

Nouveauté en matière de diagnostic des mammites dues à *Staphylococcus aureus*

Août 2014

Auteurs

Renate Boss
Hans Graber



Renate Boss, Agroscope

Les mammites sont la maladie la plus fréquente de la vache laitière et engendrent des pertes annuelles pour l'industrie laitière suisse d'un montant de CHF 130 millions de francs. Parmi les agents pathogènes les plus répandus, on trouve *Staphylococcus aureus* (abrégé *Staph. aureus*). Chez les humains, ce microorganisme peut provoquer des intoxications alimentaires. Agroscope a élaboré une nouvelle méthode de détection issue de la biologie moléculaire et destinée à l'agriculture et à l'industrie laitière.

Comment *Staphylococcus aureus* parvient-il dans le lait?

Le lait d'une vache saine est exempt de germes. D'où proviennent alors les *Staphylococcus aureus*? Généralement de l'environnement, d'où ils passent ensuite

dans le lait lors de la traite. Ils proviennent aussi du lait de vaches atteintes de mammites (infection).

Dans le premier cas, on peut agir assez simplement par l'application de mesures d'hygiène strictes dans l'exploitation et éviter ainsi une contamination. Par contre, le dépistage d'une vache atteinte de mammites est plus difficile. Pour qu'une mammites se déclare, plusieurs facteurs doivent être réunis (maladie factorielle). Une hygiène et une technique de traite insuffisantes, une installation de traite défectueuse et une mauvaise gestion de la traite sont des facteurs favorisants. Si l'un ou plusieurs de ces facteurs entrent en jeu, certaines bactéries, en particulier *Staph. aureus*, peuvent s'installer et provoquer une mammites.



La problématique de *Staph. aureus* chez les vaches laitières

Mis à part des infections lors de blessures ouvertes, *Staph. aureus* provoque chez les vaches surtout des **mammites**. Parmi les agents de la mammité, on trouve différentes sous-espèces (génotypes) de *Staph. aureus* avec diverses propriétés; parmi elles, le **génotype B (GTB)**, particulièrement craint, car il se transmet facilement et peut infecter des troupeaux entiers. Les mammites peuvent passer inaperçues pendant une longue période, car *Staph. aureus* GTB ne déclenche souvent que des infections latentes (mammites subcliniques chroniques). La mamelle et le lait semblent normaux à l'œil nu et ne présentent aucun signe d'infection. Pourtant les vaches atteintes présentent des taux de cellules plus élevés, excrètent des agents pathogènes avec le lait, et leur production laitière est réduite.

D'autres génotypes de *Staph. aureus* sont aussi à l'origine de mammites, mais n'infectent généralement que quelques animaux dans le troupeau.



Photo gauche: Mamelle saine à l'examen visuel
Photo droite: Test de Schalm positif (en bas, à droite)

Il est indispensable de traiter les vaches atteintes de mammites. Le succès du traitement est cependant faible dans le cas d'une infection par *Staph. aureus* et la seule solution est souvent l'abattage. Le remplacement des animaux abattus, les frais vétérinaires et la perte de production laitière représentent chaque année des préjudices financiers élevés pour les agriculteurs.

La problématique de *Staph. aureus* dans la transformation du lait

Staph. aureus représente aussi un problème pour les établissements de transformation du lait, en particulier dans la fabrication de **produits au lait cru**, dont font partie les fromages suisses traditionnels.

Staph. aureus peut se multiplier à partir d'un nombre initial de germes de 1'000 germes/ml et à une température d'entreposage du lait de 18°C. Dans ces conditions, il peut atteindre plus de 10'000 germes/ml en l'espace de 16-18h. Par la concentration de la matière sèche d'un facteur de 10 pendant la formation du grain et donc l'enrichissement physique des germes, le nombre critique de 100'000 germes/ml est rapidement atteint dans le caillé frais. En raison de températures favorables pendant la pré-maturation, la coagulation du lait de cuve et la formation du grain, les staphylocoques continuent à se multiplier fortement. Dans la fabrication du fromage à pâte mi-dure, dans laquelle la température de chauffage ne dépasse généralement pas 46°C, la multiplication des staphylocoques continue pendant le pressage et ne s'arrête que vers la fin de l'acidification.

Par conséquent, lors de la transformation de lait fortement contaminé en *Staph. aureus*, on ne peut exclure une teneur élevée d'**entérotoxines de staphylocoques** dans le fromage en fin d'affinage. Ces toxines résistent à l'affinage du fromage. Ce type de situation survient régulièrement et rend le fromage impropre à la consommation, mais il est impossible de le détecter à l'œil nu.

La problématique de *Staph. aureus* chez les consommateurs

La formation d'entérotoxines par *Staph. aureus* dans les denrées alimentaires est aussi un problème pour les consommateurs-trices. Les toxines, ingérées avec la nourriture, provoquent chez les consommateurs-trices des **intoxications alimentaires** caractérisées par de violentes gastroentérites, des maux de tête et une faiblesse généralisée. Un traitement de ces patient-e-s est indispensable. *Staph. aureus* GTB a le pouvoir de produire différentes entérotoxines, entre autres les fameuses entérotoxines A et D. Des intoxications alimentaires dues au GTB ont été relevées à plusieurs reprises.

Les méthodes de diagnostic actuelles

Depuis des décennies, on détecte les mammites dues à *Staph. aureus* à l'aide d'analyses bactériologiques du lait. Cette méthode n'est toutefois pas **très sensible**, autrement dit, la présence de faibles quantités de germes ne peut pas être détectée. Il en résulte un diagnostic faux négatif avec le risque d'une nouvelle propagation dans le troupeau et de nouvelles contaminations du lait par *Staph. aureus*.

On sait aussi que les quantités de *Staph. aureus* excrétées par les vaches malades fluctuent fortement (fig. 1/rouge). Or, les nouvelles méthodes de biologie moléculaire (PCR) sont beaucoup plus sensibles et peuvent donc détecter dans le lait des quantités de germes nettement plus faibles (fig. 1/bleu). Ainsi, le prélèvement d'échantillons pour la détection de *Staph. aureus* est possible à tout moment (on évite les résultats faux négatif).



Photo gauche: Echantillons de lait prêts pour analyse
Photo droite: Milieux de culture avec des colonies de *Staph. aureus*

Renate Boss, Agroscope

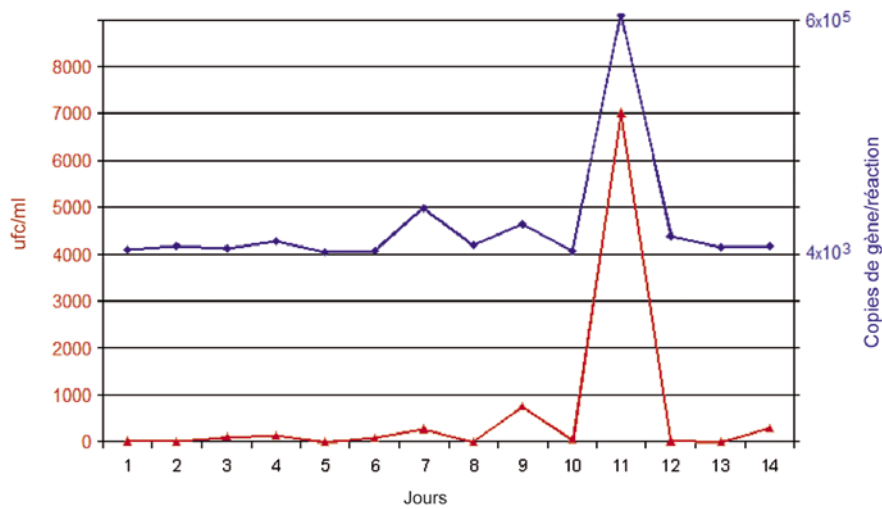
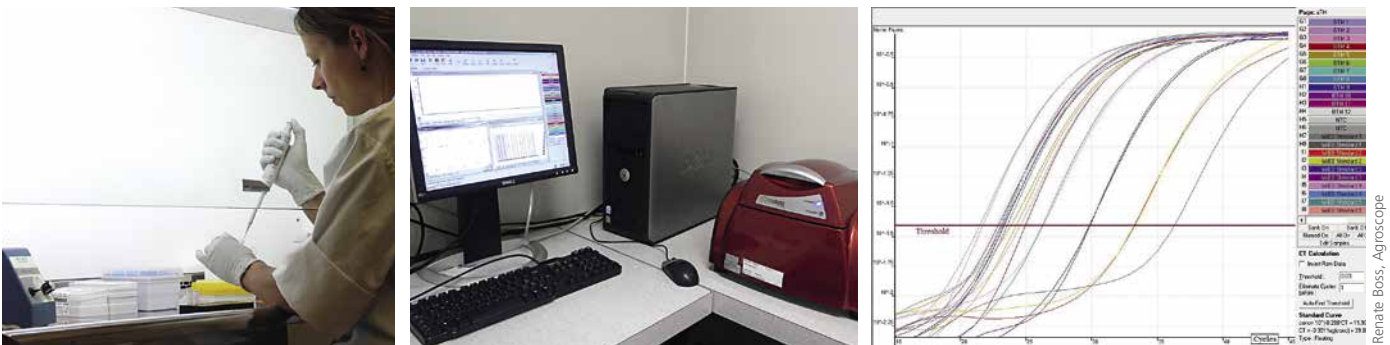


Fig. 1: Rouge: courbe de l'excrétion de *Staph. aureus* dans le lait d'une vache atteinte de mammite pendant 14 jours (analyse bactériologique traditionnelle). Le onzième jour, de très grandes quantités de germes ont été excrétées, alors que pendant les jours 1, 2, 5, 8, 10, 12, 13, aucun *Staph. aureus* n'a pu être mis en évidence. Bleu: à l'inverse de l'analyse bactériologique (en rouge), l'analyse PCR (bleu) a permis de détecter, dans les mêmes échantillons de lait, des *Staph. aureus* tout au long des 14 jours, car cette méthode est beaucoup plus sensible.



Renate Boss, Agroscope

Les méthodes d'analyse microbiologiques présupposent en outre que les échantillons de lait soient prélevés à la mamelle de la vache de façon stérile pour exclure toute

contamination externe par *Staph. aureus* (bactérie présente naturellement sur la peau des hommes et des animaux) et pour déterminer les agents pathogènes en cause.

Une nouvelle méthode de diagnostic pour détecter *Staph. aureus* GTB

Dans le cadre d'un projet financé par l'Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV) et la branche laitière, Agroscope a développé, en collaboration avec la faculté Vetsuisse de l'Université de Berne, une nouvelle méthode d'analyse qui détecte **exclusivement** le très contagieux *Staph. aureus* GTB présent dans le lait. Cette nouvelle méthode simplifie sensiblement le prélèvement de l'échantillon, car on peut désormais renoncer au prélèvement compliqué d'échantillons de lait stériles. Un nettoyage de la mamelle avant la traite, effectué selon les recommandations, suffit. La sensibilité du procédé est telle que l'on parvient à détecter une vache contaminée par le GTB parmi plus de 100 vaches en bonne santé dans un seul échantillon de lait de citerne. En plus des échantillons de lait de citerne ou de lait des fournisseurs, il est aussi possible d'analyser des échantillons individuels.



Renate Boss, Agroscope

Recherche et prestations chez Agroscope

Agroscope mène une recherche intensive sur *Staph. aureus*. Actuellement, une étude de grande ampleur est en cours: elle consiste à assainir les exploitations positives au GTB puis à les surveiller afin de déterminer le potentiel de la nouvelle méthode de diagnostic à des fins d'assainissement. En outre, des stratégies adaptées doivent être élaborées pour éliminer *Staph. aureus* GTB le plus efficacement possible des exploitations touchées. Si une exploitation laitière est intéressée à participer à cette étude, elle peut s'adresser sans engagement à Agroscope (adresse de contact ci-dessous).

La détection de *Staph. aureus* GTB dans le lait est une prestation d'Agroscope destinée, dans une mesure limitée, aux vétérinaires et aux transformateurs de lait. Pour davantage d'informations ou pour obtenir un formulaire de demande d'analyse, veuillez svp nous contacter.

Contact:

Hans Graber,
e-mail: hansulrich.graber@agroscope.admin.ch,
téléphone: 058 465 57 38.

Impressum

Auteur	Renate Boss, renate.boss@agroscope.admin.ch Hans Graber, hansulrich.graber@agroscope.admin.ch
Editeur	Agroscope, www.agroscope.ch
Renseignements	Agroscope, Schwarzenburgstrasse 161, 3003 Berne, Suisse Téléphone: +41 31 323 84 18 bestellungen@agroscope.admin.ch
Rédaction	Olivier Bloch, Agroscope
Mise en page	RMG Design, Fribourg
Impression	Sonderegger Druck AG, Weinfelden
Copyright	Reproduction autorisée sous condition d'indication de la source et de l'envoi d'une éprouve à l'éditeur.

ISSN 2296-7230 (Online)



Renate Boss, Agroscope

Les avantages

- Sensibilité et spécificité élevées.
- Analyse d'échantillons individuels de lait de vache et d'échantillons de lait de citerne (lait de citerne de l'exploitation, lait des fournisseurs).
- Utilisation pour la surveillance des exploitations: la réapparition de *Staph. aureus* GTB dans une exploitation peut être rapidement détectée.

Les inconvénients

- Lors du prélèvement des échantillons de lait, il faut éviter toute contamination des échantillons entre eux, car de faibles quantités de lait étranger positif au GTB suffisent à générer un résultat faux négatif. Cette méthode n'est donc pas adéquate au prélèvement automatisé sur le camion-citerne ni au prélèvement des échantillons individuels pour l'épreuve de productivité laitière.
- Cette méthode ne convient pas non plus à l'analyse des échantillons contenant du bronopol ou d'autres antibiotiques, car ceux-ci ne permettent pas l'enrichissement nécessaire à la détection.