

Contamination du lait de vache par les salmonelles : étude des conditions d'hygiène et de la contamination des lisiers dans 95 troupeaux livrant un lait non contaminé, étude de l'excrétion mammaire et fécale de salmonelles dans 3 élevages livrant un lait régulièrement contaminé

L. PLASSOT (1), J. MARLY (2), J.L. VIGIER (2)(3), J.L. MENARD (4), P. PARDON (2), A. VALLET (5), V. HEUCHEL (6)

(1) Institut de l'Élevage, C.R.A.N., 6 rue des Roquemonts, 14053 CAEN Cedex

(2) I.N.R.A., Laboratoire de Pathologie Infectieuse et d'Immunologie, 37380 NOUZILLY

(3) adresse actuelle : Direction des Services Vétérinaires, 6 rue Louis Bodin, 41011 BLOIS Cedex

(4) Institut de l'Élevage, Maison de l'Agriculture, B.P. 646, 49006 ANGERS Cedex 01

(5) Institut de l'Élevage, 6 rue de Lourdes, 58000 NEVERS

(6) Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75595 PARIS Cedex 12

RESUME. – Cette étude présente les premiers résultats d'un programme de recherche sur « les origines et les moyens de maîtrise de la contamination du lait de vache par les salmonelles ».

Les proportions d'animaux excréteurs de salmonelles, observées dans trois troupeaux, sont plus élevées que celles annoncées dans la littérature : 7,9 à 65,2 % d'excréteurs dans les fèces et 6 à 16 % dans le lait. Ces pourcentages varient selon les élevages et évoluent dans le temps. Pour remédier à l'excrétion mammaire une association de traitements antibiotiques par voie intramammaire et générale a été expérimentée avec succès. L'étude d'un plus grand nombre d'élevages devrait permettre de vérifier ces premiers résultats et de mieux caractériser la cinétique d'excrétion tant par la mamelle que dans les fèces.

La contamination des lisiers par les salmonelles est observée sur environ 10 % des élevages livrant un lait non contaminé et a tendance à être associée à une plus grande fréquence d'antécédents de salmonellose clinique ou à la présence d'autres ateliers animaux, notamment de volailles hors-sol. Les lisiers contaminés reflètent la présence d'animaux excréteurs par les fèces et constituent un critère de risque de contamination du lait par les salmonelles. Parmi les élevages livrant régulièrement un lait indemne de salmonelles, ceux dont les lisiers sont contaminés maîtrisent mieux l'hygiène que les autres.

Ces résultats préliminaires permettent d'envisager des mesures de lutte contre la contamination du lait par les salmonelles qui devront être validées dans la suite des travaux.

Contamination of cow's milk by salmonella : study of hygiene conditions and contamination of slurries in 95 herds which deliver milk without salmonella, study of mammary and faecal excretion of salmonella in 3 herds which regularly deliver milk contaminated by salmonella

L. PLASSOT (1), J. MARLY (2), J.L. VIGIER (2)(3), J.L. MENARD (4), P. PARDON (2), A. VALLET (5), V. HEUCHEL (6)

(1) Institut de l'Élevage, C.R.A.N., 6 rue des Roquemonts, 14053 CAEN Cedex

SUMMARY. – This study presents the first results of a research program about « the origins and the ways of control of contamination of milk by salmonella ».

The proportions, observed in three herds, of excretory animals are higher than those announced by the literature : 7,9 to 65,2 % excrete in faeces and 6 to 16 % in milk. These percentages vary from herd to herd and evolve with time. To cure mammary excretion of salmonella, an intramammary and general course of antibiotics was tested successfully. The study of a greater number of herds will allow to confirm these preliminary results and to better characterize the kinetics of mammary and faecal excretion.

The contamination of slurries by salmonella affects about 10 % of the herds which regularly deliver milk without salmonella and is statistically associated with a higher frequency of history of clinical salmonellosis and presence of other animal production, in particular poultry. Contaminated slurries reflect the presence of excretory animals in faeces and constitute a criterion of exposure to contamination of milk by salmonella. Among the herds that regularly deliver milk without salmonella, the ones with contaminated slurries better control hygiene than the others.

These preliminary results allow to consider measures to fight against contamination of milk by salmonella that will have to be confirmed by further works.

INTRODUCTION

Dans les pays développés, la salmonellose est une des toxoinfections alimentaires les plus fréquentes. Elle est souvent associée à la consommation d'ovoproduits, de volailles ou d'autres produits carnés contaminés. Plus rarement, des cas liés à la consommation de produits laitiers, et notamment de fromages au lait cru, ont été rapportés (Desenclos et al., 1996).

En l'absence de pasteurisation, la maîtrise de la qualité sanitaire de ces produits repose en grande partie sur la prévention de la contamination du lait par les salmonelles, dès la production. Les facteurs de risque de cette contamination sont peu connus. Ils dépendent vraisemblablement de la prévalence de la salmonellose, de la présence d'animaux excréteurs dans les troupeaux, et plus généralement, des conditions d'hygiène dans les exploitations.

Au sein d'un élevage, les principales sources de salmonelles sont les fèces des animaux malades ou porteurs asymptomatiques. L'excrétion est particulièrement élevée en période péri-partum (Morisse et al., 1984, Morisse et al., 1992). En dehors de cette période, les connaissances sur la fréquence, la cinétique et les facteurs déterminants de l'excrétion par les porteurs chroniques sont limitées. Les vecteurs essentiels de salmonelles sont les aliments souillés. L'excrétion dans le lait a été décrite (Gilles et King, 1987, Marly et al., 1997a, Wray et Sojka, 1977) mais semble rare. D'un élevage à l'autre, la dissémination des salmonelles s'effectue par l'eau, par les aliments solides ou par les déjections (lisiers).

Les travaux présentés ici correspondent à la première étape d'un programme de recherche de trois ans, commencé en 1997, sur les origines et les moyens de maîtrise à la production de la contamination du lait par les salmonelles. Ce programme prévoit notamment la réalisation d'une enquête épidémiologique de type cas-témoin sur deux lots d'élevages appariés, recrutés à partir des plans de surveillance des laiteries et livrant respectivement des laits contaminés ou non contaminés par les salmonelles. Préalablement à cette enquête, les objectifs étaient les suivants :

- l'analyse de la contamination des lisiers et des conditions d'hygiène dans les exploitations n'ayant jamais livré de lait contaminé, en vue d'établir des règles de recrutement des élevages témoins.
- l'étude de l'excrétion mammaire et fécale de salmonelles dans trois troupeaux livrant régulièrement un lait contaminé afin de définir les bases d'un protocole d'intervention en élevage et de contribuer à la mise au point d'une méthode de dépistage des animaux « à risques » par un test ELISA (Marly et al., 1997c).

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1 ÉTUDE DES CONDITIONS D'HYGIÈNE ET DE LA CONTAMINATION DES LISIERS DANS 95 TROUPEAUX LIVRANT RÉGULIÈREMENT UN LAIT NON CONTAMINÉ

95 troupeaux ont été sélectionnés par tirage aléatoire dans une population de 300 élevages situés sur une zone de collecte destinée à la fabrication de fromages au lait cru et livrant régulièrement un lait non contaminé depuis plusieurs années.

Une enquête sur les antécédents de salmonellose clinique et les conditions d'hygiène (logement et propreté des animaux, hygiène du matériel de traite, hygiène de la traite, mode de stockage des déjections, présence d'autres ateliers animaux sur l'exploitation) a été réalisée dans chaque élevage durant l'automne 1996. Parallèlement, deux séries de prélèvements ont été effectuées à deux semaines d'intervalle sur le lait de

troupeau et les effluents (lisiers et fumiers), en vue d'analyses bactériologiques.

Les caractéristiques respectives des élevages présentant ou non des lisiers contaminés par des salmonelles, recueillis au cours de l'enquête, ont été comparées par un test de Chi-deux.

1.2. ÉTUDE DE L'EXCRÉTION MAMMAIRE ET FÉCALE DE SALMONELLES DANS TROIS TROUPEAUX LIVRANT RÉGULIÈREMENT UN LAIT CONTAMINÉ

Dans trois troupeaux livrant régulièrement un lait contaminé, deux à trois séries successives de prélèvements individuels sur les laits de quartiers et les matières fécales ainsi que sur les laits de troupeau ont été réalisées sur une période de moins de six mois. La contamination de l'environnement a également été évaluée à partir de prélèvements réalisés sur les fourrages, les concentrés, les lisiers et l'eau en différents points : à l'origine, dans les abreuvoirs, résidu du nettoyage de la machine à traire et dans le seau contenant les lavettes propres à différents moments de la traite.

1.3. RÉALISATION DES PRÉLÈVEMENTS ET ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES

Les prélèvements de laits de quartiers ont été réalisés pendant la traite, en conditions aseptiques : désinfection des trayons à l'alcool à 70°, après élimination des premiers jets et préparation de la mamelle par l'éleveur.

Les prélèvements de fèces ont été effectués directement dans le rectum.

Les échantillons de lait de troupeau ont été prélevés dans la cuve de réfrigération contenant le produit de deux traites au moins.

L'ensemble des échantillons a été analysé selon le protocole décrit dans le schéma 1.

De plus, dans le cadre de l'étude de l'excrétion mammaire et fécale, le niveau de contamination des effluents a été estimé par la méthode du Nombre le Plus Probable.

2. RÉSULTATS

2.1. ÉLEVAGES LIVRANT UN LAIT NON CONTAMINÉ

La contamination des lisiers par les salmonelles a été observée dans 10 élevages sur les 95 étudiés. Les principales caractéristiques distinguant ces élevages des autres sont les suivantes :

- une suspicion plus fréquente d'antécédents de salmonellose clinique : 2 élevages sur les 10 produisant des lisiers contaminés, contre 2 élevages sur les 85 autres,
- une présence plus fréquente d'une autre production animale et notamment d'ateliers hors-sol de volailles : parmi les 10 élevages avec des lisiers contaminés, 9 exploitent un autre atelier de production animale, dont 2 cas de volailles hors-sol. Parmi les 85 élevages témoins, 52 disposent d'un autre atelier animal, dans 2 cas il s'agit de volailles hors-sol,
- des animaux plus propres traduisant une hygiène du logement plus rigoureuse.

Les effectifs étant très faibles pour certaines variables, ces résultats doivent être interprétés avec précaution et devront être confirmés dans la suite de l'étude.

2.2 EXCRÉTION MAMMAIRE ET FÉCALE DE SALMONELLES DANS TROIS ÉLEVAGES LIVRANT RÉGULIÈREMENT UN LAIT CONTAMINÉ

Les résultats des analyses bactériologiques, obtenus à partir de prélèvements réalisés dans les trois élevages suivis, sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1
Contamination par les salmonelles des élevages 1, 2 et 3

Dates de prélèvement	Elevage 1			Elevage 2		Elevage 3			
	16/07/96	02/08/96	13/8/96 ⁽¹⁾	16/12/96	21/01/97	10/02/97	26/02/97	27/05/97 ⁽²⁾	09/06/97
Lait de quartier									
nombre de vaches prélevées	17	1	1 (320)	43	18	40	9	9	3
vaches positives (quartiers) ⁽³⁾	320(D) 220/ml	320(D) 45/ml	0	512(C), 629, 703, 705, 811	512(D), 632, Gastonne	305(A), 311, 313	305(B)	314(A et B)	305(A)
sérogroupe	B	B		B	B	B	B	B	B
Fèces									
nombre d'animaux prélevés	20	1	0	46	44	45	45	38	0
nombre d'animaux positifs	0	0	0	30 (65 %)	24 (55 %)	10 (22 %) ⁽⁴⁾	5 (11 %)	3 (8 %)	0
sérogroupe	-	-	-	B	B	C	C	C	-
Lait de troupeau									
	-	-	-	sérogroupe B	N.C.	sérogroupe B	-	N.C.	N.C.
Eau									
origine	N.C.	-	-	N.C.	-	N.C.	-	-	-
abreuvoirs	N.C.	-	-	sérogroupe B	-	sérogroupe C	sérogroupe C	-	-
lavettes en cours de traite	N.C.	-	-	N.C. ⁽⁵⁾	-	-	-	-	-
nettoyage	N.C.	-	-	-	-	N.C.	-	-	-
Aliments	N.C.	-	-	N.C.	-	N.C.	-	-	-
Lisiers									
sérogroupe	-	-	-	B	B	C	C	C	-
dénombrement (UFC/ml)	-	-	-	-	≥ 1 100	24 à 75	46 à 240	-	-

N.C. : non contaminé ; - : non prélevé

(1) après traitement antibiotique

(2) deux mois et demi après la mise à l'herbe

(3) identification des quartiers : A=avant droit, B=arrière droit, C=avant gauche, D=arrière gauche

(4) dont les vaches n°311 et 313

(5) utilisation d'un savon désinfectant

Dans l'élevage 1, déjà décrit par Marly et al (1997a), un épisode de salmonellose clinique à *Salmonella typhimurium* s'est déclaré en 1994. Le lait de cet élevage s'est ensuite avéré contaminé par *S. typhimurium* de façon intermittente puis régulièrement à partir de Novembre 1995.

Les analyses bactériologiques ayant révélé une vache excrétrice dans le lait, un antibiogramme a été réalisé sur la souche isolée du quartier concerné puis l'animal a été traité par voie générale (colistine) et par voie mammaire (gentamicine). Onze jours après le traitement (délai d'attente) le nombre de salmonelles était devenu inférieur au seuil de détection (1 pour 25 ml). Après le vêlage qui a suivi, en novembre 1996, de nouveaux prélèvements de lait du quartier excréteur se sont encore révélés négatifs.

Dans l'élevage 2, une génisse a été atteinte de salmonellose clinique en octobre 1996. Pendant les six semaines qui ont suivi, le lait livré s'est révélé régulièrement contaminé. Ensuite la contamination est devenue intermittente. Au printemps 1997, les animaux ont été mis à l'herbe. Depuis, les analyses de lait de troupeau réalisées mensuellement par la laiterie ont toujours été négatives.

Aucun épisode de salmonellose clinique n'a été enregistré dans l'élevage 3 qui livre régulièrement un lait contaminé par des salmonelles du groupe B. Cette exploitation comporte également deux poulaillers industriels ; une analyse sur les fientes de volailles a révélé une contamination par des salmonelles du groupe C.

3. DISCUSSION

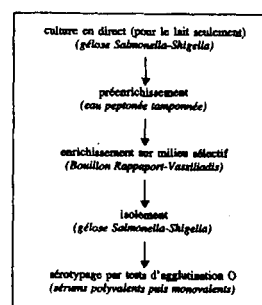
3.1. REPÉRAGE D'ANIMAUX EXCRÉTEURS DANS LES FÈCES

Parmi les trois troupeaux livrant régulièrement un lait contaminé, l'élevage 1, deux ans après un épisode de salmonellose clinique à *S. typhimurium*, ne présente plus aucune vache excrétrice dans les fèces, ce qui est conforme à de précédentes observations (Morisse et al, 1984, Wray et Sojka, 1977). Dans les deux autres troupeaux, les taux d'excrétion dans les fèces varient de 8,9 % (soit 3 vaches sur 38 dans l'élevage 3 sans antécédent de salmonellose clinique) à 65 % (soit 30 vaches sur 46 dans l'élevage 2 ayant connu un cas de salmonellose clinique). Ces derniers pourcentages sont supérieurs aux données rapportées dans la littérature : Morisse

et al (1992) enregistrent 6,9 à 8,9 % de coprocultures positives à une date donnée, respectivement dans des troupeaux sans et avec antécédent de salmonellose clinique. Dans un élevage à antécédent de salmonellose clinique, Gay et Hunsaker (1993) signalent 13 à 25 % de vaches excrétrices dans les fèces.

Dans l'élevage 3, la proportion d'animaux excréteurs est maximale en période de stabulation hivernale et diminue au printemps, lorsque les animaux sont au pâturage. De telles variations ont déjà été décrites (Gay et Hunsaker, 1993, Marly et al, 1997b) et s'expliquent vraisemblablement par une pression microbienne et des risques de recontamination des animaux entre eux plus faibles au pâturage.

Schéma 1 Méthode de recherche des salmonelles



3.2. CONTAMINATION DES LISIERS

La présence concomitante dans les élevages 2 et 3 d'animaux excréteurs de salmonelles dans les fèces et de lisiers contaminés par des salmonelles du même sérogroupe conforte l'idée selon laquelle des lisiers contaminés constituent un bon indicateur de la présence d'animaux excréteurs dans les fèces.

Dans l'élevage 2, où, en période hivernale, plus de la moitié des animaux excrètent des salmonelles dans les fèces, les lisiers sont fortement contaminés (>1 100 salmonelles/ml) et le lait de troupeau contient régulièrement des salmonelles. Après la mise à l'herbe, la contamination du lait de troupeau n'est plus décelable. Selon l'hypothèse émise pour l'élevage 3, la pression de contamination fécale au pâturage est vraisemblablement moindre et le risque de contamination du lait

de troupeau via l'environnement est plus faible. Par ailleurs, environ 10 % seulement des 95 élevages livrant régulièrement un lait indemne de salmonelles présentent des lisiers contaminés.

Dans un objectif pratique de maîtrise de la contamination du lait à la ferme, il est nécessaire de disposer d'indicateurs synthétiques de l'exposition au risque de contamination du lait à la ferme. D'après ces premiers résultats, la contamination des lisiers semble constituer un critère d'exposition intéressant. Parmi les 95 élevages livrant un lait non contaminé, l'analyse comparée des caractéristiques respectives des troupeaux présentant des lisiers contaminés ou non suggère deux facteurs de risques de la contamination de ces lisiers par les salmonelles : un antécédent de salmonellose clinique ou de suspicion de salmonellose clinique et l'existence d'autres ateliers animaux sur l'exploitation (volailles en particulier). L'étude de ces facteurs de risques sera approfondie au travers d'une enquête épidémiologique de type cas-témoin qui comparera les caractéristiques d'élevages cas livrant un lait contaminé par des salmonelles à celles d'élevages témoins livrant un lait indemne de salmonelles et dont les lisiers ne sont pas contaminés. Parallèlement, la plus grande maîtrise de l'hygiène du logement observée dans les élevages dont les lisiers sont contaminés mais qui livrent régulièrement un lait indemne de salmonelles constitue un axe de travail à privilégier dans la suite du programme pour remédier à un éventuel problème de contamination environnementale du lait par des salmonelles. Le suivi, hors de l'enquête cas-témoin, des 10 % environ d'élevages témoins dont les lisiers sont contaminés, devrait permettre de préciser les facteurs qui permettent de faire barrière à la contamination du lait dans un élevage où l'environnement est contaminé.

3.3. REPÉRAGE D'ANIMAUX EXCRÉTEURS PAR LA MAMELLE

Des vaches excrétaient des salmonelles par la mamelle ont été identifiées dans les trois élevages livrant un lait contaminé : 1 vache sur 17 dans l'élevage 1, 7 vaches sur 43 dans l'élevage 2 et 4 vaches sur 40 dans l'élevage 3.

En dehors des épisodes cliniques et dans les troupeaux sans antécédent de salmonellose, l'excrétion mammaire est généralement considérée comme rare (Gibson, 1965, Morisse et al, 1984, Wray et Sojka, 1977). Elle n'a généralement été observée que sur une seule vache par troupeau (Gibson, 1965, Giles et King, 1987, Ogilvie, 1986). Or, dans la présente étude, elle a été mise en évidence sur plusieurs vaches

dans deux troupeaux dont un ne présentant pas d'antécédent de salmonellose clinique.

Ces premiers résultats demandent à être confirmés sur un effectif plus important et ne reflètent pas la nature des facteurs qui interviennent dans la colonisation de la mamelle par les salmonelles, particulièrement au niveau du troupeau. Par ailleurs, les différentes séries de prélèvements réalisées sur les élevages 2 et 3, au cours desquelles on ne met pas toujours en évidence les mêmes animaux excréteurs dans le lait, porte à croire que cette excrétion est un phénomène intermittent qui rend difficile le dépistage par analyses bactériologiques. La vérification de cette hypothèse, ainsi que l'étude de la cinétique de l'excrétion fécale et mammaire, seront réalisées en station expérimentale, dans le cadre de ce même programme de recherche. Une méthode de dépistage par un test ELISA est également en cours de mise au point (Marly et al, 1997c).

Dans l'élevage 1, le traitement antibiotique testé sur une vache qui excrétaient des salmonelles par un seul quartier et qui ne présentait pas de signe clinique s'est avéré efficace. Ce résultat original devra être validé dans la suite des travaux.

CONCLUSION

L'étude de 95 élevages dans une zone de collecte destinée à la fabrication de fromages au lait cru a permis d'estimer à environ 10 % la fréquence de la contamination des lisiers par des salmonelles. Ces résultats confirment les données de la bibliographie. Ils conditionnent les règles de recrutement des élevages témoins pour la future étude des facteurs de risques de la contamination du lait.

L'analyse approfondie de trois troupeaux livrant régulièrement un lait contaminé par des salmonelles a mis en évidence la présence d'animaux excréteurs dans le lait et/ou dans les fèces.

Des mesures de lutte contre la contamination du lait par les salmonelles, comme la maîtrise de l'hygiène et le traitement antibiotique des animaux excréteurs par la mamelle, peuvent être envisagées. Elles devront être validées dans la suite des travaux.

REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié du soutien financier de l'A.C.T.A.. Il a été réalisé en collaboration avec trois groupes laitiers, deux Groupements de Défense Sanitaire et deux Groupements Techniques Vétérinaires.

RÉFÉRENCES

- DESENCLOS J.C., BOUVET P., BENZ-LEMOINE E., GRIMONT F., DESQUEYROUX H., REBIERE I., GRIMONT P.A., 1996. B.M.J., Vol. 312, 13/01/96, 91-94
- GAY J.M., HUNSAKER M.E., 1993. JAVMA, 203(9), 1314-1320
- GIBSON E.A., 1965. J. Dairy Res., 32, 97-134
- GILES N., KING S.C., 1987. Vet. Rec., 120-123
- MARLY J., MENARD J.L., LEBRIZE P., 1997a. Proceedings of symposium « Salmonella and salmonellosis », May 20-22, Ploufragan, 393-394
- MARLY J., PARDON P., LEBRIZE P., 1997b. Proceedings of symposium « Salmonella and salmonellosis », May 20-22, Ploufragan, 391-392
- MARLY J., VIGIER J.L., PARDON P., 1997. Renc. Rech. Ruminants, 4, cet ouvrage
- MORISSE J.P., COTTE J.P., HUONNIE D., 1984. Point Vétérinaire, 15 (78), 647-651
- MORISSE J.P., COTTE J.P., ARGENTE G., DANIEL I., 1992. Ann. Méd. Vét., 136, 403-409
- OGILVIE T.H., 1986. Can. Vet. J., 27, 329-331
- WRAY C., SOJKA W.J., 1977. J. Dairy Res., 44, 383-425