

Cirad-emvt
Campus de Baillarguet
TA 30
34398 MONTPELLIER Cedex 5

Université Montpellier II
UFR Sciences
Place Eugène Bataillon
34095 MONTPELLIER Cedex 5

DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES SPECIALISEES PRODUCTIONS ANIMALES EN REGIONS CHAUDES

année universitaire 2001-2002

RAPPORT DE STAGE



LES SOURCES DE LA CONTAMINATION MICROBIOLOGIQUE DU LAIT DE BOVINS DANS DES REGIONS SELECTIONNEES DE GAMBIE

Présenté par

Molf MOULLEC

Réalisé sous la direction de : Fred UNGER

Organisme et pays : ITC (International Trypanotolerance Center), The Gambia

Période du stage : 26 Mai 2002 – 10 Septembre 2002

Date de soutenance : 16 Octobre 2002

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord Mr Bernard Faye, chercheur au CIRAD-emvt, d'avoir proposé ce stage de DESS et d'avoir bien voulu être mon tuteur en France.

Merci à Mme Suzanne Münstermann et à toute l'équipe de l'ITC de m'avoir accueilli.

Je remercie mon maître de stage, Fred Unger, ainsi que Michaëla Hempen, pour le travail que nous avons effectué ensemble.

Merci aussi à « Mamy » Penda Kane de m'avoir avec patience et gentillesse appris les techniques de laboratoire et, ainsi que Ousman Barrow et Marjoline Holtstag, de leur aide précieuse au laboratoire.

Merci enfin à eux trois pour l'amitié qu'ils m'ont donné et qui est réciproque.

Je n'oublierai pas dans cette liste mes parents pour leur appui « logistique » indispensable.

ABREVIATIONS

- ▶ **BPLS** Agar. Milieu d'isolement de salmonelles.
- ▶ **Cfu** : Colony Form Unit.
- ▶ **CIRAD-emvt** : Centre de Cooperation Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement – élevage et médecine vétérinaire.
- ▶ **CIRDES** : Centre International de Recherche-Développement sur l'Elevage en zone Subhumide.
- ▶ **FAO** : Food and Agriculture Organization, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.
- ▶ **FMT** : Flore Microbienne Totale.
- ▶ **HACCP** : Hazard Analysis Critical Control Points, Analyse des risques – points critiques pour leur contrôle.
- ▶ **IDH** : Indicateur de Développement Humain.
- ▶ **ISDH** : Indicateur Sexospécifique de Développement Humain.
- ▶ **ISO** : International Standardization Organization – Organisation Internationale de Normalisation.
- ▶ **ITC** : International Trypanotolerance Center, Gambie.
- ▶ **LISIP** : Low-Input Systems Improvement Programme – Programme d'amélioration des systèmes à faible niveau d'intrants.
- ▶ **MK** : Miller-Kaufmann.
- ▶ **ml** : millilitre
- ▶ **MOSIP** : Market-Oriented Systems Improvement Programme – Programme d'amélioration des systèmes orientés-marchés.
- ▶ **MRD** : Maximum Recovery Diluent, milieu de revivification.
- ▶ **MYP** Agar : Mossel Agar. Milieu d'isolement de *Bacillus cereus*.
- ▶ **ONG** : Organisation Non Gouvernementale.
- ▶ **PALCAM** Agar. Milieu d'isolement de *Listeria monocytogenes*.
- ▶ **PCA** : Plate Count Agar.

- ▶ **PNB** : Produit National Brut.
- ▶ **PROCORDEL** : Programme de recherche-développement sur l'élevage en Afrique de l'Ouest.
- ▶ **RV** : Rappaport-Vassiliadis.
- ▶ **SOLIP** : Systems Overlap and Linkages Improvement Programme – Programme d'amélioration des liaisons et des chevauchements de systèmes.
- ▶ **TBC** : Total Bacteria Count – Flore microbienne totale (FMT).
- ▶ **TSC Agar** : Tryptose-Sulfite-Cycloserine Agar.
- ▶ **UE** : Union Européenne.
- ▶ **XLD Agar**. Milieu d'isolement de salmonelles.

RESUME ET MOTS-CLES

Une étude conduite entre 2000 et 2002 en Gambie a montré l'existence d'une forte concentration de bactéries pathogènes et/ou d'importance zoonotique dans le lait de vaches produit et consommé dans le pays.

C'est en complément de celle-ci qu'à été conduite la présente étude, au sein de l'ITC (International Trypanotolerance Center).

Afin de tenter de déterminer les sources préférentielles de cette contamination, des prélèvements de lait et des écouvillonnages d'ustensiles et de récipients utilisés ont été pratiqués tout au long de chaînes producteur-collecteur-vendeur. Le lait, autant que possible, a été suivi de la vache à la vendeuse du marché.

Des analyses bactériologiques au laboratoire ont suivi ce travail de terrain.

Les résultats montrent que, si le niveau de contamination bactérienne du lait au niveau des animaux est relativement faible (environ 90 % des échantillons présentaient une flore microbienne totale inférieure aux standards européens), c'est principalement au niveau de la ferme, au moment de la traite, qu'a lieu la contamination.

D'autre part le type de récipient utilisé à ce niveau ne semble pas particulièrement incriminé dans l'apparition de la contamination.

Par ailleurs, des études complémentaires et approfondies sont nécessaires à mettre en oeuvre afin d'améliorer notre connaissance de la situation, et ceci pour permettre, via par exemple l'intensification des formations à l'hygiène existantes, la prise de conscience des acteurs de la filière laitière bovine concernant l'hygiène.

Les enjeux liés à ce type d'études et d'actions sont importants, tant en termes de santé publique qu'en termes économiques et sociaux.

MOTS-CLES :

Bactérie — Bovin - Contamination — Gambie — Hygiène de la traite — Lait — Santé publique - Microbiologie

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	1
ABREVIATIONS	2
RESUME ET MOTS-CLES	4
SOMMAIRE	5
INTRODUCTION	6
PREMIERE PARTIE : Présentation du contexte	7
1. La Gambie	7
a. Généralités	7
b. Données sanitaires et économiques	8
c. Situation de l'élevage	9
d. Résultats d'une étude préalable	10
2. Le centre de recherche	12
a. Les différents projets du centre	13
b. Le projet n°9	14
DEUXIEME PARTIE : Matériel et méthodes	15
1. Travail de terrain	15
a. Les différentes périodes	15
b. Prélèvements	15
2. Travail de laboratoire	16
a. Présentation générale	16
b. Protocoles expérimentaux	17
3. Entrée des données	22
a. Les fiches de résultats	22
TROISIEME PARTIE : Résultats	26
1. Prélèvements	26
2. Résultats globaux	27
3. Distribution	28
4. Chaînes complètes	29
5. Comparaison des récipients	31
6. Relations vaches-troupeaux	32
7. Relations vaches-prolifération	33
8. Relations récipients-troupeaux	35
9. Relations récipients-prolifération	36
CONCLUSION	38
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	39

INTRODUCTION

D'ici 2030, la population africaine va tripler et s'urbaniser, nécessitant une augmentation massive des productions animales.

Pour remplir ce challenge, une augmentation de 2,7 % par an de la production laitière est prévue de la fin des années 1990 à 2020.

Or la contamination du lait par des agents bactériens conduit à des maladies d'origine alimentaire importantes et très répandues.

D'ailleurs ces dernières années un certain nombre de flambées de maladies d'origines alimentaires est apparu, démontrant l'importance à la fois en terme de santé publique et en termes sociaux et économiques de ces maladies (Unger et Münstermann, 2001).

L'ITC (International Trypanotolerance Center) est un centre de recherche international sur l'élevage. Le choix de sa localisation, tout comme celui de la présente étude, est lié à la forte densité d'élevage (notamment d'élevage bovin laitier) existant en Gambie.

Le stage s'inscrit dans les objectifs du projet n°9 de l'ITC (unité « Hygiène alimentaire et sécurité du consommateur »), dans le cadre du projet PROCORDEL (Programme de recherche-développement sur l'élevage en Afrique de l'Ouest) de l'Union Européenne.

Par ailleurs une étude préalable conduite en Gambie par la même unité a montré que le lait est très fortement contaminé. C'est pour cela que l'objectif du stage a été, dans la continuité de cette étude, la recherche des sources de contamination préférentielles du lait lors de son processus de production et de commercialisation.

Dans des élevages pré-sélectionnés (ayant participé à l'étude préalable et étant « représentatifs » de la situation du pays), le travail de terrain (4 semaines) a consisté à prélever du lait au niveau des producteurs, et à le suivre tout au long de son cheminement de la vache au mélange de lait des vaches du troupeau, au collecteur et enfin jusqu'au marché. On s'est aussi intéressé aux ustensiles et récipients utilisés pour la traite.

Les prélèvements ont ensuite été analysés au laboratoire selon des protocoles répondant aux normes ISO en vigueur.

Les résultats obtenus semblent indiquer que la contamination du lait est, pour sa part principale, liée aux conditions hygiéniques de la traite.

PREMIERE PARTIE : Présentation du contexte

1. La Gambie

a. Généralités

Pays d'Afrique de l'Ouest et plus petit pays d'Afrique, la Gambie est enclavée dans le Sénégal et possède un débouché maritime dans l'océan Atlantique (80 km de côtes).

Il s'agit d'une bande d'une vingtaine de kilomètres de largeur de part et d'autre du fleuve Gambie, et longue de plus de 350 km.

La superficie du pays est de 11 295 km².

La population y était en 1998 de 1 336 000 habitants, soit la densité la plus élevée du continent africain (densité de 115 habitants par km²).

La population y est très jeune, avec 42 % de moins de 15 ans et 3 % de plus de 64 ans.

Les principaux groupes ethniques représentés sont le groupe Mandingue (42,3% de la population), les Foulas ou Peuls (18,2 %), les Wolofs (9,5 %), les Diolas (9 %), les Sarakolés (8,7 %) et les Akous (1 %).

La population est musulmane à 85 %, tandis que 5 % des habitants sont protestants et 2 % catholiques. Cependant, si seuls 8 % des gambiens sont strictement de rite animiste, les croyances animistes restent très ancrées au sein de toute la population.

La langue officielle est l'anglais, le wolof étant aussi très largement répandu, notamment en ville.

La capitale, Banjul, située sur la côte sur la rive Sud du fleuve Gambie, est au centre d'une agglomération de près de 400 000 habitants (dont 275 000 dans la ville de Serrekunda).

Les autres villes importantes du pays sont Brikama, à une cinquantaine de kilomètres au Sud de Banjul, et à l'intérieur du pays Mansa Konko – Soma, Georgetown et Basse Santa Su.

Le climat de la Gambie est de type sub-tropical, soudanien, avec une saison sèche (de novembre à mai) et une saison des pluies (de juin à octobre), avec des pluies essentiellement confinées aux mois d'août et septembre. Les vents de l'Harmattan soufflent souvent pendant la saison sèche, ce qui donne à la Gambie un "hiver" unique, sans pluie, avec un soleil omniprésent, et des températures agréables. De novembre à mai, les températures journalières moyennes à Banjul et sur la côte varient entre 21 °C et 27 °C et le taux d'humidité reste faible. De juin à octobre, ces températures varient entre 27 °C

et 32 °C et le taux d'humidité de l'air est très élevé. Les pluies sont en général brusques et violentes, et de courte durée.

Dans les terres les températures diurnes sont en général plus élevées, et les nuits peuvent être fraîches. A Bansang, les températures minimales moyennes vont de 16 °C en décembre à 23 °C en août, tandis que les températures maximales moyennes s'étendent de 35 °C en janvier à 42 °C en mai. Les précipitations annuelles y sont de l'ordre de 1 000 mm, avec de fortes disparités interannuelles (par exemple, entre 1987 et 1989, elles étaient de 857, 1 169 et 651 mm, respectivement).

L'embouchure du fleuve, dans la région de Banjul, est principalement constituée d'une mangrove à palétuviers.

Dans la zone côtière on trouve de grande cocoteraies.

Dans l'intérieur du pays les types de végétation sont la forêt et la forêt sèche. Juillet, août et septembre sont presque certains de recevoir des pluies. Une saison sèche bien définie de 6 à 7 mois est "transformée" en une saison humide et verte par les premières pluies qui déclenchent une croissance végétale vigoureuse. Quelques 80 espèces d'arbres ont été identifiées comme étant spécifique à cette région. Les espèces sahéliennes présentes dans la région soudanienne disparaissent progressivement au fur et à mesure que l'on s'enfonce au coeur de la région soudanienne. Les arbres typiques de cette région sont *Cassia sieberiana*, *Daniellia oliveri*, *Khaya senegalensis*, et *Terminalia macroptera*. Il existe aussi de nombreuses espèces de *Combretum* et d'Acacia. L'occupation humaine a profondément modifié la composition et la structure de la végétation. Des feux de brousse annuels continuent de jouer un rôle important dans le maintien de types de végétation ligneuse plus ou moins clairsemée (USAID, 2002).

A Bansang, la végétation consiste principalement en une savane arborée dégradée infestée par *Glossina m. submorsitans*, une espèce de glossine. On trouve aussi *Glossina palpalis*.

b. Données sanitaires et économiques

Malgré un taux de mortalité infantile très élevé (130 ‰ en 1999), le taux de croissance de la population gambienne est important (3,4 % par an environ), et a été identifié comme étant une des contraintes majeures au développement économique et social du pays.

Avec un PNB (Produit National Brut) par habitant de 340 \$ en 1998, la Gambie est un des pays d'Afrique les plus pauvres et les moins développés et fait face à des contraintes structurelles sérieuses.

Son IDH (Indicateur de Développement Humain) était en 1997 de 0,391, classant le pays à la 163^{ème} place sur 174 pays, et son ISDH (Indicateur Sexospécifique de Développement Humain) était la même année de 0,384, classant le pays à la 133^{ème} place pour cet indicateur sur 174 pays (United Nations Economic Commission for Africa, 2002).

L'apport énergétique annuel est clairement insuffisant : un tiers de la population a une prise alimentaire qui fournit moins que les besoins énergétiques minimaux requis. La moyenne nationale est de 2 291 kcal/jour/habitant, allant de 1 763 à 2 478 selon les régions. Les produits animaux comptent pour 21 % de la prise alimentaire (FAO, 1997).

c. Situation de l'élevage

Le secteur des ressources naturelles et agricoles joue un rôle significatif dans le développement socio-économique du pays comme fournisseur alimentaire, employeur et fournisseur de revenus. Il fournit un emploi à plus de 75 % de la population, contribue au PNB à hauteur de 19 % et génère 85 % des importations et 40 % des exportations. La production de viande annuelle était en 1992 de 9 000 tonnes tandis que celle de lait était de 7 000 tonnes.

On comptait en Gambie environ 1 000 000 de volailles, 330 000 bovins, 224 000 chèvres, 160 000 moutons et 14 000 porcs en 1997, et 17 000 chevaux et 34 000 ânes en 1994 (FAO, 1997).

Les bovins sont presque exclusivement de race N'Dama, même si l'ITC tente d'introduire des croisés Holstein-N'Dama et Jersey-N'Dama.

En ce qui concerne l'élevage bovin, deux systèmes de conduite des élevages y sont pratiqués.

Dans l'un, les propriétaires s'occupent des troupeaux. Ce sont en général des Fulas (Peuls). Dans l'autre, les propriétaires du troupeau, habituellement des Mandingues, n'exercent pas une supervision quotidienne des animaux et des vachers fulas s'occupent des troupeaux en échange de lait comme paiement partiel ou complet. Dans ces troupeaux la traite est effectuée deux fois par jour alors que dans le premier système la traite est quotidienne.

Les propriétaires vivent dans des concessions familiales et les troupeaux sont collectifs (animaux de plusieurs éleveurs mis en commun). Chaque concession peut aussi posséder quelques taureaux qui restent dans la concession pendant la saison des pluies et sont mêlés aux autres bovins pendant la saison sèche.

Par ailleurs, entre 80 et 95 % des concessions conservent des petits ruminants.

Dans tous les troupeaux les animaux sont attachés individuellement à des poteaux de bois la nuit dans des champs ouverts à proximité des habitations. Les bovins sont relâchés le matin après la traite et paissent sur des terres communes. Pendant la saison des pluies (de juillet à octobre) ils sont conduits par groupes pour éviter la destruction des champs cultivés.

Les veaux sont autorisés à paître autour des sites de station nocturne.

Pendant la saison sèche (de novembre à juin) et après que les récoltes ont eu lieu, les animaux sont libres d'aller où ils veulent, habituellement sans vachers. Certains animaux retournent aux sites de station nocturne tard le soir tandis que d'autres restent loin.

Pour la traite, le veau est autorisé à téter un peu pour permettre la descente du lait, après laquelle il est maintenu auprès de sa mère pendant la traite manuelle.

Le veau est ensuite relâché pour téter le restant de lait maternel.

Les veaux sont sevrés à la discrétion du fermier et le sevrage peut durer de quelques jours à plusieurs semaines.

Les troupeaux sont périodiquement transférés d'un champ de maintien nocturne à un autre, la fréquence dépendant de divers facteurs tels les conditions physiques du sol, le nombre de champs disponibles pour cette activité et la disponibilité du vacher.

La taille des troupeaux varie approximativement de 20 à 200 bovins. Quelques taureaux sont mêlés aux troupeaux dans l'année et la reproduction n'est pas contrôlée.

Les mâles peuvent monter des femelles d'autres troupeaux lorsqu'ils paissent dans les champs communs.

La vente des animaux et l'abattage pour consommation sont peu développés et apparaissent en général en des périodes de difficultés économiques ou pour des célébrations familiales.

L'élimination d'animaux est peu fréquente et de nombreuses vaches âgées sont gardées au sein des fermes (Agyemang K. *et al.*, 1997).

Le sous-secteur de l'élevage compte pour 24 % de la valeur productive agricole totale et contribue à 4,7 % du PNB. Sa croissance en terme économique est de 3,3 % par an et il fournit une source d'emploi et de revenus pour un nombre significatif d'habitants des régions rurales.

d. Résultats d'une étude préalable

Le stage s'est appuyé sur une étude menée entre juillet 2000 et mars 2002 par Michaëla Hemen, thésarde allemande impliquée dans le projet n°9 de l'ITC.

Cette étude s'est attachée à déterminer le statut hygiénique du lait de la ferme aux marchés locaux, en Gambie mais aussi en Guinée et au Sénégal (où des unités locales privées de pasteurisation ont été aussi investiguées).

Les résultats pour les trois pays montrent un fort taux de contamination totale du lait au niveau des marchés (à la fois du lait cru et du lait caillé). L'acidification du lait (lait caillé) semble avoir un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne. Le lait a été trouvé contaminé de façon importante dès le niveau de la ferme.

En Gambie, 378 prélèvements de lait ont été faits au niveau de 4 marchés et des fermes qui les fournissent en lait. Les résultats des analyses bactériologiques ont montré une contamination globalement élevée. La forte proportion de coliformes dans le lait (lait cru : 86 % ; lait caillé : 82 %) indique de façon spécifique que la contamination est plus vraisemblablement due aux

conditions d'hygiène tout au long de la chaîne producteur-vendeur qu'à des pathogènes originaires des animaux. La proportion modérée de staphylocoques coagulase-positifs (lait cru : 27 % ; lait caillé : 18 %) pourrait indiquer des cas de mammites sub-cliniques dans les troupeaux. On retrouve aussi *Escherichia coli* (lait cru : 28 % ; lait caillé : 39 %) et *Salmonella spp.* (lait cru : 0,4 %).

Une signification zoonotique peut être attribuée à la présence en proportions modérées de *Bacillus cereus* (lait cru : 17 % ; lait caillé : 13 %) et de *Listeria spp.* (lait cru : 2 %).

De façon surprenante, en Gambie, le niveau de la contamination ne semblait pas être affecté par l'acidification.

Le lait était trouvé fortement contaminé dès le niveau producteur (Figure 1).

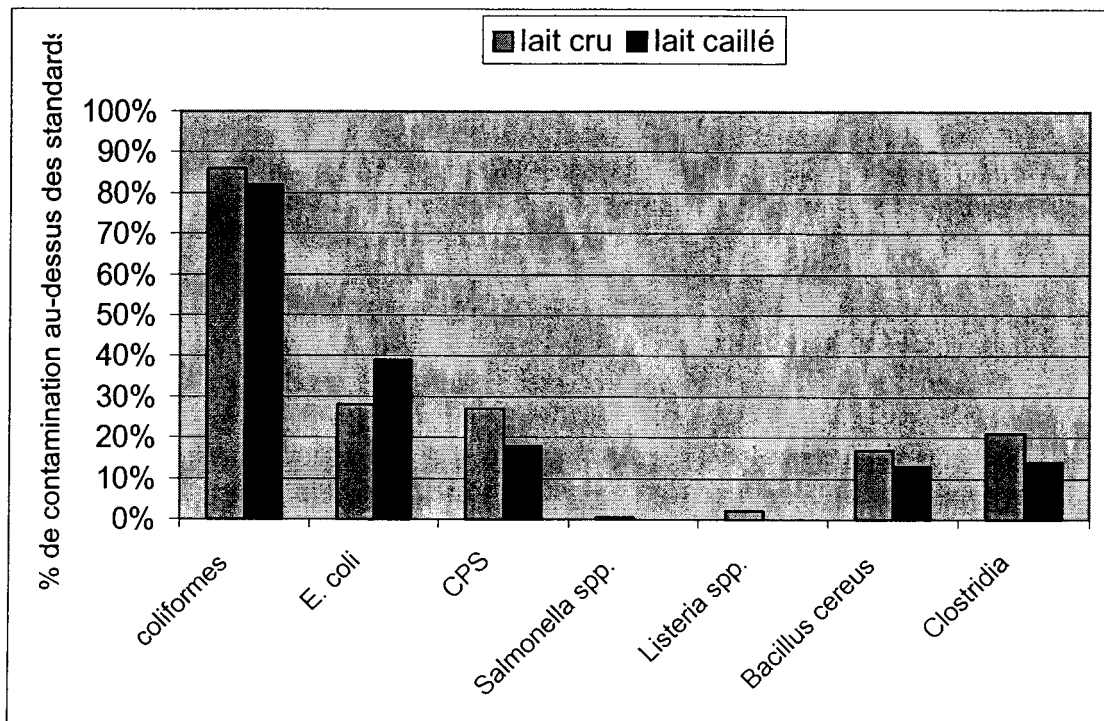


Figure 1 : Contamination du lait en Gambie, étude préalable (2000 – 2002)

Concernant l'évolution de la contamination microbiologique du lait le long de la chaîne producteur-collecteur-vendeur, cette étude a montré clairement que, si on observe bien un niveau de contamination élevé dès le niveau producteur, cette contamination s'accroît au cours du processus qui mène le produit de l'animal au consommateur : c'est ainsi que 100 % des prélèvements de lait effectués au niveau vendeur contiennent plus de coliformes que ce que les standards européens préconisent (Figure 2) (Hempen M., 2002).

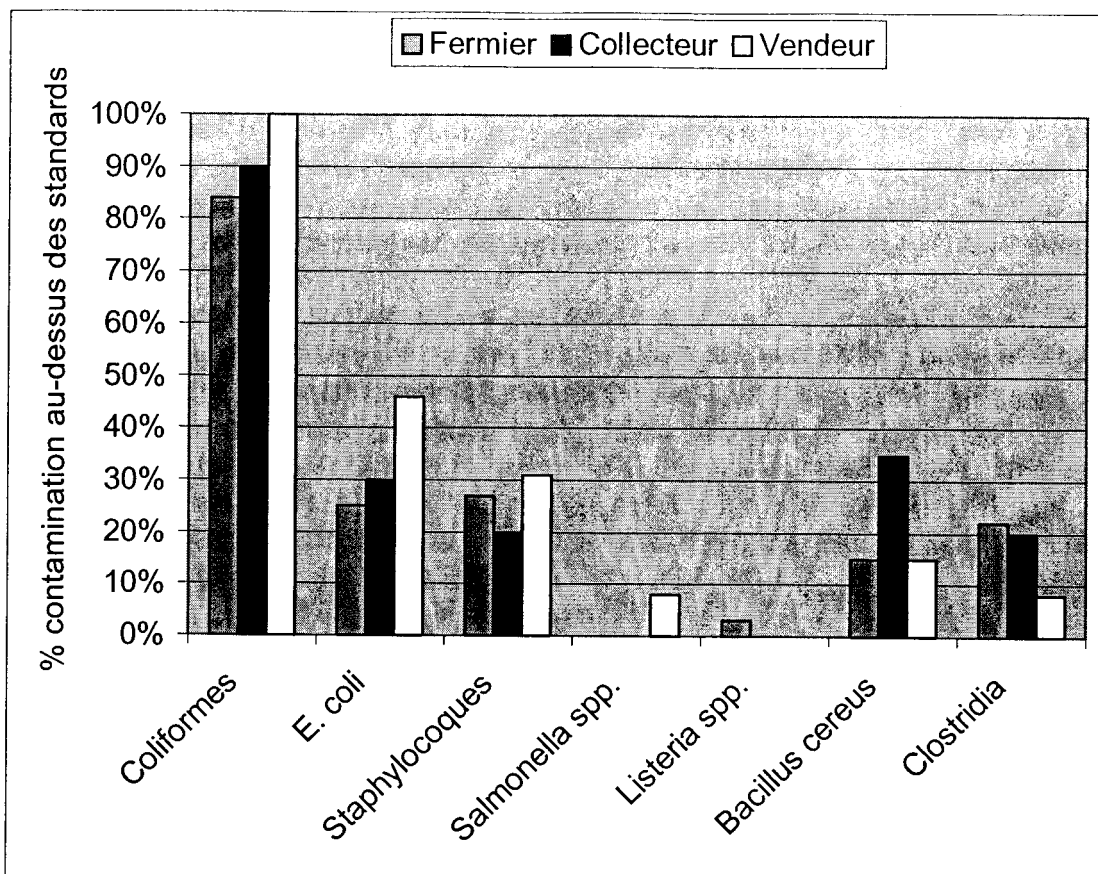


Figure 2 : Pourcentage de contamination par certaines bactéries au dessus des standards pour le lait cru aux niveaux des fermiers, collecteurs et vendeurs en Gambie

2. Le centre de recherche

L'ITC (International Trypanotolerance Center) est une institution de recherche autonome et à but non-lucratif, établie par un acte du parlement gambien en 1982. Le centre a été conçu pour servir la région Ouest-Africaine, en particulier ses zones humides et sub-humides.

Sa mission est de « contribuer aux efforts liés à l'augmentation de la productivité et de l'utilisation de l'élevage en Afrique de l'Ouest, à travers l'exploitation optimale et soutenable de la résistance génétique de l'élevage indigène pour le bien-être des populations humaines D.

Ses objectifs généraux sont la formulation, la mise en place et l'introduction de packages technologiques intégrés socio-économiquement soutenables et environnementalement acceptables au niveau des producteurs, pour une santé, une production et une exploitation de l'élevage améliorées.

Les priorités de la recherche qui y est développée sont formulées en concertation avec les autorités nationales, les services techniques et de recherche nationaux et des institutions de recherche régionales et internationales.

a. Les différents projets du centre

Le but du programme de recherche et développement de l'ITC est d'améliorer la sécurité alimentaire et le bien-être général des population humaines à travers une production et une utilisation de l'élevage à la fois améliorées et soutenables. L'approche des programmes en cours est *orientée* systèmes, ciblant les systèmes à *faible niveau d'intrants* (traditionnels, extensifs) et les systèmes *orientés marchés* (urbains, péri urbains).

Trois principaux programmes sont développés :

X LISIP (Low-Input Systems Improvement Programme), Programme d'amélioration des systèmes à faible niveau d'intrants.

Son but est d'améliorer l'efficacité des systèmes fermiers basés sur l'élevage par le déploiement d'options technologiques améliorées basées sur les caractères adaptatifs de l'élevage indigène.

X MOSIP (Market-Oriented Systems Improvement Programme), Programme d'amélioration des systèmes orientés-marchés.

Son but est d'étudier l'efficacité économique des systèmes à moyen et haut niveaux d'intrants ; de les améliorer à travers l'optimisation des fermes et du marché ; et d'étudier les ressources dans un cadre préservant l'environnement.

X SOLIP (Systems Overlap and Linkages Improvement Programme), Programme d'amélioration des liaisons et des chevauchements de systèmes.

Son but est d'augmenter la productivité et de permettre la soutenabilité de systèmes agricoles promus à travers l'adoption d'options technologiques et de méthodes socio-économiquement acceptables en partenariat avec les services d'Etat.

Chaque programme comporte plusieurs « projets institutionnels D.

Ceux-ci sont :

Pour le LISIP :

1. Evaluation du risque sanitaire.
2. Stratégies de contrôle des maladies.
3. Niveaux de production *versus* résistance aux maladies.
4. Culture – Agro-foresterie – Elevage – Intégration.

5. Amélioration génétique.

Pour le MOSIP :

6. Reproduction croisée.
7. Stratégies alimentaires.
8. Nouvelles techniques en santé, reproduction et génétique.

Pour le SOLIP :

9. Santé publique vétérinaire et sécurité du consommateur.
10. Politiques socio-économiques.
11. Formation et information.

b. Le projet n°9

Le projet n°9, auquel ce stage était associé au travers d'une première collaboration entre l'ITC et le CIRAD-emvt, est constitué de l'équipe Hygiène alimentaire et sécurité du consommateur.

Cette unité a été établie à l'ITC en 2000.

Les fonds du projets viennent principalement du gouvernement allemand (sénat de Berlin) et d'un projet régional de l'UE (Union Européenne), PROCORDEL (Programme de Recherche-Développement sur l'Elevage en Afrique de l'Ouest, qui couvre 13 pays d'Afrique de l'Ouest et est coordonné par deux centres de recherche sous-régionaux, l'ITC en Gambie et le CIRDES au Burkina Faso).

L'objectif général en est l'évaluation des risques pour la santé publique, dont les zoonoses, dus à la consommation de produits d'origine animale en Gambie et dans la région (Sénégal, Guinée et Guinée-Bissau).

Ses activités ont été identifiées et mises en place en concertation avec les services de l'élevage et de la santé humaine locaux, des ONG (Organisations Non-Gouvernementales) et d'autres organismes (par exemple le Comité Codex National de Gambie).

Des instituts internationaux et nationaux (laboratoires de référence pour la brucellose et la tuberculose, etc.), des instituts de recherche (Institut Tropical Suisse, CIRAD, etc.) et des universités (Université libre de Berlin, etc.) sont activement impliqués dans le travail de recherche de l'unité (ITC, 2002).

DEUXIEME PARTIE : Matériel et méthodes

1. Travail de terrain

a. Les différentes périodes

Du 10 juin 2002 au 21 juin 2002, un travail de préparation des prélèvements de terrain et d'apprentissage des protocoles expérimentaux d'analyses microbiologiques s'est déroulé au sein de l'implantation principale de l'ITC, à Kerr Serigne, près de Banjul. Des prélèvements de lait, et des prélèvements par écouvillons des surfaces des récipients et ustensiles utilisés lors de la traite, ont été exécutés au sein de l'élevage bovin laitier expérimental de l'ITC. Puis ces prélèvements ont été analysés selon le protocole défini, dans le laboratoire de microbiologie du centre ITC de Kerr Serigne.

Puis quatre semaines de prélèvements et d'analyses sur le terrain se sont déroulées aux mois de juin, juillet et août, selon le calendrier suivant :

Semaine du 24 au 28 juin 2002 : Prélèvements dans des fermes laitières autour de la ville de Brikama (à 30 km du centre ITC de Kerr Serigne), avec suivi du lait au marché de Brikama. Les analyses ont été effectuées au laboratoire de microbiologie du centre ITC de Kerr Serigne.

Du 8 au 16 juillet 2002 : Prélèvements dans des fermes laitières autour de la ville de Soma (à 180 km dans l'intérieur des terres), avec suivi du lait au marché de Soma. Les analyses ont été effectuées au laboratoire du centre ITC de Bansang (à 140 km à l'Est de Soma).

Du 9 au 17 août 2002 : Prélèvements dans des fermes laitières autour des villes de Brikama Ba (40 km à l'Ouest de Bansang) et de Basse Santa Su (à 80 km à l'Est de Bansang), avec suivi du lait aux marchés de Brikama Ba et Basse Santa Su, respectivement. Les analyses ont été effectuées au laboratoire du centre ITC de Bansang.

b. Prélèvements

Au total, des prélèvements ont été effectués dans 19 troupeaux différents :

- 5 à Brikama (1 par jour)
- 5 à Soma (1 par jour)
- 4 à Brikama Ba (2 par jour)
- 5 à Basse Santa Su (1 par jour)

Dans chaque troupeau, des prélèvements par écouvillons stériles sont pratiqués à la surface des équipements utilisés pour la traite par les éleveurs, juste avant que la traite des vaches ne commence.

Puis on prélève le lait de trois vaches par troupeau, dans un tube stérile, directement du pis de la vache : Pour cela, on prélève avant que le fermier ne commence la traite, juste après l'initiation de la descente du lait par le veau, après avoir préalablement nettoyé le pis par contact avec du coton imbibé d'un produit antiseptique, pour pouvoir prélever le lait en évitant autant que possible les contaminations par le milieu extérieur.

A la fin de la traite, un prélèvement de lait du récipient dans lequel le lait des différentes vaches du troupeau est mélangé est effectué, dans un tube stérile et avec un petit récipient métallique préalablement nettoyé à l'alcool.

Puis le lait du troupeau est suivi, autant que possible, au niveau du collecteur (quand il est différent de l'éleveur) et des vendeuses au marché. Des prélèvements de lait dans les différents récipients utilisés par ces acteurs de la filière laitière sont effectués selon le même protocole. Des prélèvements par écouvillons stériles sont parfois aussi effectués à la surface des récipients et ustensiles utilisés par les collecteurs et vendeuses.

Pour éviter le développement bactérien, les différents prélèvements sont conservés dans une glacière jusqu'à l'arrivée au laboratoire ou ils sont placés dans un réfrigérateur.

Juste après chaque prélèvement de lait, son pH et sa température sont mesurés, par un pHmètre et un thermomètre électriques, préalablement nettoyés à l'alcool et séchés.

De plus, la température atmosphérique est mesurée au moment des prélèvements.

2. Travail de laboratoire

a. Présentation générale

Le travail au laboratoire consiste en la détermination de :

- la flore microbienne totale (FMT)
- la concentration en coliformes
- la concentration en staphylocoques
- la présence ou l'absence de :
 - X** *Escherichia coli* confirmés
 - X** *Staphylococcus aureus*
 - X** *Bacillus cereus*
 - X** *Clostridium perfringens*
 - X** Salmonelles
 - X** *Listeria monocytogenes*

Ce travail a eu lieu pour partie au laboratoire de microbiologie de l'ITC, à Kerr Serigne, et pour partie dans un laboratoire temporaire installé au centre ITC de Bansang (déménagement des matériels et des produits nécessaires de Kerr Serigne à Bansang).

Le travail de laboratoire s'est effectué sous conditions stériles (utilisation de flammes) et selon des protocoles ISO (International Standardization Organisation) décrits ci-après.

b. Protocoles expérimentaux

Pour les prélèvements de lait cru :

Comptage des colonies (TBC, Total bacteria Count ; FMT, Flore Microbienne Totale)

Référence : norme ISO 4833 (1991), IDF 100B : 1991, IDF 153 : 1991. Pour plate method.

x Prélèvement

x Dilution décimale : 1 ml de prélèvement dans 9 ml de MRD (Maximum Recovery Diluent, milieu de revivification), puis 1 ml de cette première dilution dans 9 ml de MRD, et ainsi de suite (dilutions de 10^{-1} à 10^{-6}).

x Inoculation : 1 ml de chaque dilution dans une boîte, puis on verse 15 ml de milieu nutritif (PCA : Plate Count Agar), et on mélange en remuant légèrement la boîte. 2 boîtes par dilution. Puis, une fois la première solidifiée, ajout d'une deuxième couche de PCA.

x Incubation à 30 °C pendant 48 heures.

x Comptage des colonies, lorsque le nombre de colonies est compris entre 10 et 300 par boîte.

Comptage des coliformes et confirmation des *Escherichia coli*

Références : norme ISO 5541-1 : 1986, Lait et produits laitiers – Dénombrement des coliformes – Partie 1 : Technique par comptage des colonies à 30 °C ; et norme ISO 11866-1 : 1997, Lait et produits laitiers – Dénombrement d'*Escherichia coli* présumés – Technique du nombre le plus probable.

x Prélèvement

x Dilution décimale : 1 ml de prélèvement dans 9 ml de MRD (Maximum Recovery Diluent, milieu de revivification), puis 1 ml de cette première dilution dans 9 ml de MRD, et ainsi de suite (dilutions de 10^{-1} à 10^{-3}).

x Inoculation : 1 ml de chaque dilution dans une boîte, puis on verse 15 ml de milieu nutritif (Mac Conkey Agar), et on mélange en remuant légèrement la boîte. 2 boîtes par dilution. Puis, une fois la première solidifiée, ajout d'une deuxième couche de milieu Mac Conkey.

x Incubation à 30 °C pendant 24 heures.

x Comptage des colonies (visualisées par des petits points noirs) lorsque leur nombre est compris entre 10 et 150.

x Transfert de 5 colonies suspectes par prélèvement dans 10 ml de Brilla (milieu liquide).

x Incubation à 44 °C pendant 24 heures.

x Lecture de la production de gaz.

x Transfert des tubes correspondant à des prélèvements positifs dans 5 ml d'eau tryptonée.

x Incubation à 45 °C pendant 24 heures.

x Test à l'indole : on verse 0,5 ml de réactif de Kovacks. S'il se forme, après quelques secondes, un anneau rouge à la surface du milieu, le test est positif, sinon il est négatif. Ce test permet de confirmer la présence d'*Escherichia coll.*

Comptage des staphylocoques et confirmation des *Staphylococcus aureus*

Référence : norme ISO/DIS 6888-1 (1997). Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Technique including confirmation of colonies.

x Prélèvement.

x Dilution décimale : 1 ml de prélèvement dans 9 ml de MRD (Maximum Recovery Diluent, milieu de revivification), puis 1 ml de cette première dilution dans 9 ml de MRD, et ainsi de suite (dilutions de 10^{-1} à 10^{-2}).

x Inoculation (double test) : On transfère 0,1 ml de chaque dilution à la surface du Baird Parker Agar préalablement coulé et solidifié. Puis on étale l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu. La boîte est

ensuite laissée à température ambiante à l'horizontale pendant environ un quart d'heure, jusqu'à ce que l'inoculum soit sec. 2 boîtes par dilution.

x Incubation à 37 °C entre 24 et 48 heures.

x Comptage des colonies si leur nombre est situé entre 10 et 150 par boîte.

x Confirmation par transfert de 5 colonies suspectes par prélèvement dans 5 ml de Brain Heart infusion broth.

x Incubation à 37 °C pendant 24 heures.

x Test à la coagulase : 0,1 ml du milieu incubé précédent (Brain Heart broth) dans 0,3 ml de plasma humain.

x Incubation à 37 °C pendant 12 heures.

x Lecture du test : le test est considéré comme étant positif si le volume occupé par le sang coagulé est au moins égal aux trois-quarts du volume initial. Si le test est positif, il y a confirmation de la présence de staphylocoques dorés (*Staphylococcus aureus*).

Détection de *Bacillus cereus*

Référence : norme ISO 7932 : 1993 (E). Microbiology – General guidance for the enumeration of *Bacillus cereus* – Colony count technique at 30 °C.

x Prélèvement.

x Dilution décimale : 1 ml de prélèvement dans 9 ml de MRD (Maximum Recovery Diluent, milieu de revivification). Dilution au 1/10^{ème}.

x Inoculation (double test) : On transfère 0,1 ml de chaque dilution à la surface du MYP Agar (Mossel Agar) préalablement coulé et solidifié. Puis on étale l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu. La boîte est ensuite laissée à température ambiante à l'horizontale pendant environ un quart d'heure, jusqu'à ce que l'inoculum soit sec. 1 boîte par dilution.

x Incubation à 30 °C pendant 24 heures.

x Lecture des boîtes : la présence de colonies roses, sèches et au contour net indique la présence de *Bacillus cereus*.

Détection de *Clostridium perfringens*

Référence : norme ISO 7937 – 1985. Microbiology – General guidance for enumeration of *Clostridium perfringens* – Colony count technique.

x Prélèvement.

x Dilution décimale : 1 ml de prélèvement dans 9 ml de MRD (Maximum Recovery Diluent, milieu de revivification). Dilution au 1/10ème.

x Isolement (double test) : 1 ml de dans une boîte, puis on verse 15 ml de milieu nutritif (TSC Agar supplémenté ; Tryptose-Sulfite-Cycloserine Agar), et on mélange en remuant légèrement la boîte. 1 boîte par dilution. Puis, une fois la première solidifiée, ajout d'une deuxième couche de milieu TSC.

x Incubation à 37 °C pendant 24 heures, dans des conditions anaérobies.

x Confirmation : On prélève 5 colonies suspectes (colonies noires) qu'on étale sur TSC non-supplémenté. Même chose sur milieu sanguin (Blood Agar). Puis incubation en milieu anaérobie à 37 °C pendant 24 heures.

Détection des salmonelles

Référence : norme ISO 6579: 2002. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella spp.*

x Prélèvement.

x Pré-enrichissement : 1 ml de lait dans 9 ml d'eau peptonée.

x Incubation à 37 °C pendant 24 heures.

x Enrichissement sélectif : Transfert de 0,1 ml du pré-enrichissement dans un milieu liquide RV (Rappaport — Vassiliadis). Et transfert de 1 ml du pré-enrichissement dans un milieu liquide MK (Miller — Kaufmann).

x Incubation : 24 heures à 42 °C (au bain — marie) pour le RV. 24 heures à 37 °C pour le MK.

x Isolement : Pour chacun de ces deux milieux, inoculation d'une oese du milieu sélectif sur les milieux BPLS Agar et XLD Agar, et étalement.

x Incubation : 24 heures à 37 °C.

x Confirmation : Transfert de 5 colonies suspectes sur gélose nutritive (Nutrient Agar). Les colonies suspectes sur BPLS sont roses — transparentes et sur XLD ont un centre noir. Les boîtes dont le milieu à jaunit sont à écarter : elles sont lactose — positives, or les salmonelles sont lactose — négatives.

x Incubation : 24 heures à 37 °C.

x Transfert sur TSI Agar et Urea Agar (milieu à l'urée).

Détection des *Listeria monocytogenes*

Référence : norme ISO / DIS 11290-1. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* — Detection method.

x Prélèvement.

x Enrichissement primaire : 1 ml de lait dans 9 ml de demi-Fraser.

x Incubation : 24 heures à 30 °C.

x Enrichissement secondaire : On inocule 0,1 ml du premier enrichissement dans 10 ml de Fraser complet.

x Incubation : 48 heures à 37 °C.

x Etalement : On prélève dans l'enrichissement secondaire une oese qu'on étale sur Oxford Agar (milieu solide). On fait la même chose sur PALCAM Agar.

x Incubation : 24 heures à 37 °C.

x Lecture des boîtes : L'existence de colonies creuses au centre noir indique la présence de *Listeria monocytogenes*.

Pour les prélèvements de lait caillé :

Le même protocole est appliqué. Cependant, compte-tenu d'une FMT (Flore Microbienne Totale) *a priori* très développée, pour sa détermination seules les dilutions à 10^{-5} et 10^{-6} sont utilisées.

Pour les écouvillons :

Seule la FMT est déterminée, en utilisant des dilutions à 10^{-1} et 10^{-2} .

De plus, étant donné que le prélèvement est solide, il est nécessaire, préalablement aux dilutions, de rincer les écouvillons dans 5 ml de tampon eau peptonée (en utilisant le vortex quelques secondes), pour mettre le prélèvement en solution.

3. *Entrée des données*

a. Les fiches de résultats

Lors des prélèvements de terrain, chaque jour une fiche d'enregistrements est remplie (voir figure 3). Celle-ci comporte les informations suivantes :

- le lieu de prélèvement (aire de prélèvement et nom de la localité),
- la date,
- l'identification du prélèvement (lait de la vache, du marché, etc.),
- le nom du responsable du lait (éleveur, collecteur ou vendeuse),
- l'heure de prélèvement ainsi que la température atmosphérique,
- le type de prélèvement (lait cru, lait caillé ou écouvillon),
- la température du lait prélevé,
- son pH,
- des commentaires supplémentaires, concernant la nature des récipients et ustensiles utilisés, les différentes pratiques, etc.

Field Protocol – Contamination points

Market Area :

	Date	ID	Collection time and outside temp.	Sample type 1=raw milk 2=sour milk 3=swab	Temp. (°C)	pH	Origin	Comments
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								
30								

Figure 3 : Fiche de prélèvements

D'autres fiches sont remplies, concernant les résultats de laboratoire (Figure 4).

La fiche - type utilisée comporte les informations suivantes :

- le lieu de prélèvement et le nom de l'éleveur,
- la date,
- l'identification du prélèvement,
- le comptage des colonies (TBC) pour les différentes dilutions. 2 comptages par dilution,
- le résultat du calcul correspondant en cfu/ml,

- le comptage des colonies de coliformes pour les différentes dilutions. 2 comptages par dilution,
- le résultat du calcul correspondant en cfu/mL (pour les coliformes),
- le résultat de la production de gaz,
- le résultat du test à l'indole,
- à partir de ces trois dernières données, le résultat du calcul du nombre de cfu/mL d'*Escherichia coli* confirmées,

- le comptage des colonies de staphylocoques pour les deux dilutions. 2 comptages par dilution,
- le résultat du test à la coagulase,
- le résultat du calcul du nombre de cfu/mL de *Staphylococcus aureus*,
- la présence ou l'absence de *Bacillus cereus*,
- la présence ou l'absence de *Salmonella*,
- la présence ou l'absence de *Listeria monocytogenes*.

Laboratory results

Period of investigation :

TBC

No.	ID	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	Cfu/ml
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								

Coliforms/E. coli

No.	ID	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	Cfu/ml Coliforms	Gas	Indol	Cfu/ml E. coli
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									

No.	ID	<i>Staph.</i>				<i>B. cereus</i>	<i>Cl. perfringens</i>	<i>Salmonella</i>	<i>L. monocytogenes</i>
		10 ⁻¹	10 ⁻²	Coag.	Cfu/ml				
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									

Comments :

Figure 4 : Fiches de résultats d'analyses de laboratoire

TROISIEME PARTIE : Résultats

1. Prélèvements

Au total, au cours des quatre semaines de travail sur le terrain, 161 prélèvements ont été pratiqués, comme suit :

X 55 prélèvements de lait au niveau de l'animal

X 19 de lait mélangé du troupeau

X 5 de lait de collecteurs

X 18 de lait au marché dont

x 7 de lait cru

x 11 de lait caillé

X 14 écouvillons de calabasses en bois dont

x 11 correspondent au récipient utilisé pour la traite

x 3 au récipient utilisé pour recueillir le lait du troupeau

X 5 écouvillons de filtres (en toile identique à celle des moustiquaires)

X 3 écouvillons d'entonnoirs dont

x 1 utilisé par un collecteur

x 2 utilisés par les fermiers

X 4 écouvillons de jerricans dont

x 1 de collecteur

x 3 de récipients du lait du troupeau

X 31 écouvillons de « margarine » (récipients en plastique, très courants, typiquement d'anciens pots de margarine, de différentes contenance (2,5 ; 5 ou 10 litres)) dont

x 18 utilisés pour le lait du troupeau

x 8 pour la traite

x 5 au marché

X 1 écouvillon de récipient en métal (pot de peinture) utilisé pour la traite

X 4 écouvillons de sacs en plastique utilisés pour la vente

X 1 écouvillon de calabasse en plastique

X 1 écouvillon d'une louche utilisée pour servir les clients au marché

2. Résultats globaux

Concernant la contamination globale du lait, sur un échantillon de 97 prélèvements, dont 86 de lait frais et 11 de lait caillé, on observe la présence (pour les *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Bacillus cereus* et *Clostridium perfringens*) ou une concentration supérieure aux normes européennes (pour la FMT, Flore Microbienne Totale, les coliformes totaux, les *E. coli* confirmés et les Staphylocoques coagulase-positifs) dans les proportions décrites par la figure 5.

38,2 % des prélèvements de lait effectués au cours de cette étude avaient une FMT dépassant la norme européenne en vigueur, soit 10^5 cfu/ml.

Les coliformes sont en surnombre (toujours par rapport au standard, 10^4 cfu/ml) dans 34,0 % des cas, ce qui est une proportion bien moindre que celle observée dans l'étude préalable (Hempfen M., 2002) (83 % à 100 % selon le stade dans la chaîne de production et de commercialisation). De la même façon les *E. coli* confirmés sont au-delà de la norme (10^4 cfu/ml) dans seulement 4,1 % des échantillons (contre 25 % à 46 % dans l'étude préalable). Les staphylocoques coagulase-négatifs sont eux en surnombre dans 32,0 % des prélèvements de lait (contre 20 à 31 % dans l'étude de Michaëla Hempfen).

Ces différences observées sont vraisemblablement dus à une sur-représentation des prélèvements de lait directement au pis de la vache dans notre étude. Il est aussi probable qu'un premier travail de formation et de sensibilisation à l'hygiène effectué en début d'année auprès de la population-cible de la présente étude ait commencé à porter ses fruits.

Par ailleurs on suspecte la présence de salmonelles dans 12,4 % des échantillons (entre 0 et 9 % dans l'étude précédente), mais ces cas restent à confirmer et ont été envoyés au laboratoire de Berlin dans cette optique. Nous n'avons pas retrouvé de cas de *Listeria*.

Enfin on a observé la présence de *B. cereus* dans 49,5 % des cas (contre 15 à 35 % précédemment) et celle de *Clostridia* dans 21,6 % des échantillons de lait (9 à 21 % dans l'étude préalable).

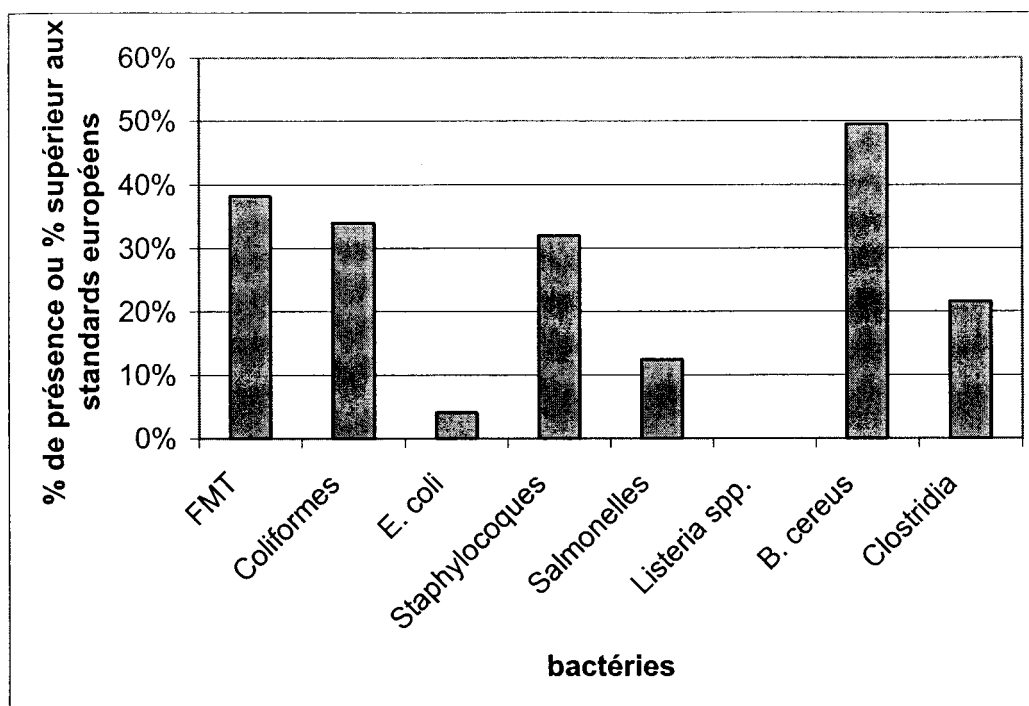


Figure 5 : Proportion des prélèvements de lait dans lesquels les bactéries ont été retrouvées ou ont une concentration supérieure aux normes européennes d'hygiène laitière

3. *Distribution*

Le dénombrement des colonies totales (FMT : Flore Microbienne Totale), lorsque le comptage des colonies était impossible du fait de leur trop grand nombre, nous empêche de faire des moyennes. Nous avons donc fait une classification logarithmique. Par exemple la classe 2-3 correspond à des prélèvements dont le logarithme de la FMT est supérieur à 2 et inférieur ou égal à 3 (donc dont la charge bactérienne est comprise entre 100 et 1000 cfu/ml).

Si on différencie le lait selon son origine (lait directement prélevé au pis de la vache, prélèvement du lait mélangé du troupeau, ou prélèvement après la production, au marché ou au niveau du collecteur), on observe des distributions selon les classes de log très différentes les unes des autres.

En effet le lait des vaches est très préférentiellement dans des classes basses. 91 % des prélèvements sont en deçà de la norme européenne qui s'établit pour ce type de produit à 10^5 cfu/ml. Et 9 % sont au-delà.

En ce qui concerne le lait des troupeaux, seuls 21,1 % des prélèvements remplissent ce standard, et 78,9 % ont des charges bactériennes totales supérieures à 10^5 cfu/ml.

Enfin le lait au marché et au niveau des collecteurs est très fortement contaminé, avec seulement 4,3 % des prélèvements en dessous de la norme européenne, et 95,7 % au-delà, et 65,2 % des prélèvements ont une charge bactérienne très importante, supérieure à 10^7 cfu/ml, et bien souvent très supérieure (colonies souvent incomptables au labo).

Ces différences dans la distribution de la FMT montrent très clairement que la colonisation globale du lait par les bactéries se fait très préférentiellement au niveau du producteur, et que la contamination post-production, si elle est bel et bien présente, est de moindre ampleur.

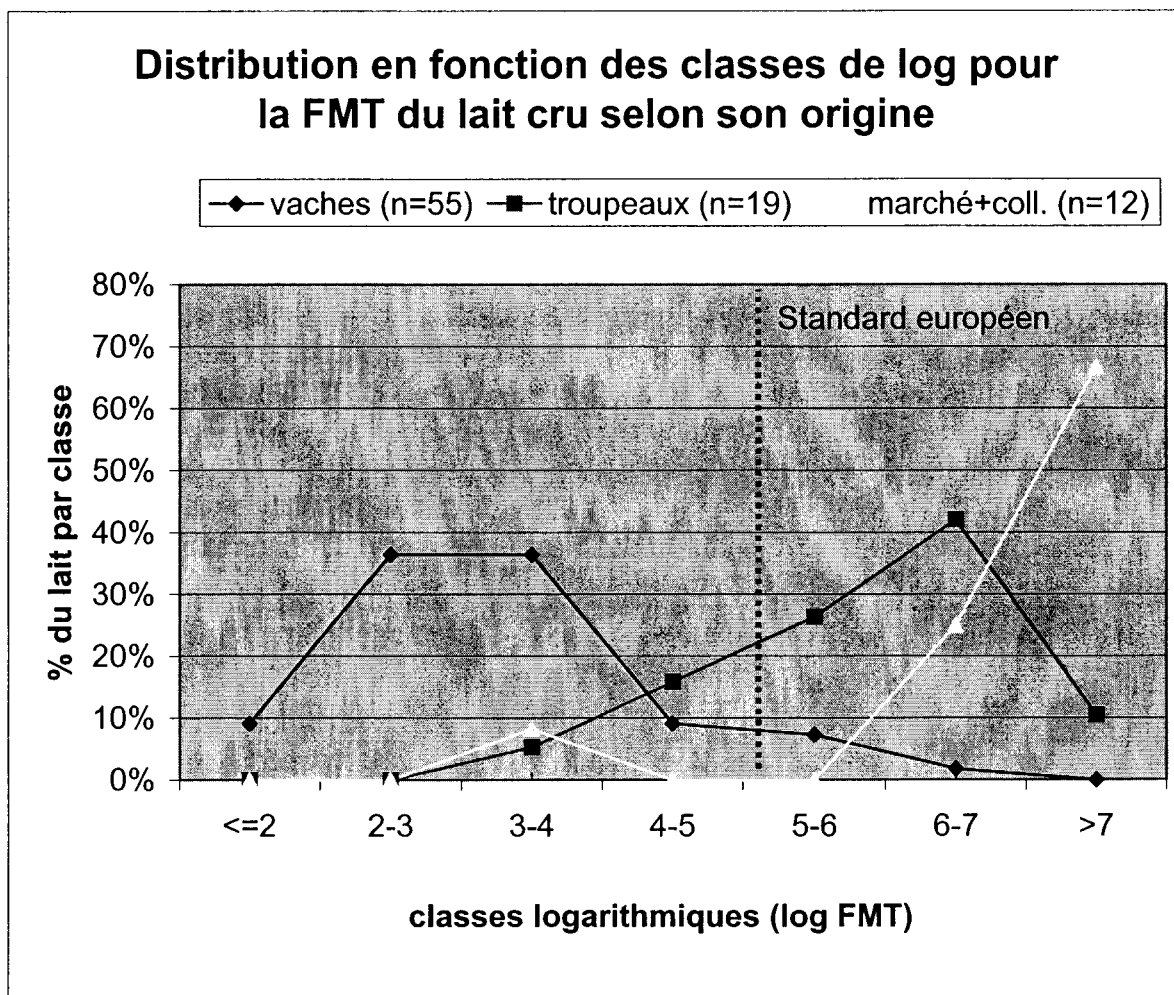


Figure 6 : Distribution en fonction des classes de logarithme pour la Flore Microbienne Totale (FMT) du lait cru selon son origine

4. Chaînes complètes

Lors de l'étude, pour 6 chaînes producteur-vendeur on a pu suivre le lait tout au long de la chaîne.

Contrairement à la précédente qui prenait en compte l'ensemble des prélèvements, la figure 7 représente l'évolution de la charge bactérienne totale (FMT) et du niveau de contamination par les coliformes pour 5 chaînes producteur-collecteur (pour une chaîne)-vendeur, individuellement.

On observe nettement que, pour chacune des chaînes prises individuellement, aussi bien la FMT que la concentration en coliformes augmente au fur et à mesure qu'on progresse dans la chaîne.

Et le facteur d'accroissement de la charge microbienne (aussi bien celle de la FMT que celle des coliformes) semble en général, ici aussi, être le plus important au niveau du producteur, ce qui confirme la tendance générale décrite précédemment (voir tableau 1).

Dans le cas de l'éleveur Samba Baldeh, le faible facteur d'accroissement de la FMT (1,7) et la baisse substantielle de la charge en coliformes (charge divisée par 7,5) entre les niveaux vaches individuelles et lait du troupeau peuvent s'expliquer par le fait que le lait d'une des vaches sujettes au prélèvement avait une FMT et un taux de coliformes anormalement élevés en regard des autres animaux, et la présence de salmonelles dans son lait à été détectée. Ces observations semblent indiquer un cas de mammite sub-clinique, d'ou vraisemblablement un biais dans l'interprétation des résultats concernant cette chaîne de production.

Eleveur	Niveau	Facteur d'accroissement de la FMT	Facteur d'accroissement de la charge en coliformes
Abdoulie Jawo	Producteur	2455	$\geq 33,9$
	Producteur-vendeur	2,14	???
Tunko Sowe	Producteur	15,5	$\geq 5,2$
	Producteur-vendeur	5,01	???
Samba Baldeh	Producteur	1,7	Baisse facteur 7,5
	Producteur-vendeur	7080	≥ 138
Lamin Sowe	Producteur	60,3	371,5
	Producteur-vendeur	871	???
Modi Jallow	Producteur	13183	331,1
	Producteur-collecteur	Baisse facteur 1,4	$\geq 4,5$
	Collecteur-vendeur	$\geq 14,4$	Baisse $\geq 3,4$

Tableau 1 : Facteurs d'accroissement de la FMT et de la charge en coliformes aux différents niveaux de la chaîne de production, pour 5 chaînes suivies intégralement

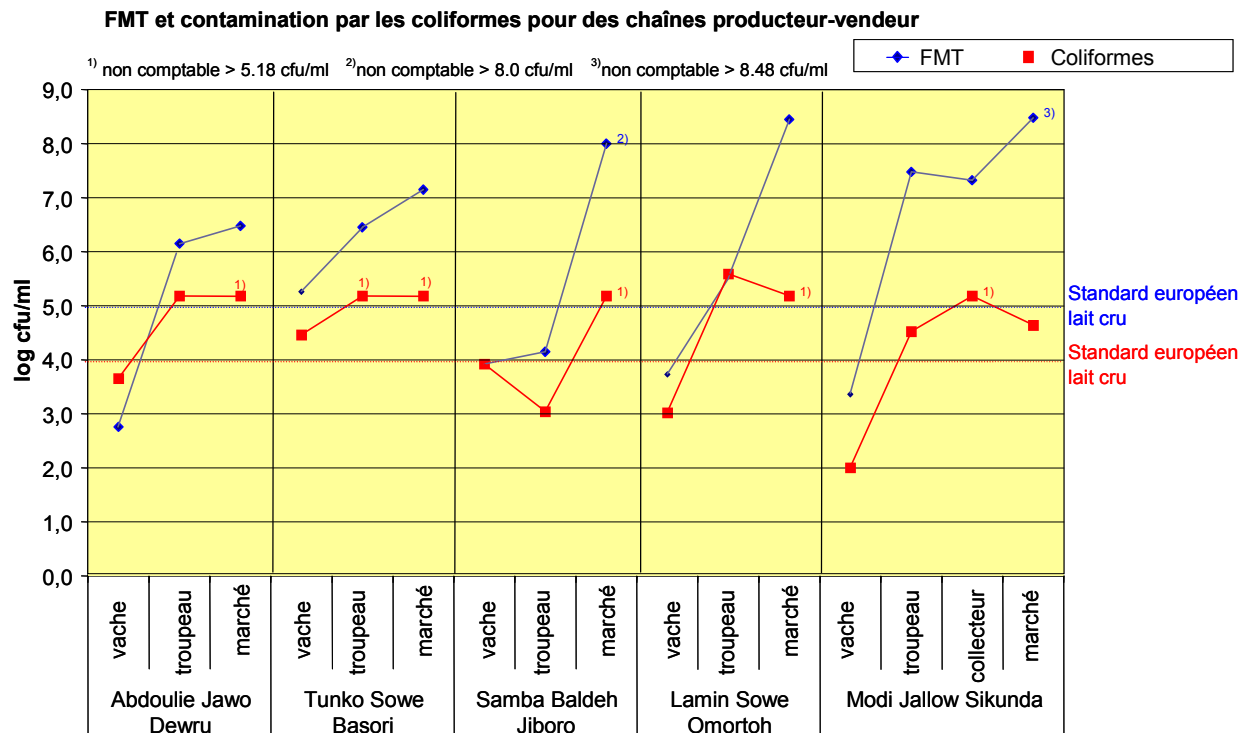


Figure 7 : FMT (Flore Microbienne Totale) et contamination par les coliformes pour des chaînes de production (producteur-(collecteur)-vendeur)

5. Comparaison des récipients

Si on s'intéresse maintenant aux ustensiles utilisés, deux principaux types de récipients pour recueillir le lait sont utilisés : laalebasse en bois, et le récipient en plastique de type « pot de margarine » de plusieurs contenances.

La figure 8 montre la distribution de la FMT en classes de logarithmes pour ces deux types de récipients.

Les distributions en classes sont de 13 % et 0 % en classe inférieure à 2 ($\log(\text{FMT}) < 2$), 16 % et 14 % en classe 2 ($\log(\text{FMT})$ compris entre 2 et 3), 7 % et 29 % en classe 3 ($\log(\text{FMT})$ compris entre 3 et 4), et 64 % et 57 % en classe supérieure à 4 ($\log(\text{FMT}) > 4$), pour les récipients en plastique de type « margarine » et pour lesalebasses en bois, respectivement.

Etonnement, on n'observe pas de différence significative quant au niveau de contamination bactérienne totale pour ces deux types d'ustensiles, alors que généralement la littérature rapporte un taux de contamination plus élevé pour les ustensiles en bois, en comparaison avec ceux en plastique, plus aisément lavés. Il est ainsi généralement conseillé (Gran *et al.*, 2002a) d'utiliser des pots en une seule pièce, sans raccord et à fermeture bien hermétique, ce qui correspond plus aux pots type « margarine » qu'auxalebasses en bois, non fermées.

Ces résultats peuvent s'expliquer par un soin plus attentif donné au lavage des Calebasses ou par l'état des différents ustensiles (l'état d'un récipient en plastique abîmé sera moins facilement amélioré que celui d'un ustensile en bois), par exemple. C'est ainsi que, dans une étude récente (Gran et al., 2002b), les ustensiles en plastique portaient un nombre de coliformes plus grand que ceux en métal, du fait même qu'ils étaient rayés.

Pour pouvoir conclure, de plus amples informations seraient nécessaires, concernant l'état des ustensiles, les pratiques des acteurs, etc.

Pour cela il pourrait être intéressant de pratiquer une enquête auprès des éleveurs sur leurs pratiques (lavage, soin apporté au matériel, lieux de stockage du matériel, etc.) et des prélèvements d'eau utilisée pour le lavage et le rinçage des récipients. Cette dernière partie avait été envisagée puis écartée pour des raisons pratiques (examens de laboratoire, etc.).

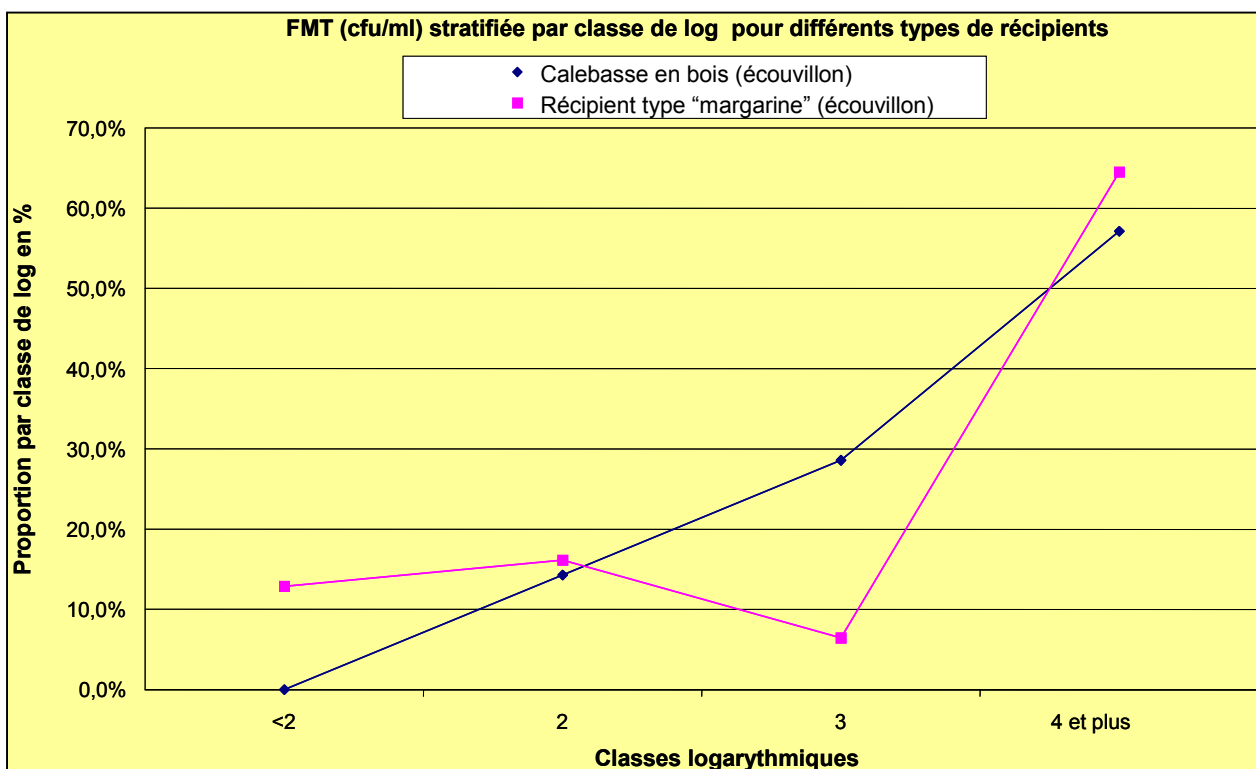


Figure 8 : Comparaison de deux types de récipients pour la distribution de leur FMT en différentes classes de log

6. Relations vaches-troupeaux

On a vu précédemment que le lait est très fortement contaminé au moment de la traite.

On s'intéresse maintenant aux relations qu'il peut y avoir entre le niveau de contamination du lait au niveau des animaux et celui au niveau du troupeau.

Pour cela on a classé les 19 fermes investiguées en fonction du taux de contamination globale du lait de leurs vaches (moyenne des FMT du lait des vaches), de la meilleure à la moins bonne qualité globale de lait des vaches. Puis on compare avec la FMT pour le lait des troupeaux correspondants. Comme le montre la figure 9, il ne semble pas y avoir de relation entre ces deux facteurs. C'est ainsi que c'est la ferme qui est classée à la troisième position sur 19 pour le statut microbiologique global du lait de ses vaches qui a le lait de troupeau le moins propre bactériologiquement, et le lait de troupeau qui contient le moins de bactéries totales provient de l'avant-dernière ferme en ce qui concerne le lait de ses vaches.

Le taux de corrélation entre les deux facteurs est en effet de 0,220, ce qui indique que les deux variables sont très nettement indépendantes l'une de l'autre.

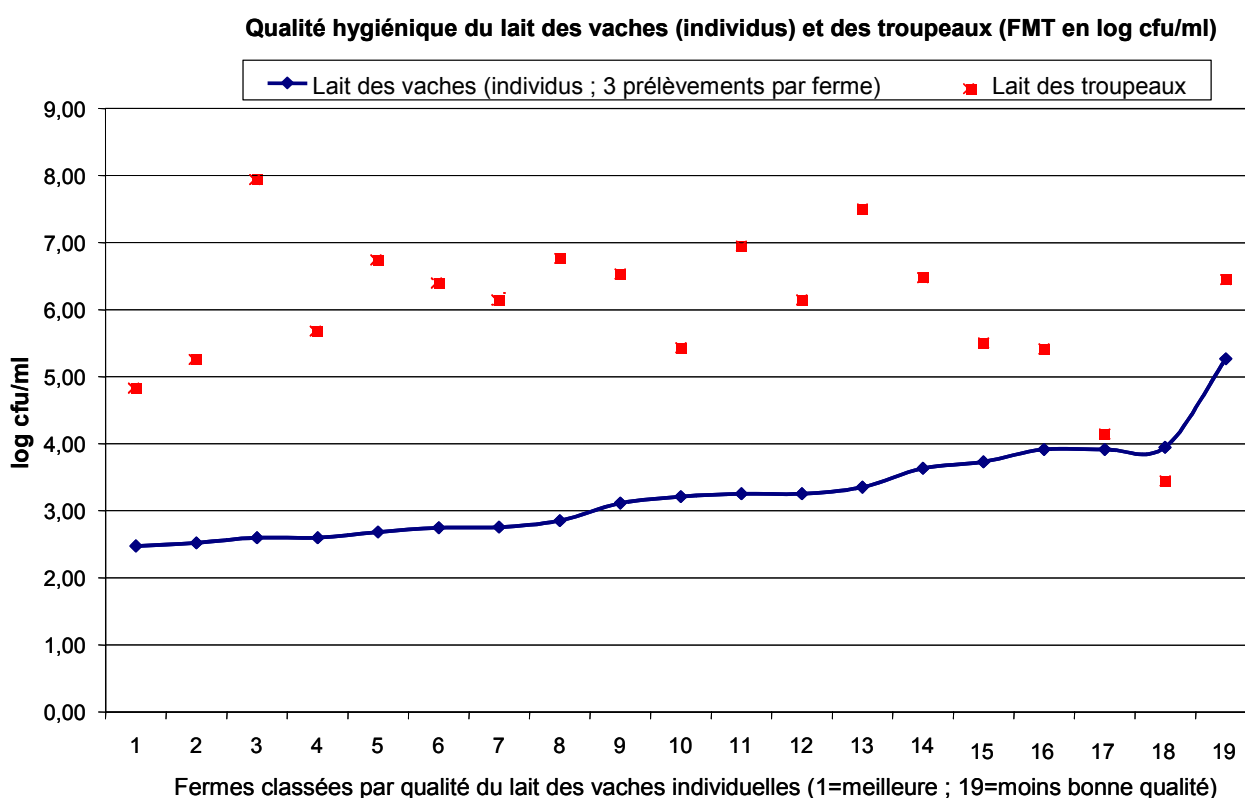


Figure 9 : Relation entre qualité microbiologique du lait des vaches et niveau de contamination du lait des troupeaux

7. Relations vaches-facteurs de prolifération

On peut, après ces résultats, regarder non plus la relation entre les états de contamination du lait des animaux et des troupeaux correspondants, mais s'intéresser cette fois à la relation entre le statut microbiologique (FMT) du lait des vaches et le facteur d'accroissement ou de prolifération bactérien, qui peut nous donner une idée du niveau d'hygiène existant entre les niveaux animaux et troupeaux.

Le coefficient de corrélation entre le logarithme du facteur de prolifération et celui de la FMT des animaux est de -0,659, ce qui indique que ces deux variables sont liées.

La prolifération bactérienne semble donc fonction du statut bactériologique du lait des vaches. En proportion, donc, un lait plus fortement contaminé au niveau animal sera moins contaminé qu'un lait plus « propre », même si la contamination absolue ne suit pas cette tendance.

Log (FMT animaux)	Log (FMT troupeaux)	Facteur de prolifération	Log (facteur prolifération)
2,48	4,83	226,7	2,36
2,52	5,26	541,0	2,73
2,60	7,94	219526,4	5,34
2,60	5,68	1210,2	3,08
2,68	6,74	11374,7	4,06
2,75	6,40	4466,8	3,65
2,76	6,15	2448,0	3,39
2,85	6,76	8130,7	3,91
3,11	6,53	2612,3	3,42
3,21	5,43	166,2	2,22
3,26	6,95	4944,4	3,69
3,26	6,15	777,0	2,89
3,35	7,50	14026,2	4,15
3,63	6,48	696,2	2,84
3,73	5,51	59,4	1,77
3,91	5,41	31,6	1,50
3,92	4,15	1,7	0,23
3,95	3,45	0,3	-0,50
5,27	6,45	15,2	1,18

Tableau 2 : Facteur d'accroissement de la FMT entre lait des vaches et lait des troupeaux

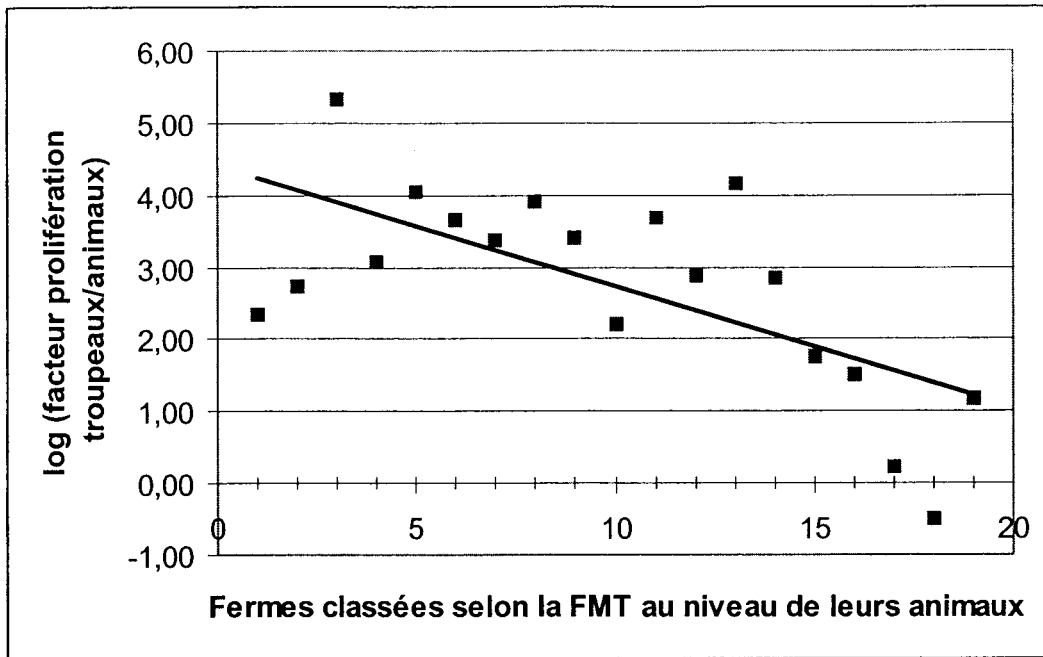


Figure 10 : Relation entre le statut hygiénique des fermes (selon la qualité bactériologique globale de leur lait au niveau des animaux) et la prolifération bactérienne totale

8. Relations récipients-troupeaux

Puisque l'état de contamination globale du lait du troupeau n'est pas lié à un niveau de contamination du lait pré-existant au niveau des animaux, on peut s'intéresser aux relations entre le lait du troupeau et les conditions hygiéniques à la ferme. Pour mesurer ce dernier facteur, nous disposons de résultats d'analyses de laboratoire concernant le statut hygiénique des récipients utilisés lors de la traite par les éleveurs.

Comme précédemment nous allons classer les fermes de la meilleure à la moins bonne, mais cette fois non plus selon le statut hygiénique du lait de leurs vaches, mais selon celui des récipients.

Comme le montre la figure 11, il semble y avoir une relation entre l'état des récipients et celui du lait du troupeau. En effet le coefficient de corrélation entre ces deux variables est de 0,589, ce qui indique une relation relativement marquée.

On peut donc dire que, bien plus que l'hygiène au niveau des animaux, avant traite, c'est l'hygiène lors de la traite, et en particulier semble-t-il (encore devrions-nous avoir d'autres éléments indicateurs des conditions hygiéniques de la traite pour être catégoriques) l'état de contamination bactériologique des récipients (calebasses en bois et récipients de type « margarine » pour l'essentiel) utilisés lors de la traite qui sont déterminant concernant la contamination du lait.

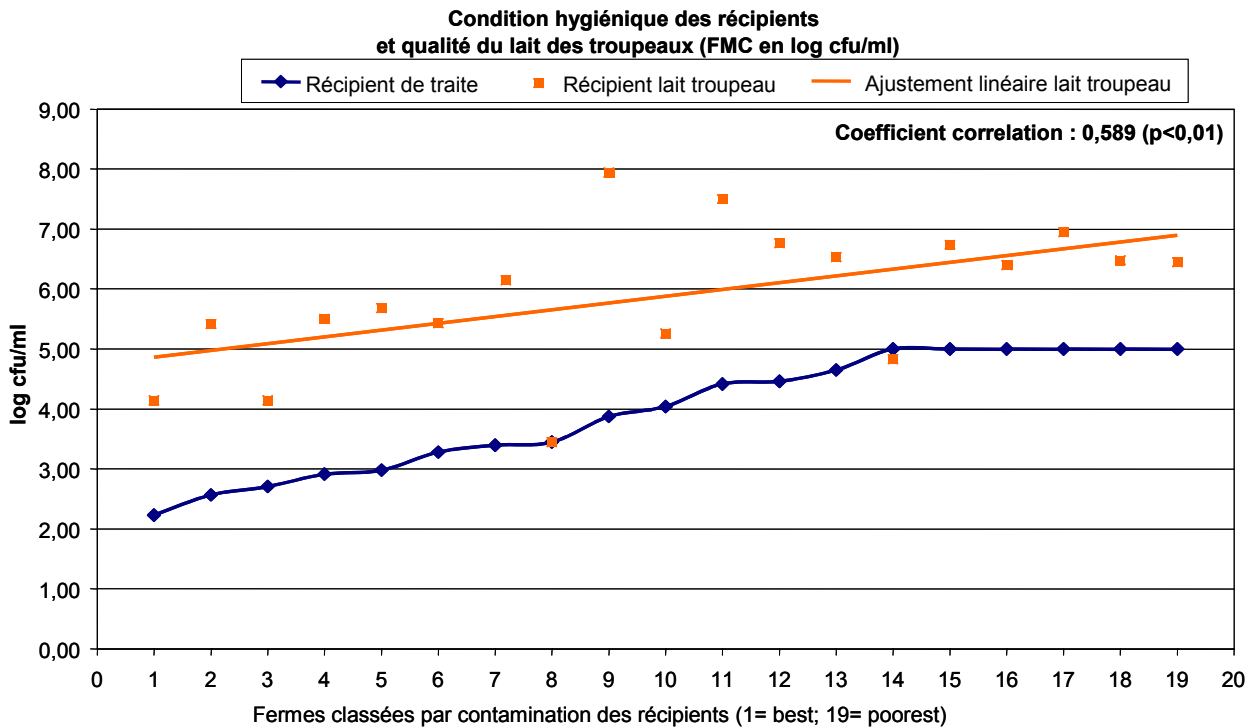


Figure 11 : Relation entre qualité microbologique des récipients de traite et niveau de contamination du lait des troupeaux

9. Relations récipients- facteurs de prolifération

Comme dans le cas de l'étude de la relation lait des vaches — lait des troupeaux, on peut dans celui concernant la relation entre le statut microbologique des récipients utilisés pour la traite et le niveau de contamination des troupeaux, s'intéresser à la relation entre les récipients et le facteur de prolifération bactérien.

Le coefficient de corrélation entre ces deux variables est de -0,292, ce qui démontre qu'il n'y a pas de liaison entre l'intensité de la prolifération bactérienne dans le lait au niveau de l'élevage et l'état hygiénique des récipients utilisés par l'éleveur (Tableau 3 et Figure 12).

log (FMT) récipients de traite	log (FMT) troupeau	facteur d'accroissement de la FMT	log (facteur)
2,23	4,15	83,1	1,92
2,57	5,41	691,8	2,84
2,71	4,15	27,5	1,44
2,91	5,51	398,1	2,6
2,98	5,68	501,1	2,7
3,28	5,43	141,2	2,15
3,4	6,15	562,3	2,75
3,45	3,45	1,0	0
3,88	7,94	11481,5	4,06
4,04	5,26	16,5	1,22
4,41	7,5	1230,2	3,09
4,46	6,76	199,5	2,3
4,65	6,53	75,8	1,88
5	4,83	0,6	-0,17
5	6,74	54,9	1,74
5	6,4	25,1	1,4
5	6,95	89,1	1,95
5	6,48	30,1	1,48
5	6,45	28,1	1,45

Tableau 3 : Facteur d'accroissement de la FMT entre récipients utilisés pour la traite et lait des troupeaux

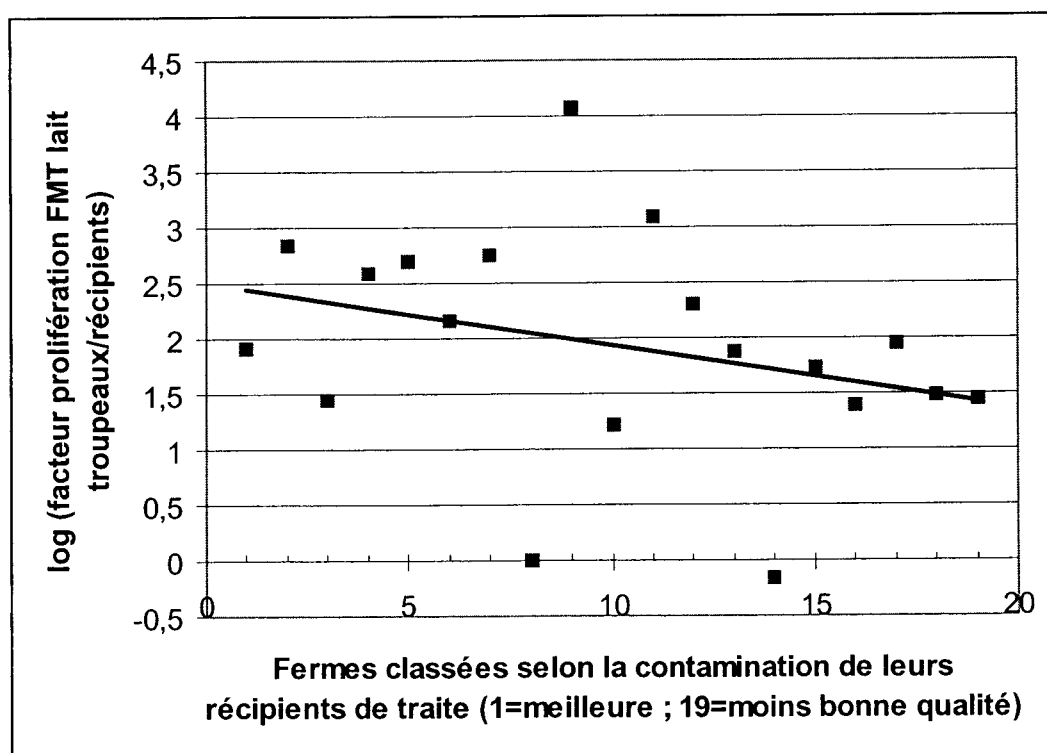


Figure 12 : Relation entre le statut hygiénique des fermes (selon la qualité bactériologique globale de leurs récipients de traite) et la prolifération bactérienne totale

CONCLUSION

L'étude conduite lors de ce stage en Gambie a permis, pour la première fois, une approche de la contamination du lait de bovins non plus sous un angle global, comme l'avait fait une précédente étude, mais sous celui des sources de la contamination.

Après avoir prélevé des échantillons de lait tout au long de la chaîne de production et de commercialisation, et pratiqué des écouillons sur les récipients utilisés par les différents acteurs de la filière, des analyses bactériologiques ont été pratiquées au laboratoire.

Nous nous sommes intéressés tout particulièrement à des bactéries d'intérêt en santé humaine, et/ou d'importance zoonotique.

Comme dans l'étude préalable, les concentrations bactériennes globales de lait s'établissent à un niveau important (sauf pour les *Listeria*, retrouvées dans aucun échantillon), même s'il semble qu'elles soient moindres que dans cette première étude.

De grandes différences quant au niveau de contamination bactérienne totale apparaissent clairement, entre d'une part le lait au niveau des animaux, d'autre part celui aux niveaux des troupeaux (lait des différentes vaches du troupeau mélangé), des collecteurs et du marché, ainsi qu'un niveau de contamination relativement faible au niveau des animaux, indiquent que la contamination bactérienne du lait apparaît principalement au niveau de la ferme.

Les quelques chaînes qui ont été suivies intégralement confirment cette analyse.

Et il est apparu clairement que, pour une part importante, la contamination vient des récipients utilisés lors de la traite.

Mais, avec un certain étonnement, aucune différence significative de niveau de contamination ne semble exister entre ces différents types de récipients.

Cette contamination au niveau de la traite indique la nécessité d'améliorer les conditions hygiéniques de celle-ci, par exemple par l'introduction ou l'amélioration du lavage des ustensiles et récipients utilisés. Dans ce cadre, une étude de faisabilité du remplacement des récipients actuellement utilisés, en bois ou plastique, par des récipients métalliques (plus chers mais plus résistants) peut être envisagée. C'est ainsi que la prise de conscience des éleveurs concernant l'hygiène du lait doit être favorisée plus avant, par exemple par l'intensification des programmes de formation et d'information déjà existants.

Il pourrait aussi être intéressant de poursuivre l'étude à plus grande échelle. En effet, un des obstacles majeurs que nous avons rencontré pour l'analyse des données est le manque quantitatif de données collectées (par exemple, seules 6 chaînes producteur-collecteur-vendeur ont pu être suivies complètement sur les 19 sélectionnées, du fait de la faible quantité de lait produite qui conduisait bien souvent les éleveurs à garder leur lait pour auto-consommation).

Enfin, pour qu'un tel travail puisse véritablement porter ses fruits, c'est une véritable démarche HACCP qu'il conviendrait de mettre en place.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Agyemang K., Dwinger R.H., Little D.A., Rowlands G.J.** 1997. Village N'Dama cattle production in West Africa, Six years of research in The Gambia. International Livestock Research Institute, Nairobi, Kenya, and International Trypanotolerance Centre, Banjul, The Gambia. 131 pp.
2. **FAO, Ministère de l'agriculture de Gambie, Ministère pour les affaires présidentielles, l'assemblée nationale, le service civil, la pêche et les ressources naturelles de Gambie.** 1997. The national agricultural research system of The Gambia, analysis and strategy for the long term. TCP/GAM/6611 F.
3. **Gran H.M., Mutukumira A.N., Wetlesen A., Narvhus J.A.** 2002a. Smallholder dairy processing in Zimbabwe : hygienic practices during milking and the microbiological quality of the milk at farm and on delivery. *Food Control*, **13** : 41-47.
4. **Gran H.M., Mutukumira A.N., Wetlesen A., Narvhus J.A.** 2002b. Smallholder dairy processing in Zimbabwe : the production of fermented milk products with particular emphasis on sanitation and microbiological quality. *Food Control*, **13** : 161-168.
5. **Hempen M.** 2002. Hand out : The hygienic status of milk farms and local markets and associated potential risk for public health (Milk hygiene study).
6. **ISO.** 2002. International Organization for Standardization [On-line]. [2002/09/18]. < URL : <http://www.iso.ch/iso/en/ISOOnline.frontpage> >.
7. **ITC.** 2002. ITC [On-line]. [2002/09/15]. < URL : <http://www.itc.gm> >.
8. United Nations Economic Commission for Africa. 2002. NICI in Africa [On-line]. [2002/09/18]. < URL : www.uneca.org/aisi/nici/Documents-%20French/gambiefr.doc >.
9. **Unger F., Munstermann S.** 2001. Project n° 9. Food hygiene and consumer safety unit. ITC, Banjul, The Gambia.
10. **USAID.** 2002. USAID/Senegal Geography Data Page [On-line]. [2002/09/16]. < URL : <http://edcsnw3.cr.usgs.gov/senegal/fveg.html> >.

ANNEXES

Standards européens pour la qualité microbiologique du lait :

Pour:

- la Flore Microbienne Totale (FMT) : 10^5 cfu/ml.
- les coliformes totaux : 10^4 cfu/ml.
- les *Escherichia coli* : 10^4 cfu/ml.
- les staphylocoques coagulase-positifs : $5 \cdot 10^2$ cfu/ml.