

**Dénombrement des germes totaux
et des bactéries coliformes des laits crus délivrés à la
Centrale laitière de Téhéran,
et détermination du taux de contamination de ces laits
en staphylocoques coagulase-positifs**

par

R. GHAZVINIAN, A. FARKHONDEH, M. MALEKI
et M. KOHNECHAHRI

Département d'Hygiène Alimentaire de l'Université de Téhéran

Introduction

Dans un autre travail, Ghazvinian et Maleki [1] ont déterminé le taux de contamination du rhino-pharynx et de la main chez le personnel des différentes usines alimentaires de la région téhéranaise en staphylocoques coagulase-positifs. Sur 745 prélèvements, le pourcentage de contamination en staphylocoques coagulase-positifs était de 35,5 p.100 pour la fosse nasale, 33 p.100 pour la main et 9,4 p.100 pour la gorge.

L'importance des intoxications alimentaires attribuées aux staphylocoques coagulase-positifs dans la ville de Téhéran, d'une population de plus de 3 000 000 hab., nous a amené à faire une étude sur la contamination par ces germes de quelques aliments d'origine animale avant le traitement thermique.

Au cours de ce travail, nous nous sommes proposés de dénombrer les germes totaux et les bactéries coliformes des laits de livraison à la Centrale laitière gouvernementale de Téhéran en déterminant le taux de contamination de ces laits en staphylocoques coagulase-positifs.

Protocole expérimental

Au cours d'une période allant du 15 mars 1970 à la fin de février 1971, nous avons prélevé 1 000 échantillons de lait de 120 éleveurs produisant du lait pour la Centrale laitière de Téhéran. A l'exception d'une seule ferme, dont le lait est transporté en camion-citerne,

TABLEAU 1

Température, Pluviométrie et Humidité relatives pour les mois de l'année dans la région de Téhéran (période de 1943-1965)
(Latitude : 35° 41'N - Longitude : 51° 19'E - Hauteur : 1 198 m)

Mois de l'année	Température (° C)					Pluviométrie (mm)				Humidité relative		Nombre de jours		Soleil
	Moyenne	Max. moyen.	Min. moyen.	Maximum	Minimum	Total mensuel (mm)	Jours d'un mm ou plus	Jours de 10 mm ou plus	Maximum 24 h	03 GMT	09 GMT	Gel	Neige	
Janvier	3,2	8,1	-1,7	18,6	-16,1	38,2	5,3	1,0	25,1	78	55	19	3	186,0
Février	5,5	10,8	0,2	23,0	-12,2	27,0	4,4	1,0	39,7	66	41	14	1,5	185,0
Mars	9,8	15,5	4,1	26,1	- 5,6	32,3	4,9	0,5	12,3	61	35	5	0,3	222,0
Avril	15,3	21,3	9,3	32,0	- 4,1	25,4	6,1	1,2	39,0	57	30	0,2	—	310,0
Mai	21,6	28,1	15,1	36,2	2,0	13,6	3,2	0,2	9,0	42	21	—	—	209,0
Juin	26,4	33,2	19,6	40,1	8,9	2,0	1,0	—	3,1	34	13	—	—	349,0
Juillet	29,5	36,4	22,6	42,5	14,7	0,6	0,3	—	0,6	32	17	—	—	356,0
Août	28,5	35,2	21,8	42,2	11,1	1,7	0,1	0,1	12,0	32	18	—	—	340,0
Septembre	24,9	31,2	18,6	38,0	8,3	1,5	0,3	—	2,2	32	18	—	—	309,4
Octobre	18,3	24,6	12,0	34,4	1,7	5,6	1,5	0,1	15,3	42	24	—	—	270,0
Novembre	10,7	16,1	5,3	25,0	- 7,5	27,0	3,5	1,0	19,5	59	35	2	0,1	209,0
Décembre	5,1	9,0	0,5	19,4	-15,0	27,4	4,6	0,5	38,8	74	48	10	1,5	191,0
Année	16,5	22,5	10,6	42,5	-16,1	202,3	35,2	5,6	39,7	51	30	50,2	6,4	3136,0

TABLEAU 2

Taux de contamination des laits crus délivrés à la Centrale laitière de Téhéran en staphylocoques coagulase-positive

Saison	Nombre d'échantillons	Positifs	p. 100 des cas positifs	Max.	Min.	Moyenne
Printemps	294	48	16,3	7×10^4	3×10^1	5×10^3
Eté	169	12	7,1	2×10^6	1×10^2	2×10^4
Automne	244	29	11,8	4×10^8	1×10^2	5×10^2
Hiver	293	54	18,4	2×10^4	1×10^2	1×10^3
Toute l'année	1 000	143	13,4	2×10^5	3×10^1	6×10^3

tout le lait est arrivé au quai de réception en bidons de 20 à 50 l. Sur 120 fermes, 45 seulement possédaient des tanks de réfrigération du lait. Pour chaque ferme, des prélèvements ont été effectués deux fois par saison. Le rayon de ramassage du lait pour la Centrale laitière de Téhéran, traitant à l'heure actuelle 180 000 l de lait/j, est au maximum de l'ordre de 60 km. Le tableau 1 montre la température, la pluviométrie et l'humidité relative pour les différents mois de l'année de la région de Téhéran.

Méthode et matériel

Les prélèvements ont été effectués conformément aux normes internationales FIL [2, 3]. Un échantillon est prélevé sur chacun des bidons pris au hasard en utilisant un plongeur, en acier inoxydable, préalablement stérilisé à l'eau bouillante, et après avoir mélangé soigneusement le lait à l'aide d'un agitateur stérilisé de même façon. Les flacons stériles contenant les échantillons sont gardés dans la glace et transportés le plus rapidement possible vers le laboratoire.

Chaque échantillon est utilisé pour l'ensemencement en vue de la numération totale, dénombrement des bactéries coliformes et des staphylocoques coagulase-positifs. Les milieux suivants ont été utilisés :

- Milieu de référence [4] pour la numération totale.
- Violet Red Bile Agar [5] pour le dénombrement des bactéries coliformes.
- Milieu Baird-Parker [6, 11] pour la recherche des staphylocoques.

La température et la durée d'incubation utilisées étaient pour la numération des germes totaux de 30° C/72 h, pour le dénombrement des bactéries coliformes de 30° C/24 h et pour la recherche des staphylocoques de 37° C/48 h.

Les colonies de staphylocoques ont été isolées et ensemencées sur le milieu Trypticase soya agar BBL en vue de la recherche ultérieure de la coagulase et dans le cas où le test de la coagulase était positif, le typage de bactériophage était effectué.

Résultats

Le tableau 2 montre le taux de contamination des laits crus de ferme en staphylocoques coagulase-positifs.

Sur 1 000 échantillons examinés, le nombre des cas positifs est de 143 (13,4 p. 100) avec un minimum de 3×10^1 , un maximum de 2×10^6 et une moyenne de 6×10^3 au cours de l'année. Les tableaux 1 et 2 nous montrent que pour une température plus élevée le nombre des cas positifs de contamination en staphylocoques coagulase-positifs est plus bas.

TABLEAU 3

Résultats de la numération des germes totaux et des bactéries coliformes des laits crus délivrés à la Centrale laitière de Téhéran

Saison	Nombre d'échantillons	Dénombrement des germes totaux			Bactéries coliformes		
		Max.	Min.	Moyenne	Max.	Min.	Moyenne
Printemps	294	8×10^8	2×10^6	15×10^7	3×10^6	1×10^2	1×10^6
Eté	169	5×10^8	2×10^6	8×10^7	7×10^6	9×10^1	1×10^6
Automne	244	41×10^7	13×10^4	3×10^7	7×10^6	1×10^2	4×10^5
Hiver	293	19×10^7	7×10^4	2×10^7	8×10^6	1×10^2	4×10^5
Toute l'année	1 000	8×10^8	7×10^4	7×10^7	8×10^6	9×10^1	8×10^5

Le tableau 3 montre les résultats de la numération des germes totaux et le dénombrement des bactéries coliformes des laits crus délivrés à la Centrale laitière de Téhéran.

D'après ce tableau, le nombre maximum pour les germes totaux est de 8×10^8 , le minimum 7×10^4 et la moyenne 7×10^7 , et, pour les bactéries coliformes, de 8×10^6 , 9×10^1 et 8×10^5 .

Le tableau 4 montre les résultats du dénombrement des germes totaux, des bactéries coliformes et des staphylocoques coagulase-positifs des laits crus des fermes ayant des appareils de réfrigération du lait.

On voit par ce tableau que le nombre des germes totaux et des bactéries coliformes est plus bas dans le lait provenant de ces fermes tandis que le pourcentage de la contamination en staphylocoques coagulase-positifs est relativement plus élevé.

Les tableaux 5 et 6 montrent les types de bactériophages des staphylocoques isolés des laits crus de livraison à la Centrale laitière de Téhéran avec le pourcentage correspondant.

D'après le tableau 6, 18,1 p.100 des staphylocoques coagulase-positifs ont été de types mixtes et dans un seul cas le phage 42 D a été lysé et, comme il était accompagné d'autres phages, nous l'avons groupé en types mixtes.

Commentaires

Le taux de contamination du lait cru en staphylocoques coagulase-positifs est variable selon les conditions de production. Mc Philipps et Cuningham [7] ont trouvé le taux maximum de 10^4 /ml de lait cru de tank de qualité A. D'après Murray [8] 30 p.100 des laits crus étaient exempts de staphylocoques et 1,6 p.100 seulement contenaient plus de 10^8 /ml. Seelman, Oliger, Rachov et Welz [9] n'ont pas trouvé de staphylocoques dans 68 p.100 des laits crus et 11 p.100 seulement des échantillons contenaient moins de 10^8 /ml. Sharpe, Fewins, Reitz et Cuthbert [10] ont montré que 5 p.100 seulement des échantillons contenaient moins de 10^6 /ml et 30 p.100 plus de 10^4 .

Dans notre expérience sur le lait de 120 producteurs, dans une période de quatre saisons, nous n'avons pas rencontré de staphylocoques coagulase-positifs dans 86,6 p.100 des cas. Mais dans 45 fermes ayant des appareils de réfrigération du lait, le pourcentage des cas négatifs était de 77 p.100. On voit d'ailleurs bien qu'avec une température plus élevée et en l'absence de réfrigérants le nombre des germes totaux et des bactéries coliformes est plus élevé tandis que le nombre des staphylocoques est plus bas. Cela prouve l'influence certaine de la croissance des autres germes et en particulier, les ferments lactiques sur le développement des staphylocoques dans les laits produits et collectés dans de mauvaises conditions.

TABLEAU 4

Résultats de dénombrement des germes totaux, des bactéries coliformes et des staphylocoques coagulase-positifs des laits de fermes ayant des appareils de réfrigération du lait

Nombre d'échantillons	Staphylocoques coagulase +					Germes totaux			Bactéries coliformes		
	Cas positifs	p. 100 des cas positifs	Max.	Min.	Moyenne	Max.	Min.	Moyenne	Max.	Min.	Moyenne
303	70	23,1	80,000	100	1750	15×10^7	7×10^4	19×10^6	3×10^8	1×10^8	3×10^5

TABLEAU 5

Types de bactériophages des staphylocoques isolés des laits crus délivrés à la Centrale laitière de Téhéran

Source	N. d'organismes	Groupe de phage																				Non typables		
		Type I					Type II					Type III						Type IV		Types divers				
		29	52	52A	79	80	34	3B	3C	55	71	6	7	42E	47	53	54	75	77	42D	81		187	83A
		3	10	4	8	14	5	0	6	4	2	11	6	13	2	7	9	5	0	1	14	5	7	44

TABLEAU 6

Pourcentage des staphylocoques isolés sensibles aux bactériophages

Source de contamination	Nombre d'examens	I	II	III	IV	Mixtes	Divers	Non typables
Lait cru	93	7,5	5,3	11,8	—	18,1	9,6	47,3

Summary

1 000 samples of raw milk from 120 farms producing milk for the Tehran pasteurizing Plant have been studied for total and coli count with special reference to coagulase-positive staphylococci. According to the results obtained, in 86,6 p.100 of the cases no coagulase-positive staphylococci has been found but in 45 samples coming from the farms equipped with cooling apparatus the percentage of positive cases is 23,1 p.100. This is certainly due to the influence of the growth of other microorganisms and in particular the lactic acid bacteria on the staphylococcal strains.

Remerciements

Nous tenons à remercier M. le Pr H. Neshat, Directeur du Département d'hygiène alimentaire de l'Université de Téhéran, pour les conseils qu'il a bien voulu nous adresser au cours de ce travail. Nous remercions également les responsables de la Centrale laitière de Téhéran pour les facilités qu'ils nous ont faites et enfin nous remercions nos collègues du Centre de typage des bactériophages de la Faculté d'Hygiène de l'Université de Téhéran pour l'aide qu'ils nous ont apportée pour la classification des bactériophages.

Reçu pour publication en août 1971.

Bibliographie

- [1] GHAZVINIAN (R) and MALEKI (M.) (1971). — Nasal, Hand and Throat Carriage of Coagulase-positive *Staphylococcus aureus*. In *Food Handlers in Tehran* (sous presse).
- [2] Methods of sampling milk and milk products. *International Standard FIL/IDF*, 2, 1958.
- [3] Standard methods for sampling milk and milk products. *International Standard FIL/IDF*, 50, 1969.
- [4] Colony count of liquid milk and dried milk (1958). *International Standard FIL/IDF*, 3, 1958.
- [5] Méthode de routine normalisée pour le dénombrement des bactéries coliformes dans le lait cru. *Norme Internationale FIL/IDF*, 39, 1966.
- [6] BAIRD PARCKER (A. C.) (1962). — *J. Appl. Bact.*, 25, 12.
- [7] Mc PHILIPS (J.), and CUNNINGHAM (E. A.) (1962). — *Aus. J. Dairy Technol.*, 17, 95.
- [8] MURRAY (J. G.) (1963). — *J. Soc. Dairy Technol.*, 15, 25.
- [9] SEELMAN (M.), OBIGER (G.), RACHOV (H. G.) and WRLZ (W.) (1963). — *Dairy Sci. Abstr.*, 25, 3270.
- [10] SHARPE (M. E.), NEAVE (F. K.) and REITER (B.) (1962). — *J. Appl. Bact.*, 25, 403.
- [11] THIEULIN (G.), BASILLE (D.), PANTALÉON (J.), ROSSET (R.), GANDON (Y.) et PETIT (A.) (1966). — Recherche des staphylocoques pathogènes dans le lait et les produits laitiers. *Le Lait*, n° 453-454, 131.