

Origines et prévention de la contamination du lait cru par *Listeria monocytogenes*

J.L. MÉNARD (1), M. SANAA (2)

(1) Institut de l'Elevage - 14 avenue Joxé - BP 646 - 49006 Angers Cedex 01

(2) Laboratoire d'épidémiologie et de gestion de la santé animale de l'E.N.V.A.
7, avenue du Général de Gaulle - 94704 Maisons Alfort

RÉSUMÉ – Une enquête cas/témoin réalisée dans 128 élevages, et la recherche des sources de contamination dans 33 élevages cas montrent la vraisemblance de deux voies de contamination du lait de vache par *Listeria monocytogenes* :

- l'environnement est l'origine la plus fréquente : les ensilages mal conservés constituent la principale source primaire. Les vecteurs sont les bouses et la contamination a lieu lors de la traite,

- la présence d'une vache excrétrice atteinte d'une mammite subclinique à *L. monocytogenes* est responsable d'une contamination durable du lait de troupeau. Cette voie de contamination est rare (3 élevages sur 33). Dans ce cas, ces vaches infectées doivent être identifiées et éliminées. A partir de ces résultats, les principes d'une démarche de diagnostic et de conseil en élevage ont été définis. Cette démarche est actuellement appliquée dans des zones de collectes destinées à la fabrication de fromages au lait cru.

Origins and prevention of raw milk by *Listeria monocytogenes*

J.L. MÉNARD (1), M. SANAA (2)

Renc. Rech. Ruminants, 1994, 1, 265 – 268

SUMMARY – A case/control survey in 128 dairy farms and the research of raw milk contamination's origins by *L. monocytogenes* in 33 case farms show two sources :

- environmental sources are very frequent : poor quality of silage and fecal material are the first sources of contamination. Hygienic measures seem necessary to prevent *L. monocytogenes* contamination of raw milk, particularly in the milk parlor ;

- a single cow with subclinical mastitis caused by *L. monocytogenes* induces a durable contamination of bulk raw milk. This uncommon source was only identified in 3 herds. Cows with mastitis must be identified and culled.

According to these results, program based on diagnosis and improvements of the management was set up in herds producing bulk milk contaminated by *L. monocytogenes*. This program was initiated in the regions producing raw milk cheeses.

INTRODUCTION

Listeria monocytogenes est un agent pathogène d'origine alimentaire que l'on peut retrouver dans les produits laitiers. La pasteurisation permet un assainissement efficace du lait avant sa transformation, mais elle ne peut être appliquée dans le cas des fromages au lait cru qui représentent en France près de 12 % du tonnage annuel et environ le quart du chiffre d'affaires fromager. Les estimations de la fréquence de contamination des laits crus collectés varient de 1 à 9 % selon les auteurs (FARBER et PETERKIN, 1991).

Les principaux résultats d'une étude sur les origines de cette contamination (SANAA, 1993 ; SANAA et al, 1993), ainsi que les actions préventives engagées au niveau de la production dans les zones de fabrications au lait cru, sont présentés successivement.

1. ORIGINE ET FACTEURS DE LA CONTAMINATION DU LAIT DE VACHE PAR *L. MONOCYTOGENES*

1.1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été réalisée dans une zone de collecte destinée à la fabrication de fromage au lait cru de vache, regroupant plus de 2 000 exploitations laitières. Une enquête de type cas/témoin a été réalisée dans 128 exploitations afin de mesurer les liaisons entre les conditions d'élevage et la contamination du lait par *L. monocytogenes*. Une exploitation cas produisait un lait contaminé par *L. monocytogenes*. Une exploitation témoin produisait un lait non contaminé par *Listeria spp.*

L'incidence de la contamination de l'environnement sur celle du lait a été évaluée à partir de recherches de *Listeria* dans des prélèvements d'ensilages et de matières fécales dans 24 exploitations cas et 26 témoins.

Afin d'évaluer la part des origines intra et extramammaires, les sources de contamination ont été recherchées dans 33 élevages cas. Les souches de *L. monocytogenes* ainsi isolées dans l'environnement ou dans les laits individuels ont été comparées à l'aide de la sérotypie et de la lysotypie aux souches isolées dans les laits de troupeau.

1.2. RÉSULTATS - DISCUSSION

1.2.1. Facteurs de risque liés aux conditions d'élevage

Les facteurs associés à la contamination du lait par *L. monocytogenes* concernent :

- les ensilages mal conservés : pH supérieur à 4,0 en zone centrale et en zone périphérique des ensilages, chargement insuffisant de la bâche au front d'attaque,
- les conditions de logement des animaux : propreté insuffisante des vaches, entretien défectueux de l'aire d'exercice, surface de couchage par vache inférieure à 5 m²,
- la traite : éclairage insuffisant, nettoyage du parc d'attente et propreté du local de traite défectueux, absence de lavettes individuelles, non-désinfection des lavettes.

Une régression logistique a permis d'apprécier la relation de chacun de ces facteurs avec la contamination du lait conditionnellement à tous les autres facteurs étudiés. Le fait

que les trois groupes de facteurs (ensilage, logement et traite) aient, malgré leur dépendance, un poids significatif dans cette régression, conforte l'hypothèse de l'existence de plusieurs vecteurs successifs de contamination.

Parmi l'ensemble des critères caractérisant la qualité de conservation des ensilages, le pH est celui qui apparaît le plus lié à la contamination du fourrage :

- lorsque le pH est strictement inférieur à 4,0, la présence de *L. monocytogenes* et/ou *innocua* est possible (44 % des prélèvements) à des niveaux faibles (présence après enrichissement),

- lorsque le pH est supérieur à 4,0, la présence de *Listeria* est fréquente (80 % des prélèvements) à des niveaux parfois très élevés (jusqu'à 10⁷ par gramme de fourrage).

Ces résultats confirment ceux publiés par DONALD et al (1992) qui montrent également que les fourrages les moins contaminés sont ceux dont la teneur en matière sèche est la plus élevée.

La contamination des ensilages et des bouses par *L. monocytogenes* est beaucoup plus fréquente dans les élevages livrant un lait contaminé. La présence de *L. monocytogenes* dans les ensilages et/ou dans les bouses multiplierait le risque de contamination du lait par 20,8 (tableau 1). Les élevages témoins ayant un environnement contaminé appliquaient des mesures d'hygiène de logement et de la traite très rigoureuses.

1.2.2. Voies de contamination dans 33 élevages livrant un lait contaminé par *L. monocytogenes*.

Les recherches de source de contamination ont permis de distinguer deux voies principales :

- l'excrétion mammaire (mammites à *L. monocytogenes*) apparaît peu fréquente. Sur les 33 troupeaux, soit 1 409 vaches au total, elle n'a été constatée que dans 3, comprenant chacun une vache atteinte de mammite à *Listeria*. Dans ce cas, le niveau de contamination du lait de quartier infecté est très élevé (entre 1 000 et 60 000 *L. monocytogenes* par ml). Cette source peu fréquente de *L. monocytogenes* est responsable de contamination durable du lait de troupeau (tant que les vaches infectées sont en production). Elle est la principale origine de *L. monocytogenes* du sérogroupe 4, le plus impliqué en pathologie humaine. De tels cas de mammites à *L. monocytogenes* ont été décrits par plusieurs auteurs (FEDIO et al, 1990 ; GITTER et al, 1980 ; JENSEN and JARSEN, 1973 ; SHARP, 1989).

- la voie extramammaire (environnement) est plus fréquente : elle a été observée dans 31 élevages. Les sources de contamination sont alors diverses (ensilages, bouses, eaux...). A partir de l'étude des souches par la sérotypie et la lysotypie, on constate que les principaux vecteurs de la contamination du lait sont les fèces, notamment à l'occasion de la traite. Ceci confirme les résultats de travaux finlandais (HUSU, 1990 ; HUSU et al, 1990).

Lorsqu'elle est liée à l'environnement, la présence de *L. monocytogenes* dans le lait de troupeau est plus épisodique que lorsque la contamination est d'origine intramammaire. Le sérogroupe 1 est prédominant. Enfin, *L. monocytogenes* est généralement associée à d'autres espèces, notamment *L. innocua*.

Tableau 1 : Fréquences de la contamination des ensilages et des bouses selon les élevages Cas et Témoin

		24 élevages Cas (1)	26 élevages Témoins (1)	R.R. (2)	P (3)
Ensilage Centre	<i>L. innocua</i>	45 %	29 %	1,96	NS
	<i>L. monocytogenes</i>	30 %	18 %	2	NS
Ensilage Périphérie	<i>L. innocua</i>	60 %	59 %	1,0	NS
	<i>L. monocytogenes</i>	50 %	18 %	4,7	S (P = 0,04)
Bouses	<i>L. innocua</i>	75 %	58 %	2,2	NS
	<i>L. monocytogenes</i>	83 %	35 %	9,4	S (P = 0,001)
<i>L. monocytogenes</i> dans les bouses et/ou dans les ensilages		92 %	35 %	20,8	S (P = 0,0001)

(1) En % des élevages confrontés à une contamination dans l'environnement

(2) Risque relatif

(3) Seuil de signification : NS = Non significatif (P > 5 %), S = Significatif

2. DIAGNOSTIC ET MISE EN PLACE DE MESURES CURATIVES ET PRÉVENTIVES EN ÉLEVAGE

Les résultats des travaux présentés ont permis de proposer les principes méthodologiques d'une démarche de diagnostic et de conseils en élevage.

En se basant sur la régularité de la contamination du lait de troupeau et les espèces de *Listeria* isolées, il est possible d'orienter le diagnostic sur l'origine de la contamination :
– l'origine intramammaire est suspectée lorsque le lait de troupeau est régulièrement contaminé sur plusieurs mois par *L. monocytogenes*.

Des laits de quartier sont alors prélevés aseptiquement sur les vaches ayant des numérations cellulaires anormales. La réforme des animaux confirmés excréteurs de *L. monocytogenes* permet d'obtenir un lait de troupeau non contaminé.

– lorsque le lait est irrégulièrement contaminé par *L. monocytogenes*, avec présence d'autres espèces, la contamination de l'environnement et les mesures d'hygiène doivent être suspectées.

Le diagnostic sera basé sur le contrôle des points suivants : conservation (pH), confection et reprise des ensilages, propreté des animaux, entretien du logement, mesures d'hygiène de traite et du matériel. Des modifications concernant l'hygiène peuvent alors être efficaces à court terme.

Des plans de surveillance de la contamination du lait ainsi que cette démarche d'intervention dans les élevages repérés avec un lait contaminé sont en place dans la plupart des régions produisant des fromages au lait cru.

CONCLUSION

Suite à l'identification des deux voies de contamination du lait (intramammaire et extramammaire), une démarche de diagnostic et de conseils en élevages a été proposée. Cette démarche pourra être évaluée à partir des actions mises en place dans les régions produisant des fromages au lait cru. La principale contrainte de ces actions est le coût des plans de surveillance des laits mise en place pour organiser la collecte «lait cru» et cibler les élevages à problème.

Afin d'améliorer l'efficacité de ces actions, les sujets suivants resteraient à approfondir : méthodes d'analyses pour le repérage des animaux excréteurs, techniques évitant la prolifération de *Listeria* dans les ensilages, mécanismes du portage intestinal. Il semble aussi important d'envisager des travaux chez les petits ruminants.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été menés par l'Institut de l'Élevage en partenariat avec le laboratoire PII de l'INRA de Nouzilly, le laboratoire de microbiologie de la Faculté de Médecine de Tours, les L.D.V. de l'Orne et d'Indre-et-Loire, le GDS de l'Orne et trois entreprises laitières. L'étude a bénéficié du soutien financier de l'ONILAIT, du C.N.I.E.L., et du M.E.S.R.

RÉFÉRENCES

- DONALD A.S., FENLON D.R., SEDDON B., 1992. The eleventh International Symposium on Problems of Listeriosis, 11-14 May 1992, Copenhagen. Book of abstracts, 288-289.
- FARBER J.M., PETERKIN P.I., 1991. Microbiol. Rev., 55, 476-511.
- FEDIO W.M., SCHOONDREWOERD M., SCHUTER, JACKSON H., 1990. Can. Vet. J., 31, 733-775.
- GITER M. BRADLEY R., BLAMPIED P.H., 1980. Vet. Record, 107, 390-393.
- HUSU J.R., S. EPPÄNEN J.T., SIVELÄ S.K., RAURAMA A.L., 1990. J. Vet. Med., B37, 268-275.
- JENSEN J., LARSEN H.E., 1973. Nord Vet. Med., 25, 322-329.
- SANAA M., 1993, Thèse de Doctorat de l'Université Paris XI, 207 p.
- SANAA M., POUTREL B., MENARD J.L., SERIEYS F., 1993. J. Dairy Sci., 76, 2891-2898.
- SHARP M.W., 1989. Vet. Record, 125, 512-513.