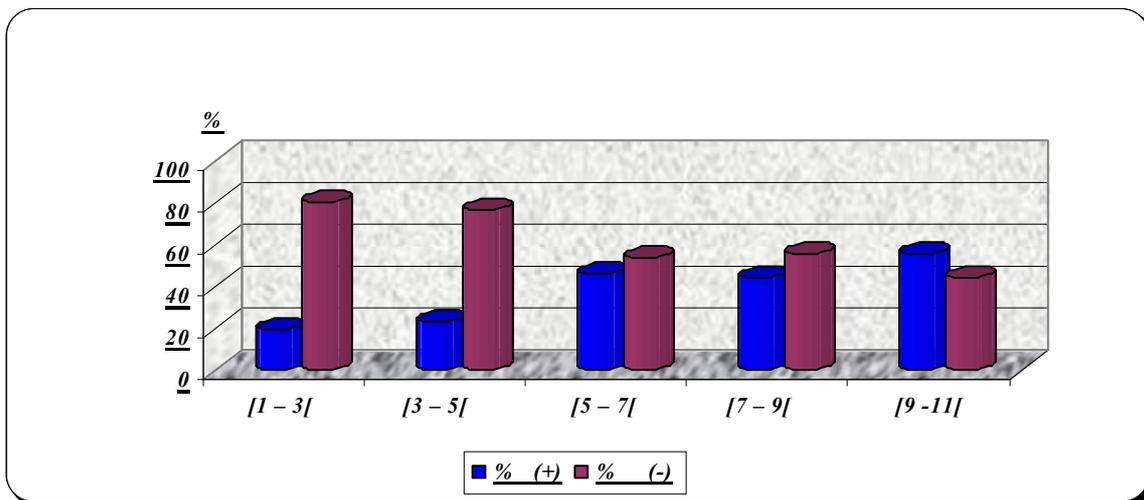


Figure 17: Fréquence des résultats selon le nombre de gestations.

IV.2.3.6. Répartition de la prévalence selon le stade de lactation

Le taux le plus élevé de contamination par les staphylocoques est observé dans le lait des vaches en fin de lactation : 54,09%, alors que le plus faible taux de contamination est observé dans le lait des vaches en pic de lactation : 13,13% (tableau XIX et figure 18 ci-dessous).

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

Stade de lactation	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Début	20	32,78
Pic	8	13,13
Fin	33	54,09
Total	61	100

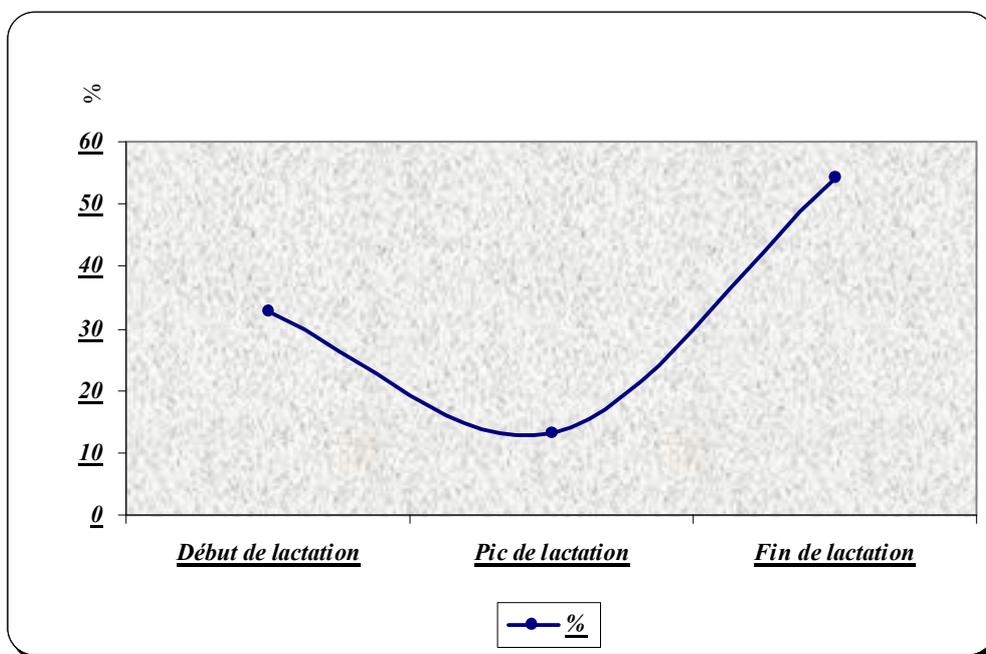


Figure 18: Répartition de la prévalence selon le stade de lactation.

IV.2.3.7. Répartition de la prévalence selon la race

Selon nos résultats (tableau XX et la figure 19 ci-dessous), on observe que le lait des vaches « pie rouge » est plus contaminé (50,82%) par rapport au lait des vaches « pie noire » (49,18%).

Tableau XX: Répartition de la prévalence selon la race

La race	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
PN/ Hol	30	49,18
PR/ Mob	31	50,82
Total	61	100

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

Mob. : Montbéliard.

Hol. : Holstein.

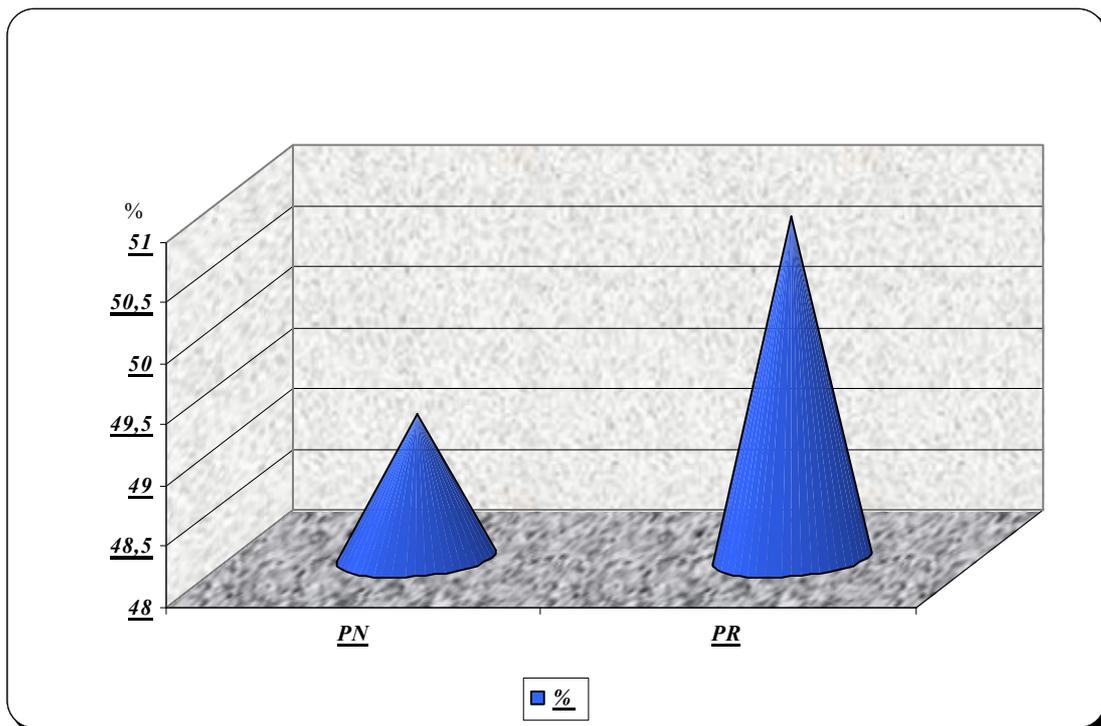


Figure 19: Fréquence de la prévalence selon la robe.

IV.2.3.8. Répartition de la prévalence selon la forme des trayons

Le taux le plus élevé de la contamination (57,38% soit 35/61) est observé dans le lait provenant à partir des vaches dont les trayons soit en forme cylindrique, alors que 42,62% soit 26/61 de contamination, est observé dans le lait de vaches dont les trayons en forme d'entonnoir (tableau XXI et figure 20 ci-dessous).

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

la forme des trayons	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Les trayons en forme d'entonnoir	26	42,62
Les trayons cylindriques	35	57,38
Total	61	100

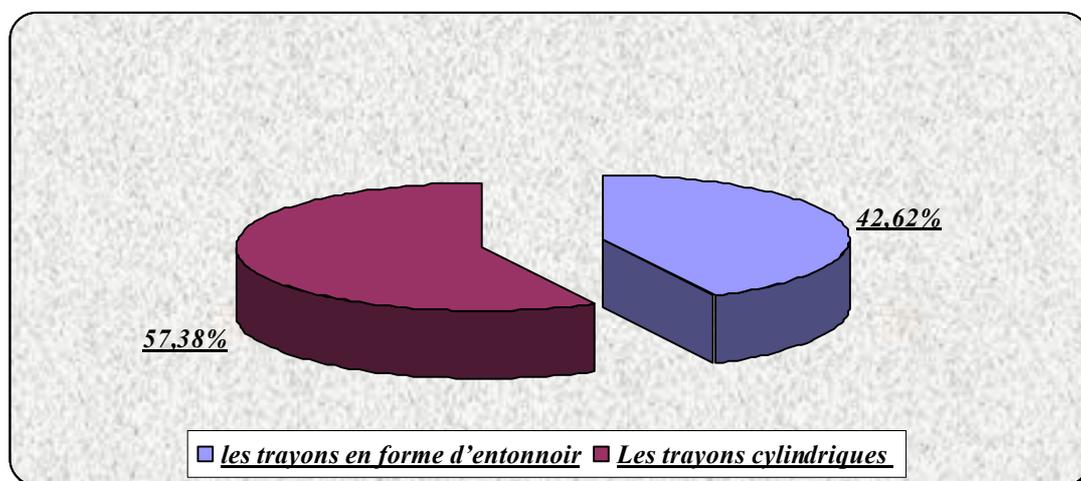


Figure 20: Pourcentage de la prévalence en fonction de la forme des trayons.

IV.2.3.9. Répartition de la prévalence selon le mode de la traite

Un pic de contamination (68,85%) est observé dans le lait de vache ou la traite est effectuée mécaniquement, alors que dans le cas de la traite manuelle le taux de contamination est de 31,15% (tableau XXII et figure 21 ci-dessous).

Tableau XXII: Pourcentage de la positivité selon le mode de la traite

Mode de la traite	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Traite mécanique	42	68,85
Traite manuelle	19	31,15
Total	61	100

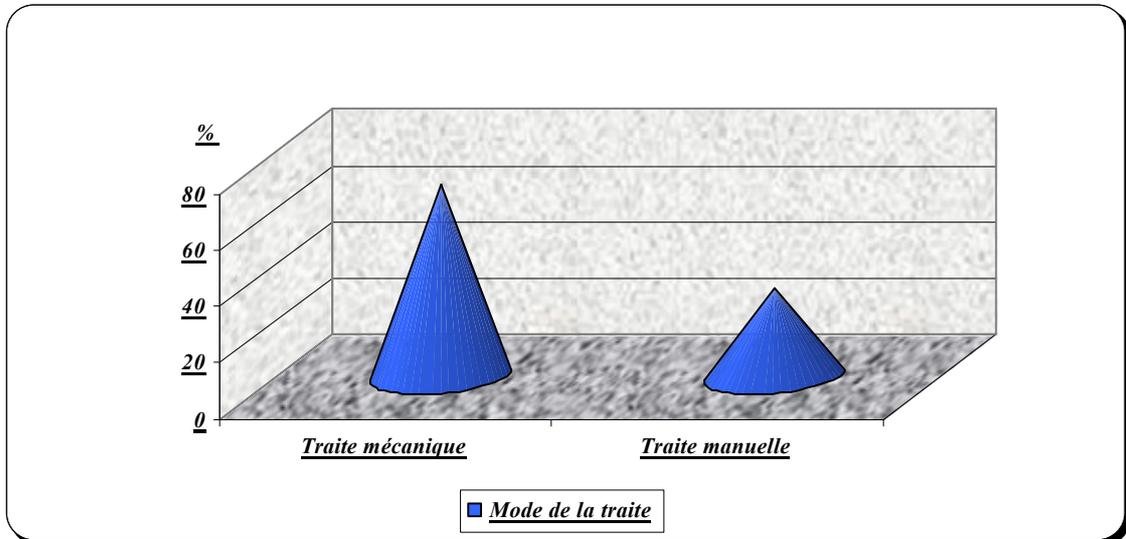


Figure 21: Fréquence de la positivité selon le mode de la traite.

IV.2.3.10. Répartition de la prévalence selon la présence ou l'absence de la salle de traite

Le taux de contamination du lait dans le cas de l'absence de la salle de traite est plus important (80,33% ; 49/61) par rapport à la présence de la salle de traite (19,67% ; 12/61) (tableau XXIII et figure 22 ci-dessous).

Tableau XXIII: Pourcentage de la positivité selon la présence ou l'absence de la salle de traite

Salle de traite	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Présence	12	19,67
Absence	49	80,33
Total	61	100

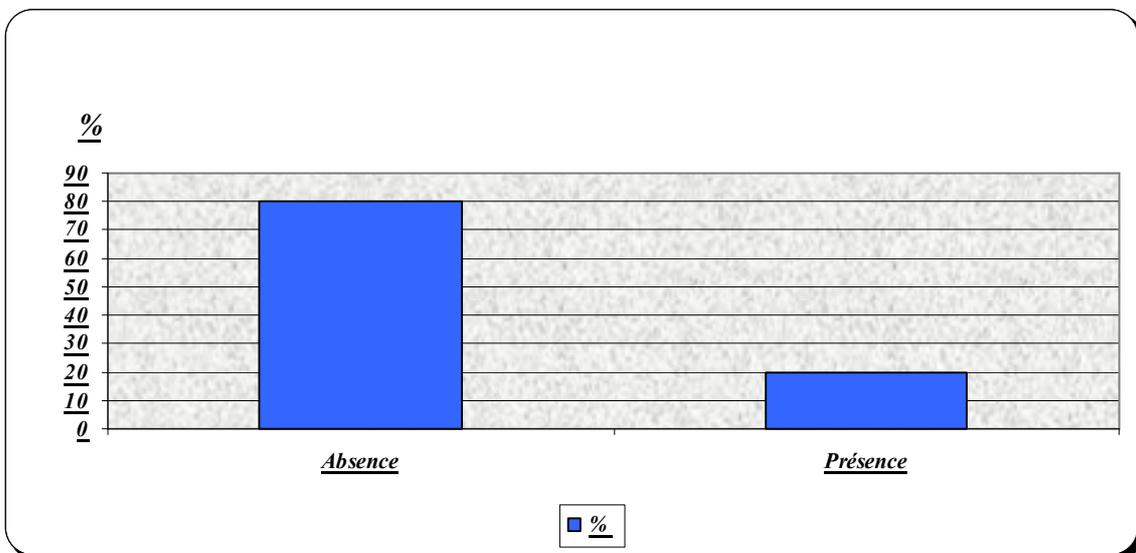


Figure 22: Répartition de la prévalence selon la présence ou l'absence de la salle de traite.

IV.2.3.11. Répartition de la prévalence selon la présence ou l'absence de la litière

La fréquence de contamination la plus élevée est observée dans le cas de la présence de la litière : 54,10% (33/61). Elle augmente avec l'épaisseur de celle-ci (tableau XXIV et figure 23 ci-dessous). .

Tableau XXIV: Pourcentage de la positivité selon la présence ou l'absence de la litière

Litière	Nombre de prélèvements positifs (+)	%
Présence	33	54,10
Absence	28	45,90
Total	61	100

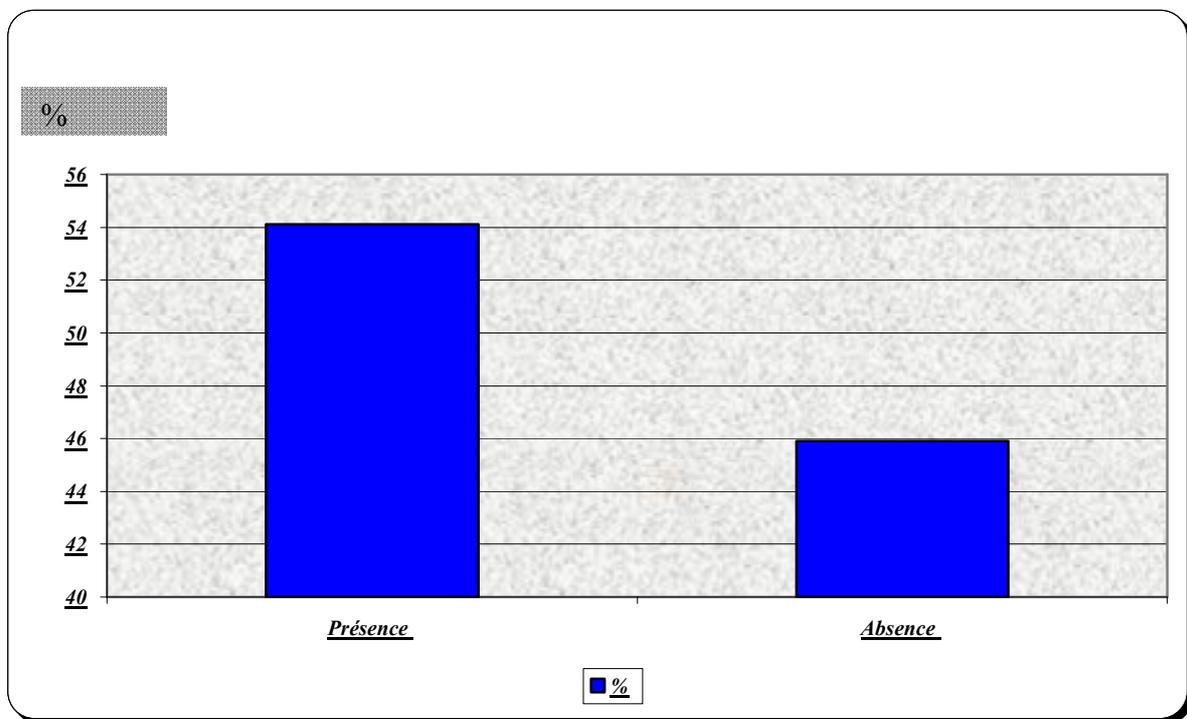


Figure 23: Pourcentage de la positivité selon la présence ou l'absence de la litière.

IV.2.3.12. Comparaison entre les facteurs étudiés sur le taux de contamination du lait bovin par les staphylocoques dans les exploitations de l'étude

Afin de faire une comparaison entre les facteurs, nous avons appliqué le test d'indépendance au seuil de 5%.

Nous avons utilisé aussi le logiciel Microsoft Office Excel 2003.

a). Relation entre le niveau de la production lactée et l'âge sur la contamination du lait bovin par les staphylocoques

Tableau XXV: Répartition des prélèvements contaminés par production lactée et par âge

Prod-lactée Age (ans) (I/j)	[0 - 20[[20 - 40[Σ
[1 - 9[31 26,16	11 15,84	42
[9 - 17[7 11,84	12 7,16	19
Σ	38	23	61

H₀: il y a une indépendance entre l'âge et le niveau de la production lactée sur la contamination de lait.

$$X^2 = 7,63 ; \quad X^2_{\alpha} = 3,84 ; (\alpha=0,05 \text{ et } \text{ddl}=1).$$

$$X^2 > X^2_{\alpha} \rightarrow H_0 : \text{rejetée.}$$

Conclusion : ces résultats de contamination permettent d'affirmer qu'il y a une relation entre l'âge et le niveau de la production lactée concernant la contamination du lait bovin par les staphylocoques.

b). Relation entre la robe et le niveau de la production lactée sur la contamination du lait bovin par les staphylocoques

Tableau XXVI: Répartition des prélèvements contaminés par robe et par production lactée

Robe \ Prod-lactée	PN	PR	Σ
[0 - 20[18 16,69	20 19,31	38
[20 - 40[12 11,31	11 11,69	23
Σ	30	31	61

H_0 : il y a une indépendance entre la robe et le niveau de la production lactée sur la contamination de lait.

$$X^2 = 0,2 ; \quad X^2_{\alpha} = 3,84 ; (\alpha=0,05 \text{ et } ddl=1).$$

$X^2 < X^2_{\alpha} \rightarrow H_0$: acceptée.

Conclusion : ces résultats de contamination ne permettent pas d'affirmer que la robe et le niveau de la production lactée ont la même influence sur la contamination du lait bovin par les staphylocoques.

c). Relation entre la robe et la forme des trayons sur la contamination du lait bovin par les staphylocoques

Tableau XXVII: Répartition des prélèvements contaminés par robe et par forme des trayons

Robe \ Forme-trayons	PN	PR	Σ
Cylindriques	24 14,74	5 14,26	29
Entonnoirs	7 16,26	25 15,74	32
Σ	31	30	61

H₀ : il n'existe pas une relation entre la robe et la forme des trayons sur la contamination du lait.

$$X^2 = 22,54 ; \quad X^2_{\alpha} = 3,84 ; (\alpha=0,05 \text{ et } ddl=1).$$

$X^2 > X^2_{\alpha} \rightarrow H_0$: rejetée.

Conclusion : ces résultats de contamination permettent d'affirmer l'existence d'une relation entre la robe et la forme des trayons sur la contamination du lait par les staphylocoques.

d). Relation entre l'âge et le nombre de gestation sur la contamination du lait bovin par les staphylocoques

Tableau XXIII: Répartition des prélèvements contaminés par rapport à l'âge et par rapport au nombre de gestation

Nmb-gést Age (ans)	[1 - 7[[7 - 13[Σ
[1 - 9[36 28,23	5 12,77	41
[9 - 17[6 13,77	14 6,23	20
Σ	42	19	61

H₀ : les répartitions observés (nombre de prélèvements contaminés) diffèrent significativement par rapport au taux de contamination du lait.

$$X^2 = 20,94 ; \quad X^2_{\alpha} = 3,84 ; (\alpha=0,05 \text{ et } ddl=1).$$

$X^2 > X^2_{\alpha} \rightarrow H_0$: rejetée.

Conclusion : ces résultats de contamination permettent d'affirmer que les deux facteurs ont une influence significative sur la contamination du lait par les staphylocoques.

IV.2.4. Répartition des résultats de l'épreuve de la coagulase

Les résultats de l'étude du caractère de staphylocoagulase est portée sur le tableau ci-dessous.

Tableau XXIX: Répartition des résultats de l'épreuve de la coagulase

Type de la staphylocoagulase	Nombre de colonies	%
Positive	20	32,79
Négative	41	67,21
Total	61	100

Sur ces 61 prélèvements contaminés par les staphylocoques, nous comptons 41 prélèvements (soit $67,21\% = 41/61$) pour lesquelles la coagulase est négative (staphylocoques à coagulase négative) et seulement 20 prélèvements (soit $32,79\% = 20/61$) pour lesquelles la coagulase est positive (staphylocoques à coagulase positive).

Donc le taux de contamination du lait par les staphylocoques à coagulase négative est plus important par rapport à sa contamination par les staphylocoques à coagulase positive.

La figure ci-dessous représente ces résultats :

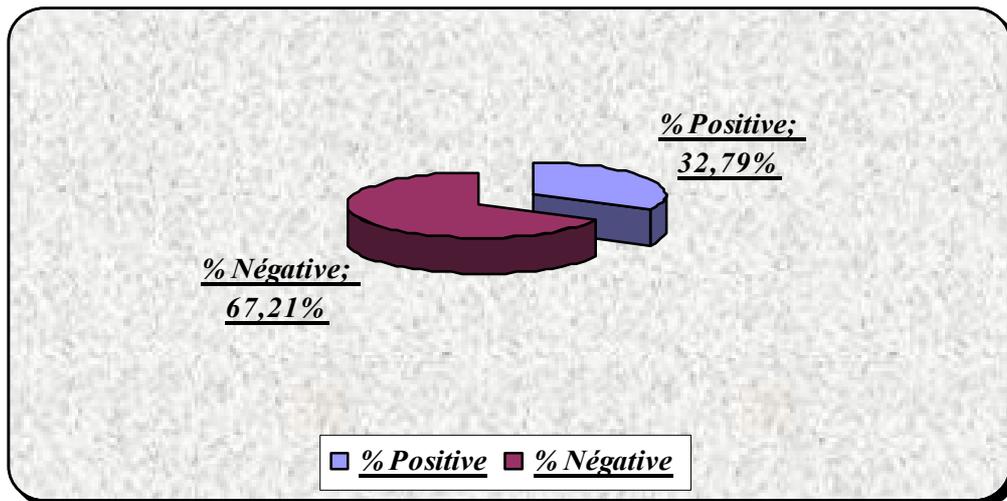


Figure 24 : Répartition des résultats de l'épreuve de la coagulase.

IV.3. Expression des résultats de dénombrement des *Staphylocoques aureus* par comptage des colonies à 37C° (Norme NF V 08-057-1).

Les résultats du dénombrement sont représentés dans le Tableau XXX ci-dessous

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

N° de prélèvement contaminé par les Staphylocoques a coagulase (+)	Test de mannitol mobilité	Expression des résultats (nombre des <i>Staphylocoques aureus</i> /1ml)	Log ₁₀ (des <i>Staphylocoques aureus</i>)/1ml.
<u>18</u>	+	0,36*10 ⁴	3,55
<u>22</u>	+	1,80*10 ⁴	4,25
<u>23</u>	+	0,91*10 ⁴	3,95
<u>31</u>	+	0,54*10 ⁴	3,73
<u>32</u>	+	0,72*10 ⁴	3,85
<u>59</u>	+	0,09*10 ⁴	2,95
<u>75</u>	+	0,18*10 ⁴	3,25
<u>90</u>	-	-	-
<u>106</u>	+	0,54*10 ⁴	3,73
<u>110</u>	-	-	-
<u>125</u>	+	0,54*10 ⁴	3,73
<u>128</u>	+	0,27*10 ⁴	3,43
<u>129</u>	+	0,91*10 ⁴	3,95
<u>137</u>	-	-	-
<u>162</u>	+	1,10*10 ⁴	4,04
<u>178</u>	-	-	-
<u>182</u>	+	0,36*10 ⁴	3,55
<u>192</u>	+	0,18*10 ⁴	3,25
<u>196</u>	+	0,91*10 ⁴	3,95
<u>202</u>	+	0,91*10 ⁴	3,95
La moyenne		0,54*10⁴	3,73

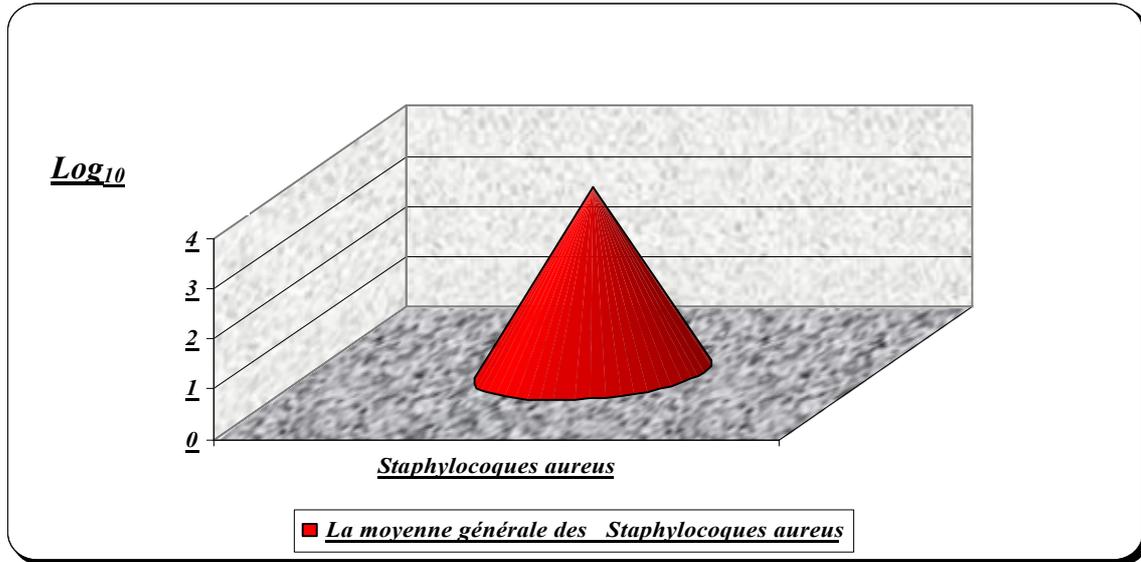


Figure 25: La moyenne générale des *Staphylococcus aureus*.

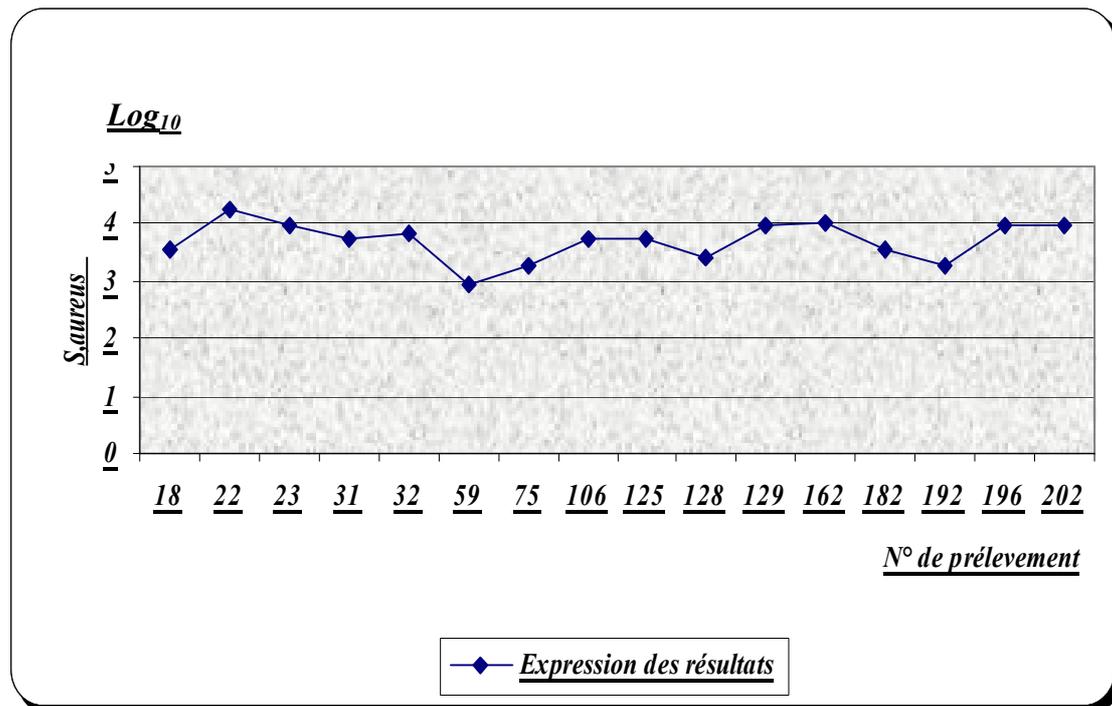


Figure 26: Distribution des valeurs de *Staphylococcus aureus*.

V. Analyse des données statistiques sur les TIAC en Algérie

V.1. Matériel et méthodes

Cette enquête a été réalisée à partir d'un questionnaire sous forme d'un tableau qui a été préparé selon le plan suivant :

- ✓ Années,
- ✓ Taux/100000 habitants.

V.2. Résultats

Les résultats des TIAC durant ces sept années en Algérie sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XXXI: Répartition des TIAC en Algérie

Années	Taux/100000 habitants
1999	15,17
2000	11,35
2001	12,50
2002	15,10
2003	16,39
2004	12,53
2005	15,07

Source: Institut National de la Santé Publique.

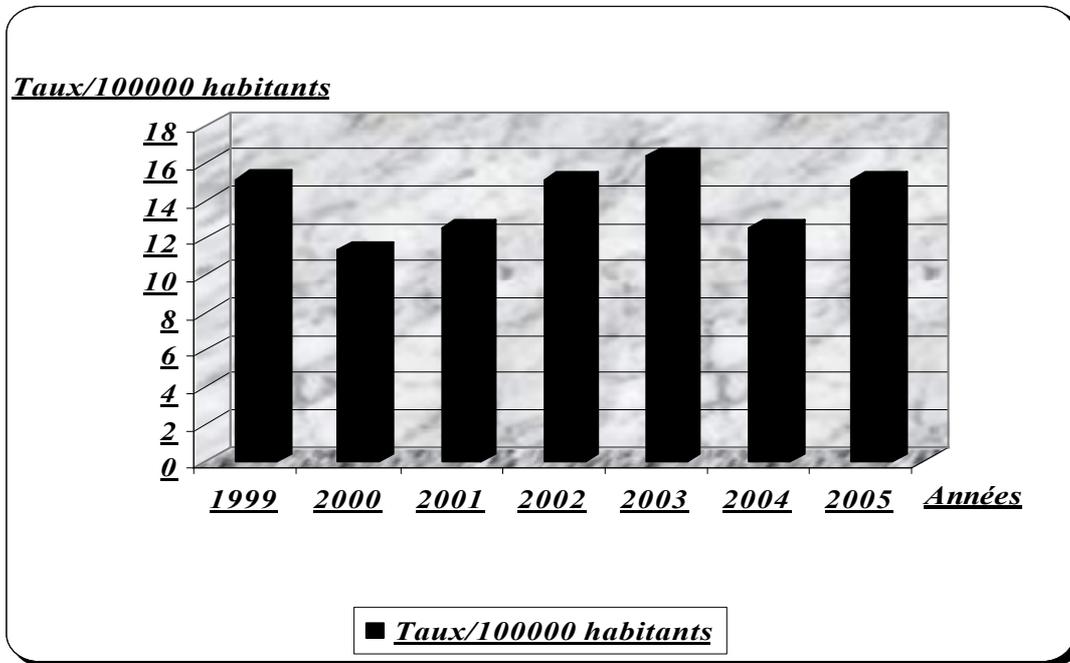


Figure 27: Incidence annuelle des TIAC en Algérie (1999-2005).

V.3. Interprétation des résultats

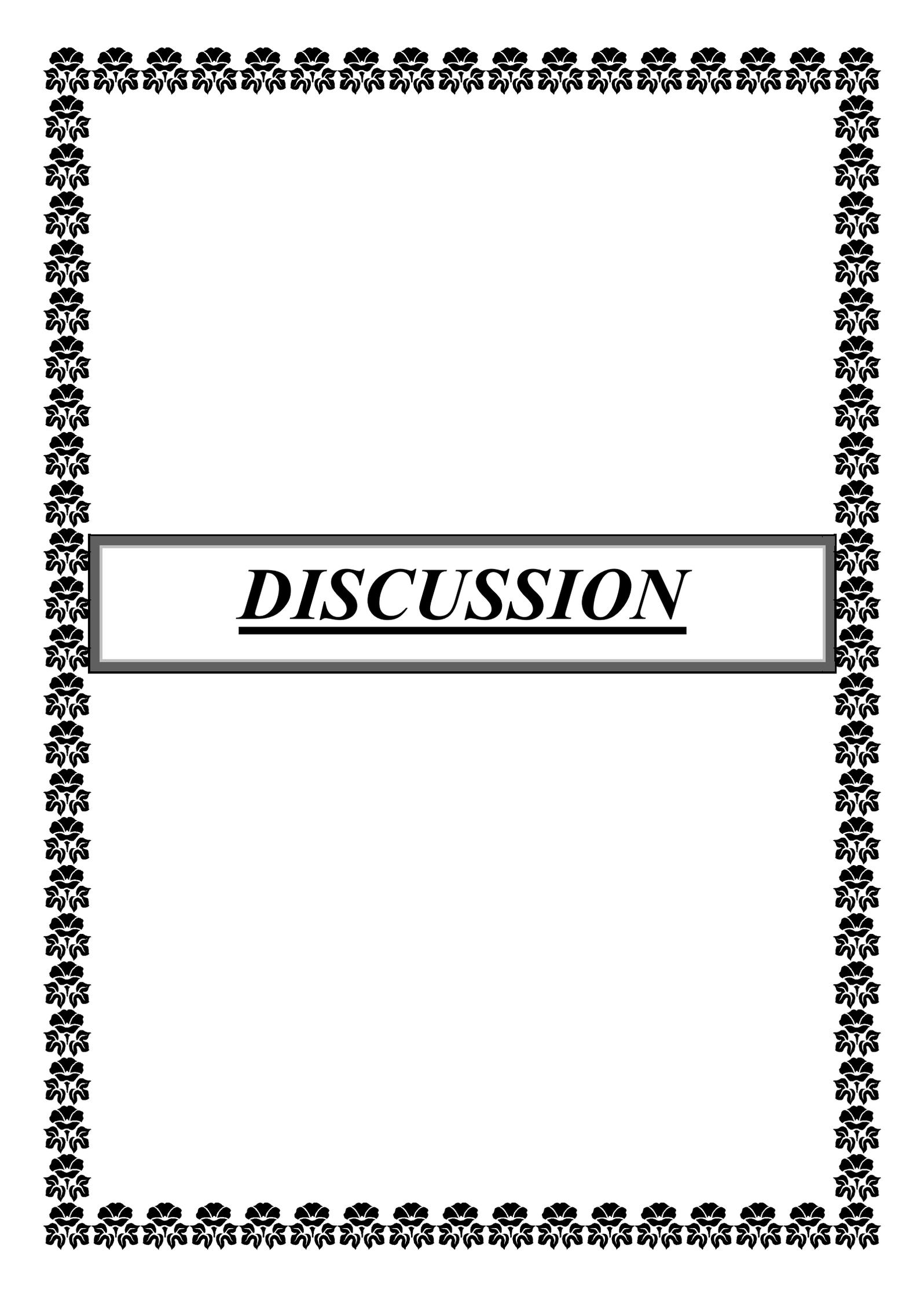
Durant ces sept dernières années, le taux moyen déclaré à l'INSP est de 14,01 cas pour 100.000 habitants avec un pic durant l'année 2003.

Ces intoxications alimentaires ont été notifiées principalement durant les périodes estivales. Les plus forts taux régionaux sont observés essentiellement dans les wilaya des hauts plateaux et du sud : Naama (77,29), Bouira (72,21), Blida (42 ,96), Biskra (32,22).

Si le pic mensuel est observé en août, on note que la période d'activité intense s'étale de mai à octobre avec une incidence cumulée de 12,07 cas pour 100000 habitants, représentant plus de 80%de l'incidence annuelle.

Les incidences maximales sont enregistrées chez les 20-29 ans (24,29), suivies des 10-19ans (18,49) et des 50-59 ans (16,24).

Dans la majorité des cas, les foyers sont survenus lors de regroupements familiaux.

A decorative border consisting of repeating floral motifs, possibly stylized roses or similar flowers, arranged in a rectangular frame around the page content.

DISCUSSION

VI. DISCUSSION

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

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

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

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

Les prélèvements de lait bovin au nombre de 203, provenant de la région d'Alger ont été analysés au laboratoire de Draa Ben Khedda et de l'ENSV, dans le but de la recherche des staphylocoques. L'exploitation des résultats a permis d'observer une prévalence de 30,04 %.

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

La positivité par élevage varie de 00,00 à 55,56% et la fréquence la plus élevée a été observée au niveau de l'élevage de Dar El Beida -A-, (18 prélèvements dont 10 soit 55,56% sont contaminés par les staphylocoques). Ce taux de contamination trouve son origine dans les 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 germes (Staphylocoques) de l'environnement vers le lait ainsi que le non respect de la technique de la traite.

L'identification des germes isolés nous a permis de mettre en évidence deux types de Staphylocoques (Staphylocoques coagulase positive et Staphylocoques coagulase négative). Selon REKARTOZANDRINDRAINNY et FOUCRAS en 2007, *Staphylococcus aureus* (Staphylocoques coagulase positive) fait partie des agents microbiens responsables de la contamination importante du lait.

I. Facteurs de variations

I.1. Age

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

Nos résultats montrent l'augmentation de la fréquence des contaminations du lait chez les vaches entre 7 ans et 15 ans avec un pic pour celles âgées de 13-15 ans (100,00%). Parmi les facteurs qui pourraient expliquer la plus grande sensibilité des mamelles aux infections, signalons l'augmentation de la production laitière et du diamètre du canal du trayon entre 7 ans et 15 ans.

I.2. Niveau de production du lait

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

Nos résultats sont proches de ce qui est décrit ci-dessus, avec les fréquences suivantes : 40,00% chez les vaches hautement productrices (la tranche de production lactée varie de 30 à 40 litres par jour) et 25,27% à 38,78% chez les vaches faiblement productrices (la tranche de production

lactée varie de 0 à 30 litres par jour). Cela peut être expliqué par l'augmentation de la fréquence des infections avec le niveau de production des animaux. Ainsi malgré les mesures d'hygiène et la mise en place de plan de lutte contre les contaminations, les infections mammaires restent un des problèmes majeurs en élevages laitiers.

I.3. Stade de lactation

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

D'après notre étude, pendant les phases de lactation, on observe les fréquences suivantes : 32,78% en début de lactation, 13,13% en pic de lactation, 54,09% avant le tarissement. Ce qui se superpose à la bibliographie :

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

En l'absence de traitement préventif au tarissement, la période sèche est particulièrement propice à l'installation de nouvelles infections (environ 10% des quartiers vont s'infecter pendant cette période, et ces infections vont persister jusqu'au tarissement (FOUCRAS et *al.*, 2007). L'arrêt des traites rend les quartiers plus sensibles aux infections, dans les 2-3 premières semaines de la période sèche, par plusieurs mécanismes : arrêt de « l'effet chasse-lait », augmentation de la pression intramammaire qui a pour effet de diminuer les défenses du trayon en diminuant la longueur et en augmentant le diamètre du conduit papillaire (figure 28).

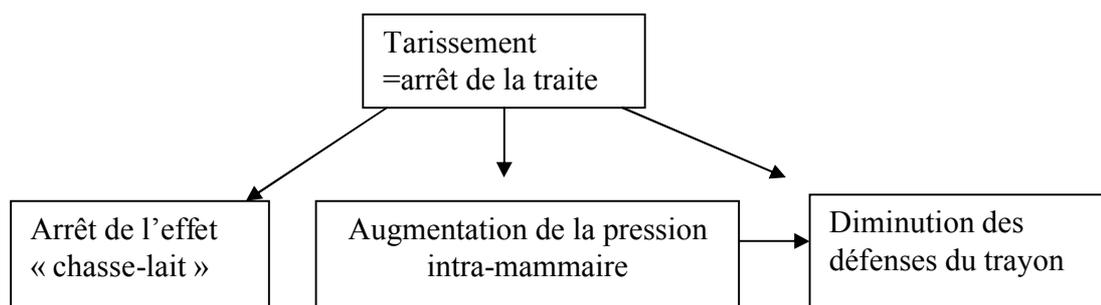


Figure 28 : Conséquences du tarissement sur la sensibilité des mamelles aux infections (GUERIN, 2003).

I.4. La race

D'après notre analyse bactériologique; 50,82% des prélèvements de lait des vaches montbéliarde sont contaminés par les staphylocoques, alors que les vaches holstein sont moins exposées avec un taux de contamination de 49,18%.

I.5. Nombre de gestations

Selon notre étude, les échantillons les plus fréquemment rencontrés contaminés sont celles des multigestes [5 - 11], où le taux de contamination oscille entre 46,15 à 55,56% avec un pic chez les vaches dont le nombre de gestation est compris entre 9 et 11 (55,56%). Puis ce dernier diminue avec la diminution du nombre de gestation. Ces résultats peuvent être expliqués par :

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

I.6. Forme des trayons

Les résultats de notre expérimentation, montrent que la fréquence de contamination du lait par les staphylocoques varie selon la forme des trayons, avec les fréquences respectives suivantes : 57,38% soit 35/61 chez les vaches qui possèdent des trayons cylindriques ou « en bouteille » et 42,62% soit 26/61 chez les vaches qui possèdent des trayons en forme d'entonnoir. Cette dernière forme évite les phénomènes de « grimpage » des gobetets trayeurs (qui lèse le trayon par sa répétition et interrompt la mulsion par compression de la base du trayon).

I.7. La traite

Nos résultats montrent l'augmentation de la fréquence de contamination du lait chez les vaches où la traite est effectuée mécaniquement (68,85%), alors que dans le cas de la traite manuelle le taux de contamination est de 31,15%. Parmi les facteurs qui pourraient expliquer ces résultats :

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

✓ La technique de traite et le fonctionnement de la machine à traire sont impliqués dans les mammites par deux mécanismes : les lésions du trayons et les phénomènes de reflux de lait ou phénomènes d'impact.

✓ Le phénomène d'impact est dû à des entrées d'air intempestives au niveau d'un manchon trayeur, qui vont occasionner une baisse du niveau de vide dans ce manchon trayeur et un reflux du lait de ce trayon vers les autres faisceaux trayeurs où le niveau de vide est plus élevé. Ce reflux de lait peut être le vecteur de germes.

✓ En plus, on peut citer un niveau du vide excessif qui entraîne l'éversion du canal du trayon et un pulsateur défectueux. Pour ce qui est de la technique de traite, toute sur-traite ou défaut d'arrachage des griffes peuvent occasionner des lésions du trayon.

✓ L'ensemble des opérations de traite va conditionner la qualité du lait et la santé de la mamelle. Dans l'idéal, la traite devrait commencer par un lavage des mains du trayeur. Ensuite la préparation de la mamelle à la traite commence par le nettoyage de la mamelle, soit à

l'aide de lingettes à usage unique, soit de douchettes. Vient ensuite l'élimination des premiers jets, les premiers jets devraient être éliminés sur un bol à fond noir pour détecter précocement les mammites. Encore beaucoup d'éleveurs les éliminent malheureusement sur le sol de la salle de traite. La qualité de détection des mammites conditionne la rapidité de mise en oeuvre du traitement et donc son efficacité.

I.8. La litière

Notre étude expérimentale révèle une fréquence de contamination du lait par les staphylocoques qui est plus élevée dans le cas de la présence de la litière dans la ferme: 54,10% (33/61). Alors que dans l'autre cas, elle est de: 45,90%. Cette contamination augmente avec l'épaisseur de la litière. Ces résultats peuvent être expliqués par :

✓ la litière qui est une source évidente car régulièrementensemencée en staphylocoques et dans la mesure où elle est suffisamment paillée, elle offre à sa surface les conditions idéales de température, d'humidité ou d'oxygénation pour leur multiplication. Les contaminations ont lieu en dehors de la traite.

✓ D'après BOUCHARDE en 2003, le confort a un effet positif pour réduire les traumatismes staphylococciques aux trayons. Le seul fait de garder les vaches à l'intérieur accroît l'incidence de la contamination du lait.

✓ D'après une étude serbe (MILOJEVIC et *al.*, 1988), il y aurait 27% moins de cas de contamination du lait par les staphylocoques dans les troupeaux en stabulation extensive (absence de la litière) que dans les troupeaux en stabulation intensive (présence de la litière).

II. Type de staphylocoques

Les résultats ont montré que la fréquence de contamination du lait varie 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. Cela peut être expliqué par ce qui suit:

✓ D'après GUERIN en 2003, 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) isolé dans l'exploitation N°II-A 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-A, N°V et N°VI, qui, elles, pratiquent la désinfection des trayons après la traite. Plusieurs travaux montrent que l'application d'une désinfection des trayons après la traite contribue à la diminution de la prévalence des SCN.

✓ MILOJEVIC et *al.*, en 1988, ont montré que les SCN font partie de la flore extérieure normale de la mamelle isolée au niveau de la peau de trayon, du canal du trayon de même qu'au niveau d'échantillons de lait prélevés aseptiquement.

✓ Cependant, les recherches effectuées au cours des 10 dernières années font apparaître l'importance des SCN en tant que germes pathogènes, responsables de plus en plus de mammites cliniques et subcliniques (ANONYME 3, 2008).

✓ Selon BRAVARD et SCHMITT-VAN DE LEEMPUT en 2006, la plupart des staphylocoques coagulase négative dans les infections mammaires subcliniques chez la vache laitière varient selon les pays. Dans les pays développés la fréquence des isollements des staphylocoques dans le lait bovin est fortement baissée. A l'inverse, dans les pays en voie de développement, la fréquence des isollements des staphylocoques dans le lait bovin est fortement élevée (REKARTOZANDRINDRAINNY et FOUCRAS, 2007).

✚ Nos résultats se rapprochent de ceux de Fabré (1997) puisque la fréquence des SCN est nettement plus élevée que celle des staphylocoques coagulase positive (*S. aureus*) isolé à raison de 40% dans des cas de mammites cliniques.

✚ La répartition des espèces de SCN est variable en fonction des études. Cette variation pourrait être attribuée à l'utilisation de différents systèmes d'identification.

Comparaison des isolements bactériens

La comparaison des isolements des staphylocoques est représentée dans le tableau XXXII ci-dessous :

Tableau XXXII: Comparaison des isolements bactériens (Anonyme 1, 2008).

Auteur	Année	Staphylocoques		Total « staphylocoques coagulase positives et négatives »
		coagulase positives	Coagulase négatives	
Fabre	1997	17%	10%	27%
Argenté	2005	17%	9%	26%
Poisy	2006	6%	21%	27%
Miltenburg	1996	24%	7%	31%
Sargeant	1998	9%	39%	48%

III. Dénombrement des *Staphylocoques aureus*

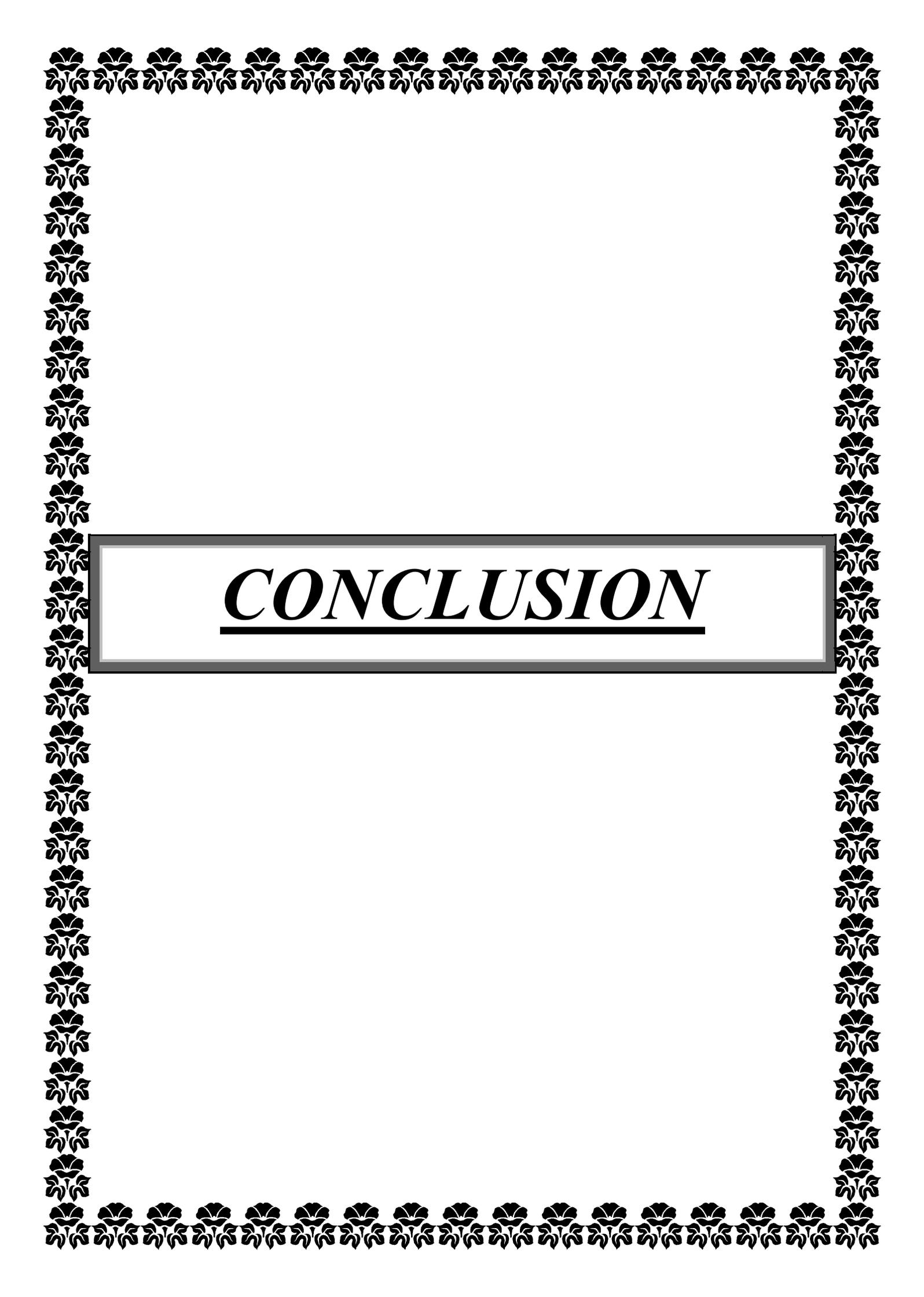
L'ensemble des résultats révèlent la présence des *Staphylocoques aureus* pour 16 prélèvements, cela correspond à un taux de contamination de l'ordre de 7,88%, sur les 203 prélèvements. Ces résultats sont liés au passage des staphylocoques de l'environnement vers le lait.

Le nombre des *Staphylocoques aureus* isolés varie de $0,09 \cdot 10^4$ UFC/1ml (pour le prélèvement N° 59) à $1,80 \cdot 10^4$ UFC/1ml (pour le prélèvement N° 22), avec une moyenne de $0,54 \cdot 10^4$ UFC/1ml.

IV. Les intoxications alimentaires

De l'enquête portant sur les TIAC en Algérie sur une période de sept années (1999-2005) auprès de l'Institut National de la Santé Publique, nous pouvons tirer les conclusions épidémiologiques et prophylactiques suivantes:

- Ces accidents alimentaires proviennent des mauvaises conditions de stockage des produits.
- Il faut examiner les aliments incriminés par des examens microbiologiques pour mettre en évidence l'agent causal de l'intoxication alimentaire.

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the page. The motifs are stylized, symmetrical designs with multiple petals and a central stem, arranged in a continuous line.

CONCLUSION

VII. CONCLUSION

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

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

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

Notre étude a été réalisée dans la région d'Alger sur la contamination du lait par les staphylocoques. Elle est portée sur 203 vaches laitières, issues de 14 élevages différentes.

Sur le plan bactériologique

Les analyses bactériologiques que nous avons réalisé sur le lait bovin issu de 14 élevages différents dans la région d'Alger a révélé une forte contamination qui est probablement due aux infections des mamelles en manque d'hygiène de l'environnement, du personnel et surtout du non respect des conditions d'hygiène de la traite.

➤ Nous avons tout d'abord remarqué la présence des staphylocoques dans 61 (soit ; 30,04%) des prélèvements ;

✚ sur ces 203 prélèvements nous comptons :

- ✓ 142 prélèvements pour lesquels aucune culture n'a été obtenue.
- ✓ 61 prélèvements dont la recherche des staphylocoques est positive.

✚ parmi ces 61 prélèvements positifs, on dénombre:

- ✓ 41 prélèvements pour lesquelles le lait est contaminé par les staphylocoques à coagulase négative.
- ✓ 20 prélèvements pour lesquelles le lait est contaminé par les staphylocoques à coagulase positive.

➤ Concernant le dénombrement, nous avons constaté :

✚ Un pic des *Staphylococcus aureus* dans le lait de la vache N° 22 ($1,80 \cdot 10^4$ UFC) ;

✚ Le nombre le plus faible est remarqué dans le lait de la vache N°59 ($0,09 \cdot 10^4$ UFC) ;

✚ La moyenne des *Staphylococcus aureus* est de $0,54 \cdot 10^4$ UFC/1ml.

Sur le plan épidémiologique

- ✚ Concernant les TIAC en Algérie, nous avons tout d'abord constaté au cours de ces sept (07) années, que l'aliment mis en cause est rarement celui préparé sur les lieux. Ainsi la maladie touche plus de personnes de sexe masculin, que de personnes de sexe féminin. De plus le taux de mortalité n'est cependant pas négligeable.
- ✚ Les résultats de l'enquête (litière impropre, non respect des règles d'hygiène de la traite) peuvent expliquer la contamination du lait par les staphylocoques dans la mamelle.

Sur le plan prophylactique

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

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

RECOMMANDATIONS

Il importe de souligner la nécessité de lancer un programme de prévention primaire et secondaire nécessaire pour la production du lait. La prévention doit être la plus précoce possible :

- Il s'agit d'éviter les nouvelles infections en agissant sur les germes, les mécanismes de leur transmission aux trayons et les facteurs de réceptivité de la mamelle.
- réaliser l'épreuve du bol de traite si présence de grumeaux (mammite clinique).
- traiter le quartier après trois traites consécutives minimum.
- Ne tarir la vache que lorsque le lait est redevenu normal.
- Ne jamais tarir un quartier atteint de mammite clinique !
- procéder à une dernière traite complète en évitant l'égouttage qui sera remplacé par l'élimination manuelle des derniers jets de lait (lait résiduel).
- laver et essuyer les trayons.
- désinfecter l'ostium des quatre trayons pendant 20 secondes (tampon imbibé d'alcool 70° ou serviette désinfectante présentes dans certaines préparations).
- Procéder à un dernier trempage des quatre trayons afin d'éviter une contamination ascendante pendant les 30 min. qui suivent la traite.
- Pendant la période sèche :
 - ✓ Surveiller régulièrement la mamelle (qui doit rester souple et sans inflammation apparente). Cette surveillance est importante pendant les deux premières semaines du tarissement.
 - ✓ Reprendre le trempage des trayons 8 jours avant le vêlage.

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

- Sensibilisation de la population sur les règles d'hygiène élémentaires par tous les moyens d'information ;
- Contrôle du lait depuis la production jusqu'à la consommation, par des vétérinaires hygiénistes ;
- Contrôle des conditions de la traite ;
- Stockage des laits à des températures et dans des conditions adéquates ;
- Mise en vente des laits sains ;
- Hygiène des manipulateurs des laits destinés à la consommation humaine ;

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ALMEIDA R.J. and JORJENSEN J.M. 1982.** Use of Mueller-hinton agar to determine novobiocine susceptibility of Coagulase-negative *staphylococci*. *J. clin. Microbiol.* 16. 1155-1156.
2. **ANONYME 1, 2008 :** Synthèse du lait.
Site: www.google.lait/image.
Date de consultation : 11/11/2008.
3. **ANONYME 2, 2007 :** Les règles requises pour traite un lait de qualité.
Site : www.google.traite/web.
Date de consultation : 06/12/07.
4. **ANONYME 3, 2008 :** Staphylocoques.
Site: www.google.staphylocoques/image.
Date de consultation : 06/01/2008.
5. **ANONYME 4, 2008 :** colonie de staphylocoque sur le milieu de Baird Parker.
Site: [www.google.colonies staphylocoques/image](http://www.google.colonies%20staphylocoques/image).
Date de consultation : 06/01/2008.
6. **ANONYME 5, 2008 :**
Site: www.google.staphylocoques/web.
Date de consultation : 06/01/2008.
7. **ARRETE INTERMINISTERIEL DU 29 SAFAR 1414 CORRESPONDANT AU 18 AOUT 1993.** relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. p. 16
8. **ARIZNABARRETA, A., GONZALO, C. & SAN PRIMITIVO, F. 2002.** Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to *Staphylococci*. *J. Dairy Sci.* 85, 1370-1375.
9. **ARQUILLIERE CORINNE .2000.** Identification des staphylocoques et genres apparentés chez une marmotte americaine (marmota monax) Thèse pour Doctorat Vétérinaire, Lyon, Paris : 24-47.
10. **Association française de normalisation (afnor V08-057-1). 1994.** méthodes de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage de colonies à 37C° : Technique avec confirmation des colonies. P.5-12.
11. **BARBER (M.A.). 1914.** Milk poisoning due to a type of *staphylococcus aureus* occuring in the udder of a cow. *Phillipine J. Sci.*, 9, 515.

12. **BASCOMB, S. & MANAFI, M. 1998.** Use of enzyme tests in characterization and identification of aerobic and facultative anaerobic Gram-positive cocci. *Clin. Microbiol. Rev.* 11, 318-340.
13. **BEN HASSEN, S., MESSADI, L. & BEN HASSEN, A. 2003.** Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. *Ann Med Vet.* 147, 41-47.
14. **BENDALI- BRAHAM, 1978.** L'hygiène des denrées alimentaires d'origine animale en restauration collective en Algérie. Mémoire pour Doctorat en médecine vétérinaire, Constantine : 81.
15. **BERRY T.M. et al., 1994.** *J. Food PROT.* 57, 150-153.
16. **BERTHELOT X., LEBRET P., PETIT C. 1987.** Les infections mammaires de la vache laitière. Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 192.
17. **BJORLAND, J., STEINUM, T., KVITILE, B., WAAGE, S., SUNDE, M. & HEIR, E. 2005.** Widespread distribution of disinfectant resistance genes among staphylococci of bovine and caprine origin in Norway. *J Clin Microbiol.* 43, 4363-4368.
18. **BLOOD C. et HENDERSOW J.A., 1976 :** *Medecine Veterinaire.* Editions vigot freres (paris), 1100 pages.
19. **BOUCHARDE. 2003.** Cours de pathologie mammaire, Faculté de Médecine Vétérinaire de montréal, 11,15-20.
20. **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.
21. **BOURGEOIS C.M., MESCLE J.F., ZUCCA J. 1996.** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Tome 1. Editions Tec et Docs, Paris, 672.
22. **BRADLEY AJ. 2002.** Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal,* 164 (2), 116-128.
23. **BRAVARD M. et SCHMITT-VAN DE LEEMPUT., 2006 :** infection a staphylocoques coagulase négatifs. *Le point vétérinaire,* N° 266, 76-79.
24. **BRUN Y .and BES M. 1990.** methodes diagnostique des staphylocoques coagulase négatifs. *Méd. Mai. Infect. Hors série mars,* 16-23.
25. **BUCHRIESER C. et al. 1995.** *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1163-1168.

26. **BUSSE H.J, DENNER M. and LUBITZ W. 1996.** Classification and identification of *bacteria*: current approaches to an old problem. Overview of methods used in bacterial systematics. *J. Biotechnol.* 47, 3-38.
27. **CAINAUD ELVIRE. 2005.** Les mammites subcliniques chez la chèvre : détection et mesures de lutte. étude dans des élevages de la drôme. LYON I : 24-26.
28. **CELINE PUJOL-DUPUY. 2004.** Accidents alimentaires d'origine bactérienne liés à la consommation de laits et produits laitiers. Thèse de doctorat vétérinaire, ENV, Lyon, 191.
29. **CHIKAHIRA M. and HAMADA K.1998.** *Jpn. J. Vet. Sci.* 50, 865-873.
30. **COLWELL R.R. and HUQ. A. 1994.** In I.K. Wachsmuth, P.A. Blake, and O. Olsvik (e.d), *Vibrio Cholerae and Cholera ; Molecular to Global Perspective.* ASM Press, Washington, D.C., pp. 117-133.
31. **DEVRIESE, L.A., SCHLEIFER, K.H. & ADEGOKE, G.O. 1985.** Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. *J Appl Bacteriol.* 58, 45-55.
32. **EICHER R., SUTTER – LUTZ B. et GERBER L., 2002 :** Mammites subcliniques dans les troupeaux laitiers. Contrôler les mammites à *Staphylococcus aureus*. Le pont vétérinaire, N 228, 50-54.
33. **FABRE J.-M., BERTHELOT X., BOUSQUETE., LAUMONNER G. et SEEGER H., 1999 :** traitement des mammites subcliniques en lactation. Bulletin des GTV, N01, 49-56.
34. **FAROULT B., LE PAGE P, 2006.** Quels prélèvements de lait pour le diagnostic bactériologique des mammites bovines ?. Bull. Group. Tech. Vét., 33, 24-30.
35. **FEDERICI, C., M. GODIN. 2002.** La machine à traire : fonctionnement, incidence sur la santé des mamelles. Journées Nationales des GTV, Tours 2002 :369-392.
36. **FEILLET P. 1998.** Aliments et industries alimentaires : les priorités de la recherche publique. Editions INRA, Paris, 280 pages.
37. **FLACHE HUGUES .2002.** Cinétique des comptages cellulaires de quartiers chez la vache. École Nationale Vétérinaire de Lyon : 12-14.
38. **FOURNIER J.M. et VILLENEUVE S. 1998.** *Med. Trop.* 58, 32-35.
39. **FREINEY J., KLOOS W.E., HAJEK V. and WABESTER J. A.,1999.** For the subcommittee on the taxonomy of *staphylococci* and *streptococci* of the international committee on systematic bacteriology. 49. 489-502.
40. **GIRODON S. 2001.** Maîtrise des infections intra mammaires dans les troupeaux bovins laitiers : méthodes pour élaboration d'un plan de lutte. Paris : 43-45.

41. **GUERIN A. 2003.** Mise en place d'une démarche de rationalisation du traitement des mammites des vaches laitières. Description des pratiques des éleveurs et des vétérinaires à la mise en place de l'action GTV partenaire en région Rhône-alpes. *Thèse Méd. Vét., Nantes, 2003.*
42. **GUIRAUD J-P 2003.** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, Paris, 651.
43. **GUY CHARRON. 1986.** Les productions laitières : les bases de la reproduction, volume 1. Paris cedex 08 : 116-118 et 155.
44. **HANZEN CH. 2005-2006.** Pathologie infectieuse de la glande mammaire. Chapitre 24, 2^{ème} doctorat 2005-2006: p 45. www.fmv.ulg.ac.Be/oga/index.
45. **HANZEN CH., CASTAIGNE J. LOUP. 2002.** Faculté de Médecine Vétérinaire. université de Liège, chapitre 30 : pathologie infectieuse de la glande mammaire, dernière mise à jour : 02/02/2002 site web : www.fmv.ulg.ac.Be/oga/index.
46. **ISLAM M.C et al., 1996.** In: B.S. Drasar and B.D. Forrest (ed.), *Cholera and the Ecology of vibrio Cholerae*. Champman and Hall, London, 187-227.
47. **JEAN-LOUP AVRIL, 1997.** Nouveau dictionnaire de bactériologie clinique. Nouvelle edition . Paris :133-1137.
48. **JORDAN (E.O) et BROOM (J, Mc). 1931.** The production by staphylococci of a substance causing food poisoning. *J. Am. Med. Assoc.*, 49, 1648.
49. **KLOOS W.E. and BANNERMAN T.L.1994.** Update on clinical significance of coagulase-negative *staphylococci*. *Clin. Microbial. Rev.* 7, 117-140.
50. **KLOOS W.E. and WOLFSHOHL J. F 1979.** Evidence for deoxyribonucleotide sequence divergence between *staphylococci* living on human and other primate skin. *Curr. Microbial.* 3, 1967-1972.
51. **KLOOS W.E. TOMABEN T.G and SCHLEIFER K.H. 1974.** Isolation characterization of *micrococci* from human skin, including two new species: *Micrococcus lylae* and *micrococcus kristinae*. *Int. J. syst. Bacteriol.*24, 79-101.
52. **KLOOS, W.E. & SCHLEIFER, K.H. 1975.** Genus IV. *Staphylococcus*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Eds P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt, williams & Wilkins. pp.1013-1035.
53. **KLOOS, W.E. 1980.** Natural populations of the genus *Staphylococcus*. *Annu Rev Microbiol.* 34, 559-592.
54. **KLOOS, W.E., ZIMMERMAN, R.J. & SMITH, R.F. 1976.** Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal.

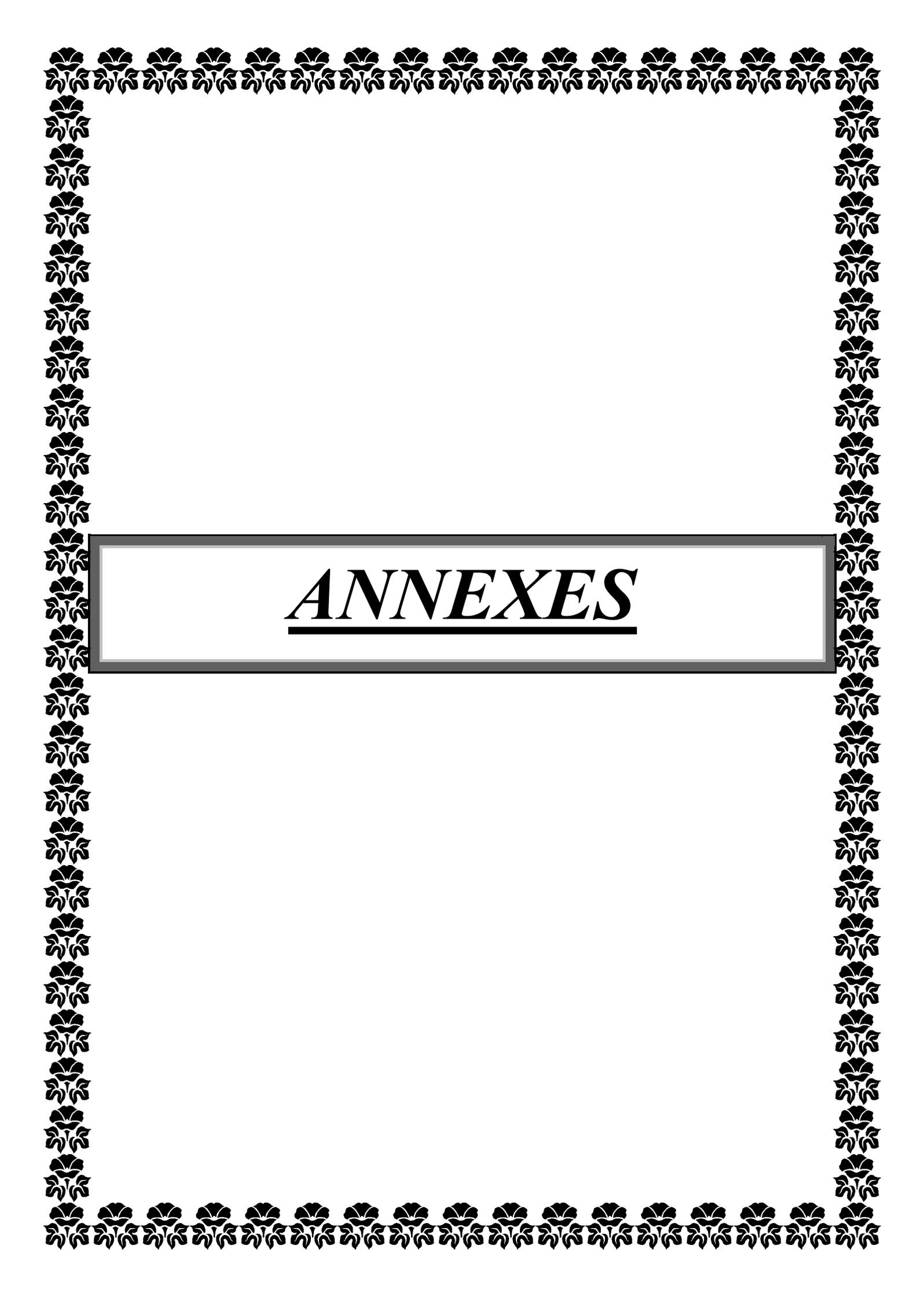
- 55. KONEMAN E. W., ALLEN S.D., JANDA W.M., SCHRECKENBERGER P.C. and WINN W.C. 1997.** The gram positive *cocci*: part. I : staphylococci and related organismes. In *color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 5th edn. 539-576.
- 56. KOUAR F. 1979.** Intoxications alimentaires collectives en france. Thèse de doctorat en médecines vétérinaires, Lyon, 35-56 ;
- 57. KREMER W. D., NOORDHUIZEN-STASSEN E. N., LOHUIS J. 1990.** Host defence and bovine coliform mastitis. Host defence mechanisms and characteristics of coliform bacterian mastitis in bovine: a review. *Veterinary Quartely*, 12, 103-113.
- 58. LACASSE P.,** cours sur la biologie de la lactation. Département des biologie université de Sherbrooke.
Site: <http://www.Callisto.Si.Usherb.ca>
Date de consultation: 25/04/2009.
- 59. LACOMBE J.F., 1995.** Pathologie liée à la machine à traire. Accident et maladies du trayon, édition française agricole ,189- 231.
- 60. LAURENT SUTRA, MICHEL FEDERIGHI, JEAN-LOUIS JOUVE. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. Paris, 53-80.
- 61. LEBRET P., BERTHELOT X. ET PETIT C. 1990.** Connaissances fondamentales. Les infections mammaires de la vache laitière, 1, 49.
- 62. LECHICA R.V.F., GENIGEORGIS C. and HOEPRICH P.D. 1991.** Metachromatic agar diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. *Appl. Microbial*. 21, 585-587.
- 63. LEDERER J. 1977.** Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire. Tome II. Hygiène des aliments. 2^{ème} édition. Edition Maloine, Paris, 310.
- 64. LESCURT, 1951.** Pathogénie de certains empoignements alimentaires d'origine bactérienne. Thèse pour Doctorat Vétérinaire, Toulouse : 33.
- 65. MENDOZA M., MEUGNIER H., BES M. ETIENNE J. and FRENEY j. 1998.** Identification of *staphylococcus* species by 16S-23S rDNA intergenic spacer PCR analysis. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 48, 1049-1055.
- 66. MIALOT J-P., 1983.** Technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique. *Rec. Méd. Vét.*, 159, (11), 1057-1058.
- 67. MILOJEVIC Z., M. SIRADOVIC D., MAROVIC D., SANDOR R., MICIC S., KOJEVIC M., ISMAILOVIC ET S. FILIPOVIC.1988.** Effect of various

management systems on udder infections and the occurrence of mastitis. 18(2):231-236.

68. **NAGASE, N., SASAKI, A., YAMASHITA, K., SHIMIZU, A., WAKITA, Y., KITAI, S. & KAWANO, J. 2002.** Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. *J Vet Med Sci.* 64, 245-250.
69. **NOIRETERRE PHILIPPE. 2006.** suivis de comptages cellulaires et d'examen bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. étude expérimentale au centre d'élevage Lucien Bizet de Poisy. LYON I : 26-29.
70. **ORLANDINI .1999.** Les bactéries pathogènes à l'origine d'accidents alimentaires en France: rappels généraux et méthodes de détection rapide. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 185 pages +annexes.
71. **POUTREL B. 1985.** Généralités sur les mammites de la vache laitière. Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthode de contrôle. Les mammites bovines. Recueil de médecine Vétérinaire, 161, 617, 495-512.
72. **RAINARD P.1991.** Mécanismes immunitaires de défense de la mamelle et leur régulation. mammites des vaches laitières. Société Française de Buiatrie, Paris, 37-42.
73. **REKARTOZANDRINDRAINY R. et FOUCRAS G., 2007 :** Etiologie bactérienne des mammites des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. *Revue Méd. Vét.*, 158, 02, 106-110.
74. **RICHARD Y. 1998.** Caractéristiques microbiologiques. In staphylocoques et santé publique. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 16.
75. **ROSSET. 1978.** Les toxi-infections alimentaires collectives en France. *Th. Doct. Med., paris*, 78.
76. **SALSBERG E. MEEK A.H. MARTIN S.W. 1984.** Somatic cell counts: associated factors and relationship to production. *Can. J. Comp.Med.*, 48, 251-257.
77. **SEEGERS H, MENARD JL, FOURICHON C. 1997.** Mammites en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. *Rencontres Rech. Ruminants*, 4, 233-242.
78. **SUTRA L, FEDERIGHI M, JOUVE J-L. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. édition Polytechnica, Paris, 308 pages. *Thèse Méd. Vét., Nantes*, 2003.
79. **VAUGHN (V.C). 1884.** Poisonous of sick cheese- *Public Health*, 10, 241.
80. **WATTIAUX MA., 2004 :** lactation et récolte du lait : la maladie et sa transmission. Site: http://babcock.Cals.Wisc.Edu/downloads/de/23_fr.Pd.

Date de consultation : 12/03/2008.

- 81. WAYNE L.G. BRENNER D.J., COLWELL R.R. and 9 Other Authors.1987.**
International committee on systematic bacteriology. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *Int. j. syst. Bacterial.* 37, 463-464.

A decorative border of repeating floral motifs surrounds the page. The motifs are stylized, symmetrical designs with multiple petals and a central stem, arranged in a continuous line.

ANNEXES

ANNEXE-1-

PRELEVEMENTS POUR ANALYSE BACTERIOLOGIQUE

Questionnaire pour la récolte des données sur les vaches prélevées.

Région : Alger

Date : / /

Ferme :

Questionnaire n° :

N° de prélèvement	Age	Nombre de porte	Robe	Les trayons cylindriques « bouteille »	les trayons en forme d'entonnoir	Qtt du lait prod	Stade de lactat°	Destinat° du lait
<u>01</u>								
<u>02</u>								
<u>03</u>								
<u>04</u>								
<u>05</u>								
<u>06</u>								
<u>07</u>								
<u>08</u>								
<u>09</u>								
<u>10</u>								
<u>11</u>								
<u>12</u>								
<u>13</u>								
<u>14</u>								

ANNEXE -2-

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 : Alger

Questionnaire N° :

Localisation de l'élevage :

I- CARACTERISTIQUES DES VACHES LAITIÈRES

- a)- Nombre de vaches total : dont:
- Primipares : robe :
 - Multipares : robe :
- b)- Mise bas :
- Conditions :
 - Les vaches sont-elles isolées avant mise bas ? :
 - Le local de mise bas est-il séparé ? :
 - Le lieu de mise bas est-il désinfecté entre les mises bas ? :
- c)- Début de la mise à la traite :
- d)- Espacement entre les traites :
- e)- Durée du tarissement :

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
- g)- Condensation :
- Importante Faible Nulle

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)- **Type de la traite :**
- ✓ Manuelle Mécanique
- c)- **Machine à traire :**
- Quelle est la date de la mise en service de votre machine ?
 - Est elle de type salle de traite ?

➤ Faites-vous contrôler régulièrement votre machine à traire ?

✓ Non Oui

➤ Produits utilisés pour le lavage de la machine à traire :

✓ Acide Base

✓

d)- Avant la traite :

➤ Vous lavez-vous les mains?

✓ Non Oui

➤ Avez-vous une tenue spéciale pour la traite ?

✓ Non Oui

e)- Hygiène des trayons :

➤ Méthode utilisée pour le nettoyage et la désinfection des trayons avant la traite :

✓ Les lavettes La douchette Le pré-trempeage Pas de nettoyage Autre...

➤ Concernant la méthode de Le pré-trempeage :

✓ Quel produit utilisez-vous ?.....

✓ Essuyez-vous le trayon ?.....

➤ Concernant la méthode de nettoyage par Les lavettes :

✓ Quel produit utiliser pour nettoyer le trayon avec les lavettes ?

•

✓ Combien nombre de lavettes utilisez-vous par vache ?

▪

✓ Nettoyage de lavettes :

▪ une fois par jour ?.....

▪ entre chaque traite ?.....

✓ Quelle est la méthode de nettoyage des lavettes ?

▪

➤ Concernant la méthode de la douchette :

✓ Vous utilisez :

▪ Une lavette individuelle

▪ une lavette collective

✓ Pas de lavette

✓ Lavage intéresse-t-il uniquement du trayon ? oui non

➤ Combien de temps vos vaches sont traites après avoir préparé la mamelle ?

✓ Tout de suite après

✓ Pas immédiatement

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

f)- destination du lait produit :

➤ Vendu :

✓ Aux usines

✓ Aux privés

➤ Consommation familiale

MERCI DE VOTRE COLLABORATION.

ANNEXE-3-

RESULTATS DE L'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE :
« INFORMATIONS GENERALES SUR LES VACHES PRELEVEES ».

N° de vache (prélèvement)	Age (ans)	Nombre de gestations	Robe	Quantité du lait (l/j)	Forme des trayons	Stade de lactation
<u>01</u>	5	3	PN	11	Entonnoir	Début
<u>02</u>	6	4	PN	11	Cylindrique	Début
<u>03</u>	4	2	PR	10	Entonnoir	Fin
<u>04</u>	9	7	PN	20	Cylindrique	Pic
<u>05</u>	6	4	PR	18	Entonnoir	Pic
<u>06</u>	9	6	PR	24	Cylindrique	Fin
<u>07</u>	5	3	PR	12	Entonnoir	Pic
<u>08</u>	6	4	PN	15	Entonnoir	Début
<u>09</u>	8	5	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>10</u>	3	1	PN	10	Entonnoir	Début
<u>11</u>	3	1	PR	10	Entonnoir	Début
<u>12</u>	3	1	PN	10	Cylindrique	Début
<u>13</u>	4	1	PR	8	Cylindrique	Fin
<u>14</u>	4	2	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>15</u>	5	2	PR	12	Entonnoir	Fin
<u>16</u>	7	5	PN	26	Cylindrique	Fin
<u>17</u>	3	1	PR	4	Entonnoir	Pic
<u>18</u>	6	3	PR	16	Cylindrique	Fin
<u>19</u>	8	6	PN	15	Entonnoir	Début
<u>20</u>	3	1	PN	5	Entonnoir	Fin
<u>21</u>	6	4	PN	8	Cylindrique	Début
<u>22</u>	7	4	PR	16	Cylindrique	Fin
<u>23</u>	9	7	PR	10	Cylindrique	Début
<u>24</u>	4	2	PN	8	Entonnoir	Début
<u>25</u>	8	5	PN	20	Cylindrique	Pic
<u>26</u>	6	4	PR	8	Entonnoir	Début
<u>27</u>	7	5	PN	8	Entonnoir	Début
<u>28</u>	10	7	PR	16	Cylindrique	Fin
<u>29</u>	5	3	PN	6	Cylindrique	Pic
<u>30</u>	8	6	PR	25	Entonnoir	Fin
<u>31</u>	6	4	PN	15	Entonnoir	Pic
<u>32</u>	4	2	PN	9	Cylindrique	Pic
<u>33</u>	5	3	PN	6	Cylindrique	Début
<u>34</u>	3	1	PR	5	Entonnoir	Pic
<u>35</u>	9	7	PN	26	Cylindrique	Fin
<u>36</u>	6	4	PR	18	Cylindrique	Début
<u>37</u>	8	6	PN	25	Entonnoir	Début
<u>38</u>	9	6	PN	21	Entonnoir	Pic

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

RESULTATS DE L'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE :
« INFORMATIONS GENERALES SUR LES VACHES PRELEVEES ».

N° de vache (prélèvement)	Age (ans)	Nombre de gestations	Robe	Quantité du lait (l/j)	Forme des trayons	Stade de lactation
<u>39</u>	3	1	PR	5	Cylindrique	Début
<u>40</u>	5	1	PN	6	Cylindrique	Fin
<u>41</u>	11	6	PN	30	Entonnoir	Fin
<u>42</u>	6	8	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>43</u>	5	3	PR	8	Entonnoir	Pic
<u>44</u>	6	4	PR	16	Entonnoir	Début
<u>45</u>	11	9	PN	20	Entonnoir	Début
<u>46</u>	9	7	PN	21	Cylindrique	Pic
<u>47</u>	10	8	PR	30	Entonnoir	Début
<u>48</u>	5	3	PR	12	Entonnoir	Pic
<u>49</u>	7	4	PN	22	Cylindrique	Fin
<u>50</u>	6	4	PN	15	Cylindrique	Pic
<u>51</u>	6	4	PR	20	Entonnoir	Début
<u>52</u>	3	1	PN	6	Cylindrique	Début
<u>53</u>	9	6	PR	10	Entonnoir	Fin
<u>54</u>	7	5	PR	15	Cylindrique	Pic
<u>55</u>	3	1	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>56</u>	4	2	PR	8	Cylindrique	Fin
<u>57</u>	12	10	PR	15	Cylindrique	Début
<u>58</u>	3	1	PN	6	Cylindrique	Fin
<u>59</u>	6	4	PR	16	Cylindrique	Pic
<u>60</u>	7	4	PR	18	Entonnoir	Fin
<u>61</u>	8	5	PN	22	Cylindrique	Fin
<u>62</u>	4	2	PN	15	Entonnoir	Début
<u>63</u>	3	1	PR	6	Entonnoir	Fin
<u>64</u>	5	3	PN	8	Entonnoir	Fin
<u>65</u>	6	3	PN	15	Entonnoir	Fin
<u>66</u>	3	1	PR	20	Cylindrique	Pic
<u>67</u>	9	6	PR	20	Cylindrique	Fin
<u>68</u>	3	1	PN	8	Cylindrique	Fin
<u>69</u>	7	5	PR	21	Entonnoir	Fin
<u>70</u>	4	2	PR	8	Cylindrique	Début
<u>71</u>	11	8	PR	25	Cylindrique	Fin
<u>72</u>	9	7	PN	20	Entonnoir	Fin
<u>73</u>	7	5	PN	20	Entonnoir	Début
<u>74</u>	3	1	PR	20	Cylindrique	Fin
<u>75</u>	10	8	PN	20	Entonnoir	Début
<u>76</u>	5	3	PN	15	Cylindrique	Pic

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

RESULTATS DE L'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE :
« INFORMATIONS GENERALES SUR LES VACHES PRELEVEES ».

N° de vache (prélèvement)	Age (ans)	Nombre de gestations	Robe	Quantité du lait (l/j)	Forme des trayons	Stade de lactation
<u>77</u>	11	9	PR	22	Entonnoir	Début
<u>78</u>	11	9	PR	22	Entonnoir	Début
<u>79</u>	6	3	PN	16	Cylindrique	Fin
<u>80</u>	4	2	PN	12	Entonnoir	Début
<u>81</u>	5	2	PR	4	Entonnoir	Fin
<u>82</u>	10	7	PN	20	Entonnoir	Fin
<u>83</u>	9	6	PR	12	Entonnoir	Pic
<u>84</u>	5	2	PR	12	Entonnoir	Pic
<u>85</u>	6	4	PR	10	Cylindrique	Pic
<u>86</u>	3	1	PN	6	Cylindrique	Pic
<u>87</u>	4	2	PR	8	Cylindrique	Fin
<u>88</u>	7	5	PN	20	Entonnoir	Pic
<u>89</u>	7	5	PN	26	Entonnoir	Début
<u>90</u>	10	7	PN	30	Entonnoir	Fin
<u>91</u>	9	6	PN	30	Entonnoir	Fin
<u>92</u>	5	3	PN	9	Entonnoir	Fin
<u>93</u>	3	1	PR	6	Entonnoir	Fin
<u>94</u>	4	2	PN	8	Cylindrique	Début
<u>95</u>	8	5	PR	25	Cylindrique	Fin
<u>96</u>	6	4	PN	21	Cylindrique	Début
<u>97</u>	8	6	PR	22	Entonnoir	Pic
<u>98</u>	3	1	PR	6	Entonnoir	Fin
<u>99</u>	11	8	PN	22	Cylindrique	Fin
<u>100</u>	3	1	PR	8	Entonnoir	Début
<u>101</u>	4	2	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>102</u>	4	2	PR	9	Cylindrique	Fin
<u>103</u>	6	3	PR	12	Entonnoir	Fin
<u>104</u>	6	3	PN	12	Cylindrique	Fin
<u>105</u>	13	10	PR	22	Cylindrique	Fin
<u>106</u>	11	9	PN	20	Cylindrique	Début
<u>107</u>	10	8	PN	12	Cylindrique	Début
<u>108</u>	8	5	PR	25	Cylindrique	Fin
<u>109</u>	4	2	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>110</u>	7	5	PN	21	Entonnoir	Fin
<u>111</u>	5	3	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>112</u>	10	7	PR	20	Entonnoir	Fin
<u>113</u>	5	2	PR	10	Entonnoir	Fin
<u>114</u>	5	2	PR	10	Entonnoir	Fin

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

RESULTATS DE L'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE :
« INFORMATIONS GENERALES SUR LES VACHES PRELEVEES ».

N° de vache (prélèvement)	Age (ans)	Nombre de gestations	Robe	Quantité du lait (l/j)	Forme des trayons	Stade de lactation
<u>115</u>	8	6	PN	10	Entonnoir	Pic
<u>116</u>	10	7	PR	20	Cylindrique	Fin
<u>117</u>	9	7	PR	22	Cylindrique	Début
<u>118</u>	6	3	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>119</u>	3	1	PN	8	Cylindrique	Pic
<u>120</u>	5	3	PN	12	Entonnoir	Pic
<u>121</u>	8	6	PR	20	Entonnoir	Début
<u>122</u>	3	1	PR	6	Cylindrique	Pic
<u>123</u>	3	1	PR	6	Entonnoir	Pic
<u>124</u>	5	2	PN	10	Cylindrique	Fin
<u>125</u>	4	1	PR	6	Cylindrique	Fin
<u>126</u>	4	2	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>127</u>	4	2	PR	12	Cylindrique	Début
<u>128</u>	8	5	PN	10	Entonnoir	Fin
<u>129</u>	9	7	PR	12	Cylindrique	Début
<u>130</u>	5	3	PR	10	Entonnoir	Début
<u>131</u>	5	3	PR	12	Cylindrique	Début
<u>132</u>	5	3	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>133</u>	4	2	PR	9	Entonnoir	Pic
<u>134</u>	6	3	PR	8	Entonnoir	Fin
<u>135</u>	6	3	PN	8	Cylindrique	Fin
<u>136</u>	4	2	PN	8	Cylindrique	Pic
<u>137</u>	4	2	PR	8	Cylindrique	Pic
<u>138</u>	10	8	PR	13	Cylindrique	Début
<u>139</u>	12	10	PN	17	Cylindrique	Pic
<u>140</u>	10	8	PN	16	Entonnoir	Début
<u>141</u>	2	1	PN	5	Entonnoir	Pic
<u>142</u>	3	2	PN	7	Cylindrique	Début
<u>143</u>	2	1	PN	10	Cylindrique	Début
<u>144</u>	3	2	PN	14	Entonnoir	Début
<u>145</u>	6	4	PN	10	Cylindrique	Début
<u>146</u>	5	3	PN	7	Cylindrique	Pic
<u>147</u>	4	2	PN	8	Cylindrique	Pic
<u>148</u>	5	3	PR	8	Entonnoir	Pic
<u>149</u>	6	4	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>150</u>	3	1	PN	8	Cylindrique	Fin
<u>151</u>	10	8	PN	12	Entonnoir	Début
<u>152</u>	11	9	PN	14	Entonnoir	Fin

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

RESULTATS DE L'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE :
« INFORMATIONS GENERALES SUR LES VACHES PRELEVEES ».

N° de vache (prélèvement)	Age (ans)	Nombre de gestations	Robe	Quantité du lait (l/j)	Forme des trayons	Stade de lactation
<u>153</u>	8	6	PN	14	Cylindrique	Début
<u>154</u>	8	6	PN	12	Cylindrique	Fin
<u>155</u>	7	5	PN	10	Entonnoir	Fin
<u>156</u>	5	3	PN	8	Cylindrique	Fin
<u>157</u>	6	4	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>158</u>	7	5	PN	12	Cylindrique	Pic
<u>159</u>	7	5	PR	14	Entonnoir	Pic
<u>160</u>	4	2	PN	6	Cylindrique	Fin
<u>161</u>	4	2	PR	6	Entonnoir	Début
<u>162</u>	7	3	PR	30	Cylindrique	Fin
<u>163</u>	7	3	PR	30	Entonnoir	Fin
<u>164</u>	10	6	PR	30	Entonnoir	Fin
<u>165</u>	8	6	PN	25	Entonnoir	Début
<u>166</u>	6	3	PR	32	Entonnoir	Fin
<u>167</u>	6	3	PR	20	Cylindrique	Fin
<u>168</u>	6	3	PR	30	Entonnoir	Fin
<u>169</u>	3	1	PN	20	Cylindrique	Pic
<u>170</u>	3	1	PR	20	Entonnoir	Pic
<u>171</u>	3	1	PN	26	Cylindrique	Pic
<u>172</u>	3	1	PR	20	Entonnoir	Pic
<u>173</u>	3	1	PN	16	Cylindrique	Pic
<u>174</u>	3	1	PR	15	Entonnoir	Pic
<u>175</u>	3	1	PR	18	Entonnoir	Pic
<u>176</u>	3	1	PR	15	Entonnoir	Pic
<u>177</u>	3	1	PR	16	Entonnoir	Début
<u>178</u>	3	1	PN	20	Entonnoir	Début
<u>179</u>	8	5	PR	10	Cylindrique	Fin
<u>180</u>	10	7	PN	12	Entonnoir	Fin
<u>181</u>	11	8	PN	20	Cylindrique	Fin
<u>182</u>	9	6	PR	12	Cylindrique	Fin
<u>183</u>	6	4	PN	12	Cylindrique	Début
<u>184</u>	5	3	PN	10	Cylindrique	Pic
<u>185</u>	5	2	PR	10	Entonnoir	Fin
<u>186</u>	6	4	PR	12	Entonnoir	Fin
<u>187</u>	3	1	PN	6	Cylindrique	Fin
<u>188</u>	3	1	PN	6	Cylindrique	Fin
<u>189</u>	8	6	PR	10	Cylindrique	Début
<u>190</u>	4	2	PN	10	Cylindrique	Fin

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

RESULTATS DE L'ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE :
« INFORMATIONS GENERALES SUR LES VACHES PRELEVEES ».

N° de vache (prélèvement)	Age (ans)	Nombre de gestations	Robe	Quantité du lait (l/j)	Forme des trayons	Stade de lactation
<u>191</u>	4	2	PR	10	Entonnoir	Fin
<u>192</u>	4	1	PN	8	Entonnoir	Fin
<u>193</u>	3	1	PR	6	Entonnoir	Pic
<u>194</u>	10	8	PR	10	Entonnoir	Pic
<u>195</u>	11	8	PN	12	Cylindrique	Fin
<u>196</u>	12	9	PR	22	Cylindrique	Fin
<u>197</u>	7	5	PN	12	Cylindrique	Fin
<u>198</u>	8	6	PR	12	Cylindrique	Début
<u>199</u>	6	4	PN	10	Cylindrique	Fin
<u>200</u>	6	4	PR	10	Entonnoir	Fin
<u>201</u>	5	3	PR	10	Entonnoir	Pic
<u>202</u>	4	2	PN	8	Entonnoir	Début
<u>203</u>	5	3	PR	12	Entonnoir	Pic

PN : Pie Noire.

PR : Pie Rouge.

N.B : Répartition des prélèvements :

- De prélèvement N° 01 à 05 : *L'exploitation N°I-A (Ferme d'ELALIA -A-),*
- De prélèvement N° 06 à 15 : *L'exploitation N°I-B (Ferme d'ELALIA -B-),*
- De prélèvement N° 16 à 33 : *L'exploitation N°II-A (Ferme de D.E.B -A-),*
- De prélèvement N° 34 à 44 : *L'exploitation N°II-B (Ferme de D.E.B -B-),*
- De prélèvement N° 45 à 54 : *L'exploitation N°II-C (Ferme de D.E.B -C-),*
- De prélèvement N° 55 à 78 : *L'exploitation N°II-D (Ferme de D.E.B -D-),*
- De prélèvement N° 79 à 84 : *L'exploitation N°III-A (Ferme de ROUIBA -A-),*
- De prélèvement N° 85 à 100 : *L'exploitation N°III-B (Ferme de ROUIBA -B-),*
- De prélèvement N° 101 à 114 : *L'exploitation N°IV- A (Ferme de REGHAIA -A-),*
- De prélèvement N° 115 à 129 : *L'exploitation N°IV- B (Ferme de REGHAIA -B-),*
- De prélèvement N°130 à 161 : *L'exploitation N°V (Ferme de l'I.T.ELV),*
- De prélèvement N° 162 à 178 : *L'exploitation N°VI (Ferme de OULED CHEBEL),*
- De prélèvement N°179 à 193 : *L'exploitation N°VII (Ferme de KH'RAISSIA),*
- De prélèvement N° 194 à 203 : *L'exploitation N°VIII (Ferme de BABA ALI).*

ANNEXE-4-

RESULTATS GLOBAUX DES ANALYSES BACTERIOLOGIQUES DE NOS PRELEVEMENTS

Tableau (A) : Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements

N° de prélèvement	Les staphylocoques (présence ou absence).	Les tests de confirmation	
		Coloration de Gram	Test de catalase
<u>01</u>	-	/	/
<u>02</u>	-	/	/
<u>03</u>	-	/	/
<u>04</u>	-	/	/
<u>05</u>	-	/	/
<u>06</u>	-	/	/
<u>07</u>	-	/	/
<u>08</u>	+	+	+
<u>09</u>	-	/	/
<u>10</u>	-	/	/
<u>11</u>	-	/	/
<u>12</u>	-	/	/
<u>13</u>	+	+	+
<u>14</u>	-	/	/
<u>15</u>	-	/	/
<u>16</u>	-	/	/
<u>17</u>	-	/	/
<u>18</u>	+	+	+
<u>19</u>	+	+	+
<u>20</u>	+	+	+
<u>21</u>	-	/	/
<u>22</u>	+	+	+
<u>23</u>	+	+	+
<u>24</u>	+	+	+
<u>25</u>	-	/	/
<u>26</u>	-	/	/
<u>27</u>	+	+	+
<u>28</u>	+	+	+
<u>29</u>	-	/	/
<u>30</u>	-	/	/
<u>31</u>	+	+	+
<u>32</u>	+	+	+
<u>33</u>	-	/	/
<u>34</u>	-	/	/
<u>35</u>	-	/	/
<u>36</u>	-	/	/
<u>37</u>	-	/	/

(+) : présence/ positif.

(-) : absence/ négatif.

Tableau (B) : Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements

N° de prélèvement	Les staphylocoques (présence ou absence).	Les tests de confirmation	
		Coloration de Gram	Test de catalase
<u>38</u>	-	/	/
<u>39</u>	+	+	+
<u>40</u>	-	/	/
<u>41</u>	+	+	+
<u>42</u>	-	/	/
<u>43</u>	-	/	/
<u>44</u>	-	/	/
<u>45</u>	+	+	+
<u>46</u>	-	/	/
<u>47</u>	-	/	/
<u>48</u>	-	/	/
<u>49</u>	-	/	/
<u>50</u>	+	+	+
<u>51</u>	-	/	/
<u>52</u>	-	/	/
<u>53</u>	-	/	/
<u>54</u>	+	+	+
<u>55</u>	-	/	/
<u>56</u>	+	+	+
<u>57</u>	+	+	+
<u>58</u>	-	/	/
<u>59</u>	+	+	+
<u>60</u>	-	/	/
<u>61</u>	-	/	/
<u>62</u>	-	/	/
<u>63</u>	-	/	/
<u>64</u>	+	+	+
<u>65</u>	+	+	+
<u>66</u>	-	/	/
<u>67</u>	+	+	+
<u>68</u>	-	/	/
<u>69</u>	-	/	/
<u>70</u>	-	/	/
<u>71</u>	+	+	+
<u>72</u>	-	/	/
<u>73</u>	+	+	+
<u>74</u>	+	+	+

(+) : présence/ positif.

(-) : absence/ négatif.

Tableau (C) : Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements

N° de prélèvement	Les staphylocoques (présence ou absence).	Les tests de confirmation	
		Coloration de Gram	Test de catalase
<u>75</u>	+	+	+
<u>76</u>	-	/	/
<u>77</u>	-	/	/
<u>78</u>	-	/	/
<u>79</u>	-	/	/
<u>80</u>	-	/	/
<u>81</u>	-	/	/
<u>82</u>	+	+	+
<u>83</u>	-	/	/
<u>84</u>	-	/	/
<u>85</u>	+	+	+
<u>86</u>	-	/	/
<u>87</u>	+	+	+
<u>88</u>	-	/	/
<u>89</u>	+	+	+
<u>90</u>	+	+	+
<u>91</u>	+	+	+
<u>92</u>	+	+	+
<u>93</u>	-	/	/
<u>94</u>	-	/	/
<u>95</u>	+	+	+
<u>96</u>	-	/	/
<u>97</u>	-	/	/
<u>98</u>	-	/	/
<u>99</u>	-	/	/
<u>100</u>	-	/	/
<u>101</u>	-	/	/
<u>102</u>	+	+	+
<u>103</u>	-	/	/
<u>104</u>	-	/	/
<u>105</u>	+	+	+
<u>106</u>	+	+	+
<u>107</u>	-	/	/
<u>108</u>	+	+	+
<u>109</u>	-	/	/
<u>110</u>	+	+	+
<u>111</u>	-	/	/

(+) : présence/ positif.

(-) : absence/ négatif.

Tableau (D) : Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements

N° de prélèvement	Les staphylocoques (présence ou absence des colonies).	Les tests de confirmation	
		Coloration de Gram	Test de catalase
<u>112</u>	-	/	/
<u>113</u>	-	/	/
<u>114</u>	-	/	/
<u>115</u>	+	+	+
<u>116</u>	+	+	+
<u>117</u>	-	/	/
<u>118</u>	+	+	+
<u>119</u>	-	/	/
<u>120</u>	-	/	/
<u>121</u>	-	/	/
<u>122</u>	-	/	/
<u>123</u>	-	/	/
<u>124</u>	-	/	/
<u>125</u>	+	+	+
<u>126</u>	-	/	/
<u>127</u>	-	/	/
<u>128</u>	+	+	+
<u>129</u>	+	+	+
<u>130</u>	-	/	/
<u>131</u>	-	/	/
<u>132</u>	-	/	/
<u>133</u>	-	/	/
<u>134</u>	-	/	/
<u>135</u>	-	/	/
<u>136</u>	-	/	/
<u>137</u>	+	+	+
<u>138</u>	+	+	+
<u>139</u>	-	/	/
<u>140</u>	-	/	/
<u>141</u>	-	/	/
<u>142</u>	-	/	/
<u>143</u>	-	/	/
<u>144</u>	-	/	/
<u>145</u>	-	/	/
<u>146</u>	-	/	/
<u>147</u>	-	/	/
<u>148</u>	-	/	/

(+) : présence/ positif.

(-) : absence/ négatif.

Tableau (E) : Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements

N° de prélèvement	Les staphylocoques (présence ou absence).	Les tests de confirmation	
		Coloration de Gram	Test de catalase
<u>149</u>	-	/	/
<u>150</u>	-	/	/
<u>151</u>	+	+	+
<u>152</u>	-	/	/
<u>153</u>	-	/	/
<u>154</u>	-	/	/
<u>155</u>	-	/	/
<u>156</u>	-	/	/
<u>157</u>	-	/	/
<u>158</u>	-	/	/
<u>159</u>	-	/	/
<u>160</u>	-	/	/
<u>161</u>	-	/	/
<u>162</u>	+	+	+
<u>163</u>	-	/	/
<u>164</u>	-	/	/
<u>165</u>	+	+	+
<u>166</u>	-	/	/
<u>167</u>	+	+	+
<u>168</u>	-	/	/
<u>169</u>	-	/	/
<u>170</u>	-	/	/
<u>171</u>	-	/	/
<u>172</u>	-	/	/
<u>173</u>	-	/	/
<u>174</u>	-	/	/
<u>175</u>	-	/	/
<u>176</u>	-	/	/
<u>177</u>	-	/	/
<u>178</u>	+	+	+
<u>179</u>	+	+	+
<u>180</u>	+	+	+
<u>181</u>	-	/	/
<u>182</u>	+	+	+
<u>183</u>	-	/	/
<u>184</u>	-	/	/
<u>185</u>	-	/	/

(+) : présence/ positif.

(-) : absence/ négatif.

Tableau (F) : Résultats globaux des analyses bactériologiques de nos prélèvements

N° de prélèvement	Les staphylocoques (présence ou absence).	Les tests de confirmation	
		Coloration de Gram	Test de catalase
<u>186</u>	-	/	/
<u>187</u>	-	/	/
<u>188</u>	-	/	/
<u>189</u>	+	+	+
<u>190</u>	-	/	/
<u>191</u>	-	/	/
<u>192</u>	+	+	+
<u>193</u>	-	/	/
<u>194</u>	-	/	/
<u>195</u>	-	/	/
<u>196</u>	+	+	+
<u>197</u>	-	/	/
<u>198</u>	+	+	+
<u>199</u>	-	/	/
<u>200</u>	-	/	/
<u>201</u>	-	/	/
<u>202</u>	+	+	+
<u>203</u>	-	/	/

ANNEXE-5-

COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURES

1. Milieu gélosé de Baird Parker

a). Milieu de base :

+ Peptone pancréatique de caséine.....	10,0 g.
+ Extrait de levure.....	1,0 g.
+ Extrait de viande.....	5,0 g.
+ Chlorure de lithium.....	5,0 g.
+ Agar-agar bactériologique.....	12 g à 22 g.
+ Eau.....	900 ml.
+ Sulfaméthazine.....	25,0 ml.

β). Les réactifs :

- ✓ Tellurite de potassium.
- ✓ Emulsion de jaune d'œuf du commerce.

γ). Milieu complet :

- ✓ Faire fondre le milieu de base, puis refroidir à environ 47 °C au moyen du bain d'eau.
- ✓ Ajouter les réactifs, en mélangeant soigneusement après chaque addition de façon aseptique.
- ✓ Couler la quantité nécessaire du milieu complet dans les boîtes de Petri stériles (4 mm d'épaisseur) et laisser solidifier.

2. Bouillon cœur –cervelle

+ Peptone pepsique de viande.....	10,0 g
+ Extrait de cervelle.....	12,5 g
+ Extrait de cœur.....	5,0 g
+ Glucose.....	2,0 g
+ Chlorure de sodium.....	5,0 g
+ Hydrogéphosphate disodique.....	2,5 g
+ Eau.....	1000 ml

3. Milieu mannitol mobilité :

+ Mannitol.....	2g.
+ Agar.....	4g.
+ Peptone trypsique de viande.....	20g.
+ KNO ₃	1g.
+ Rouge de phénol à 1%.....	4 ml
+ PH 7,6-7,8	

Source : selon la normalisation française : V 08-057-1, Novembre 1994.

ANNEXE-6-

❖ MATERIEL UTILISE: APPAREILLAGE ET VERRERIE

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

- ✓ Etuve, réglable à $37C^{\circ} \pm 1C^{\circ}$;
- ✓ Bain d'eau, ou dispositif similaire réglable à $47C^{\circ} \pm 2 C^{\circ}$;
- ✓ Réfrigérateur réglable à $+4 C^{\circ}$;
- ✓ Autoclave ;
- ✓ Stérilisateur ;
- ✓ Microscope optique ;
- ✓ Tubes à essai et flacons ou fioles de capacité appropriée ;
- ✓ Boîtes de Pétri, stériles, en matière plastique ;
- ✓ Anses de palatine ;
- ✓ Portoirs ;
- ✓ Pipettes pasteurs ;
- ✓ Eprouvettes graduées ;
- ✓ Bec benzène ;
- ✓ Pipettes graduées de capacités de 1ml et 10ml ;
- ✓ Etaleurs en verre stérile ;
- ✓ Agitateur magnétique ;
- ✓ Gants en latex à usage unique ;
- ✓ Glacière et pains de glace ;
- ✓ Marqueur ;
- ✓ Lames et lamelles .

❖ COLORATION DU GRAM

- ✓ 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 x100, x 400, x 1000,
- ✓ Nous avons déterminé alors les caractéristiques des staphylocoques : Gram positif (bactéries colorées en violet), coques, la morphologie de la cellule en microscope optique.

ANNEXE-7-
ARRETE INTERMINISTERIEL

A). Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. p. 16 .

(N° JORA : 069 du 27-10-1993)

Art. 1. - Le présent arrêté a pour objet de définir les spécifications de certains laits destinés à la consommation ainsi que les conditions et les modalités relatives à leur présentation et à leur étiquetage.

SECTION I

LE LAIT

Art. 2. - La dénomination «lait» est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique.

Art. 3. - Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum.

Art. 4. - La dénomination «lait» sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache.

Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination «lait», suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.

Art. 5. - Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire.

SECTION II

SPECIFICATION DU LAIT

Art. 6. - Le lait ne doit pas:

- ✓ être coloré, malpropre ou malodorant;
- ✓ provenir d'une traite opérée moins de sept (07) jours après le part;
- ✓ provenir d'animaux atteints de maladies contagieuses ou de mammites;
- ✓ contenir notamment des résidus antiseptiques, antibiotiques et pesticides;
- ✓ coaguler à l'ébullition;
- ✓ provenir d'une traite incomplète;
- ✓ subir un écrémage même partiel.

En outre, le lait ne doit pas subir:

- ✘ de soustraction ou de substitution de ses composants nutritifs;
- ✘ de traitements, autres que le filtrage ou les procédés thermiques d'assainissement susceptibles de modifier la composition physique ou chimique, sauf lorsque ces traitements sont autorisés.

SECTION III

CLASSIFICATION ET SPECIFICATIONS DES LAITS

Art. 7. - Les laits sont classés, en fonction du nombre de germes totaux, en trois (3) catégories:

- ✓ Catégorie A: moins de 100.000 germes totaux par millilitre;
- ✓ Catégorie B: de 100.000 à 500.000 germes totaux par millilitre;
- ✓ Catégorie C: plus de 500.000 à 2.000.000 de germes totaux par millilitre.

Art. 8. - Le lait doit répondre aux spécifications suivantes:

- ✘ germes totaux maximum deux (02) millions;
- ✘ salmonelle absence;

- ✚ stabilité à l'ébullition stable;
- ✚ acidité en grammes d'acide lactique par litre maximum 1,8;
- ✚ densité 1030 - 1034;
- ✚ matière grasse. 34 grammes par litre au minimum.

SECTION IV

CONDITIONS DE COLLECTE ET DE CONSERVATION AVANT LE TRAITEMENT DU LAIT

Art. 9. - Le lait doit être conservé immédiatement après la traite à une température inférieure ou égale à six (06) degrés Celsius.

Art. 10. - Le lait doit être mis à la disposition des entreprises laitières dans les conditions suivantes:

- ✓ le délai entre la traite et la délivrance du lait aux entreprises laitières, est fixé à quarante-huit (48) heures au maximum;
- ✓ le délai entre la traite et le premier traitement thermique est fixé à soixante-douze (72) heures au maximum.

Fait à Alger, le 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993.

B). Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

(N° JORA : 035 du 27-05-1998)

Art. 1. - Le présent arrêté a pour objet de modifier et de compléter l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

Art. 2. - Les dispositions de l'article 2 de l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 susvisé, sont modifiées et complétées comme suit:

"**Art. 2.** - Les denrées alimentaires concernées par les dispositions du présent arrêté sont:

- ✓ les viandes rouges et blanches ainsi que leurs dérivés;
- ✓ les poissons et autres produits de la pêche;
- ✓ les conserves et les semi-conserves;
- ✓ les ovoproduits, les pâtisseries et les crèmes pâtisseries;
- ✓ les laits et les produits laitiers;
- ✓ les eaux et les boissons non alcoolisées;
- ✓ les graisses animales et végétales;
- ✓ les produits déshydratés;
- ✓ les confiseries;
- ✓ les plats cuisinés;
- ✓ les aliments pour nourrissons et enfants en bas âge".

Art. 3. - Les annexes I de l'article 4, II de l'article 6 et III de l'article 9 de l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 susvisé, sont modifiées et complétées comme suit:

CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS CRU

PRODUITS	n	c	m
<u>Laits cru:</u>			
*germes aérobies a 30°C	1	-	10e5
*coliformes fécaux	1	-	10e3
*Streptocoques fécaux	1	-	abs/0,1 ml
* <i>Staphylocoques aureus</i>	1	-	absence
*clostridium sulfito-réducteurs a46°C	1	-	50
*antibiotique	1	-	absence

1. Laits destinés à la consommation humaine à l'exception des laits infantiles.
2. Dans le cas des produits vendus en vrac: m = 10e2.
3. Est appelée crème maturée, la crème pasteuriséeensemencée par une flore lactique spécifique constituée d'une des espèces suivantes ou d'un mélange de plusieurs de ces espèces:
Streptococcus lactis, Streptococcus cremoris, Streptococcus diacetylac-tis, Streptococcus thermophilus, Leuconostoc citrovorum, Betacoccus cremoris.

Fait à Alger, le 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998.

*Le ministre de la santé et de la population : Yahia GUIDOUM.

* Le ministre du commerce : Bakhti BELAIB.

*Le ministre de l'agriculture et de la pêche : Benalia BELAHOUDJEB.