

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

**Prévalence des principales bactéries responsable de mammites
subclinique des vaches laitières**

Présenté Par :
SIRINE Chaimaa

Devant le jury composé de :

Pr BELAHCENE Miloud
Dr ABDELLAOUI
Dr. BOUAMRA Mohammed

Pr UAT.B.B (Ain Temouchent)
MCB UAT.B.B (Ain Témouchent)
M C A UAT.B.B (Ain Témouchent)

Président
Examinateur
Encadrant

Année Universitaire 2020/2021

Remerciements

Tout d'abord nous rendons grâce à Dieu, lui qui nous a permis d'être bien portant afin d'effectuer ce travail du début jusqu'à la fin.

je remercie mes parents pour leur soutiens durant mon parcours de formation. Mes remerciements vont, au directeur de mémoire, Docteur Bouamra Mohamed, lui qui m'a guidés avec ses orientations, ses conseils et ses critiques tout au long de ce travail de recherche en ma laissant la liberté dont j'avais besoins. Je ne peux que lui être reconnaissant surtout pour ses qualités intellectuelles et humaines.

Et enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers,

À mes parents, Pour leurs amour et leurs présence à mes côtés, qui ont su trouvé les mots adéquat pour m'encourager et me soutenir et pour la joie qu'ils m'ont apporté tout le long de mon parcours, longue vie à eux inchallah, que dieu les protèges

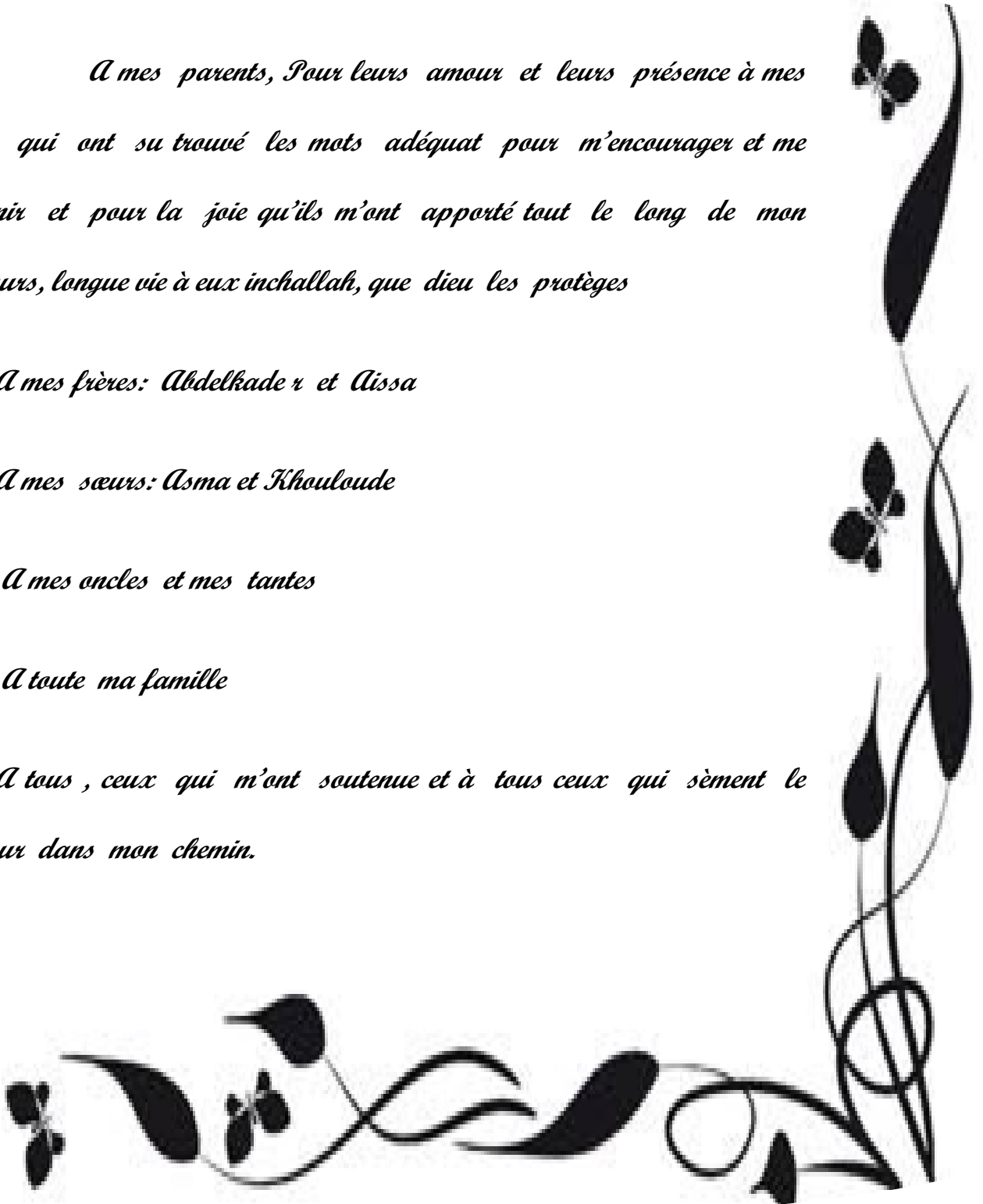
À mes frères: Abdelkader et Aissa

À mes sœurs: Asma et Khouloude

À mes oncles et mes tantes

À toute ma famille

À tous , ceux qui m'ont soutenue et à tous ceux qui sèment le bonheur dans mon chemin.



Contenu

<i>Remerciements</i>	2
<i>LISTE DES FIGURES</i>	8
<i>LISTE DES TABLEAUX</i>	9
<i>LISTE DES ABRÉVIATIONS</i>	10
INTRODUCTION	1
<i>PARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	4
1 Généralités sur les mammites	3
1.1 Définition des mammites	3
1.2 Impacts des mammites en élevage bovin laitier	3
1.2.1 Impact économique	3
1.2.2 Impact technologique lors des mammites	3
1.3 Conséquences hygiéniques des mammites	4
2 Classification des mammites	4
2.1 Mammite subclinique	4
2.2 Mammite clinique	5
3 Étiologie des mammites subclinique rencontrées en élevage bovin laitier	6
3.1 Pathogènes majeurs des mammites subcliniques	6
3.1.1 <i>Escherichia coli</i>	6
3.1.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
3.1.3 <i>Streptococcus uberis</i>	8
3.1.4 <i>Streptococcus agalactiae</i>	9
3.1.5 <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	9

3.2	Les agents pathogènes mineurs	10
3.2.1	<i>Staphylocoque à coagulase négative (SCN)</i>	10
3.2.2	<i>Klebsiella spp</i>	10
3.2.3	<i>Mycoplasma bovis</i>	11
3.2.4	<i>Trueperella pyogenes</i>	11
3.2.5	<i>Corynebacterium bovis</i>	12
3.2.6	<i>Pseudomonas spp.....</i>	12
3.2.7	Levures, champignons et algues	12
4	Modèles épidémiologiques des principaux pathogènes impliqués dans les mammites subcliniques.....	13
4.1	Modèle mammaire ou modèle contagieux :.....	13
4.2	Modèle environnemental.....	13
4.3	Modèle mixte.....	14
4.3.1	Réservoirs des agents pathogènes	15
5	Diagnostic des mammites subcliniques en élevage bovin laitier	16
5.1	Le Taux Cellulaire du Tank (TCT).....	16
5.2	Le Comptage Cellulaire Somatique Individuelle (CCSI).....	16
5.3	Le Californian Mastitis Test (CMT).....	17
5.4	Mesure de la conductivité électrique du lait	18
6	Traitements des mammites subcliniques	18
6.1	Traitement des mammites subcliniques en lactation.....	19

6.2	Traitement des mammites subcliniques au tarissement	19
7	Mesures prophylactiques des mammites subcliniques	22
7.1	Prophylaxie médicale	23
7.2	Prophylaxie sanitaire	24
	<i>PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE</i>	26
1	Objectifs et méthodologie	26
1.1	Objectifs de l'étude	26
1.2	Région d'étude	26
1.3	Matériel non biologique	27
1.4	Matériel biologique	28
1.5	Échantillonnage et la collecte des informations	28
1.5.1	Le test de CMT	28
1.5.2	Principe et technique de réalisation	28
1.6	Prélèvement de lait	30
1.7	Analyses bactériologiques	31
1.7.1	La constitution des pools	31
1.7.2	La préparation des milieux de culture	31
1.7.3	L'enrichissement	32
1.7.4	La dilution	33
1.7.5	Isolement	33
1.7.6	Identification microscopique des germes	34

1.8	Antibiogramme.....	38
2	Résultats et discussions.....	31
2.1	Caractéristiques de l'échantillon étudié.....	31
2.2	Résultats Tests de CMT	31
2.3	Prévalence des mammites selon le stade de lactation	32
2.4	Prévalence des mammites selon range de lactation.....	33
2.5	Résultats par rapport aux quartiers :	33
2.6	Résultats bactériologiques	34
2.6.1	Prévalence des différentes espèces isolées lors de mammites subcliniques	34
	<i>CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS</i>	43
	<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>	49

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Circulation selon un modèle contagieux d'un agent infectieux dans une population (Durel et al., 2011)	13
Figure 2: Circulation selon un modèle environnemental d'un agent infectieux dans une population (Durel et al., 2011)	14
Figure 3: Situation géographique de la de la daïra d'Ain Bessem	26
Figure 4: Technique de réalisation du Californian Mastitis Test (CMT).....	29
Figure 5: les échantillons du lait (photo personnel)	31
Figure 6: Préparation de milieu de culture	32
Figure 7: Enrichissement des prélèvements de lait sur BHIB.....	33
Figure 8: Tubes de dilution	33
Figure 9: Ensemencement sur milieu Hektoen	34
Figure 10: Test de la coagulase	36
Figure 11: La présence de l'uréase : le milieu vire au rouge violacé.....	37
Figure 12: Réalisation de l'antibiogramme	38
Figure 13: Résultats du CMT des vaches examinées durant notre étude.....	32
Figure 14: Prévalence des mammites selon le stade de lactation.....	32
Figure 15: Prévalence des mammites selon range de lactation.....	33
Figure 16 Résultats du test CMT selon le score de chaque quartier	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Score de sévérité des mammites cliniques.....	5
Tableau 2: Principaux réservoirs des agents pathogènes.....	15
Tableau 3: Comparaison des propriétés des antibiotiques utilisés pour le traitement (Hanzen, 2016).....	22
Tableau 4: Matériel du terrain.....	27
Tableau 5: Matériel de laboratoire.....	27
Tableau 6: Interprétation du Leucocyttest selon les indications accompagnant le réactif.....	30
Tableau 7: Tableau représentatif des informations recueillent des échantillons.....	31

LISTE DES ABRÉVIATIONS

°C : Degré Celcius

Km² : Kilomètre carré

% : pourcent

Kg : kilogramme

ml : millilitre

mm : millimètre

ADN : Acide Désoxyribonucléique

PH : Potentiel d'hydrogène

CCS : comptage cellulaire somatique

TCT : Taux Cellulaire du Tank

CCSI : Concentrations Cellulaires Somatiques Individuelles

PNN : Polynucléaires neutrophiles

C.M.T. : Californian Mastitis Test

Na⁺ : sodium

K⁺ : potassium

Cl⁻ : chlorure

CCS : **Comptage Cellulaire Somatique**

LPS : lipopolyoside

O² :dioxygène

H²O² : l'eau oxygénée

MH : Muller Hinton

ONPG : orthonitrophényl-B-D-galacto-pyranoside

TSI :Triple Sugar Iron

BHIB : Brain-Heart Infusion Broth (Bouillon d'infusion cœur-cervelle)

N° : numéro

h : heure:

Str. : *streptocoque*

k. : *Klebsiella*

SCN : *Staphylocoque coagulase négative*

QAD : Quartier Antérieur Droit

QAG : Quartier Antérieur Gauche **QPD** : Quartier Postérieur Droit

QPG : Quartier Postérieur Gauche

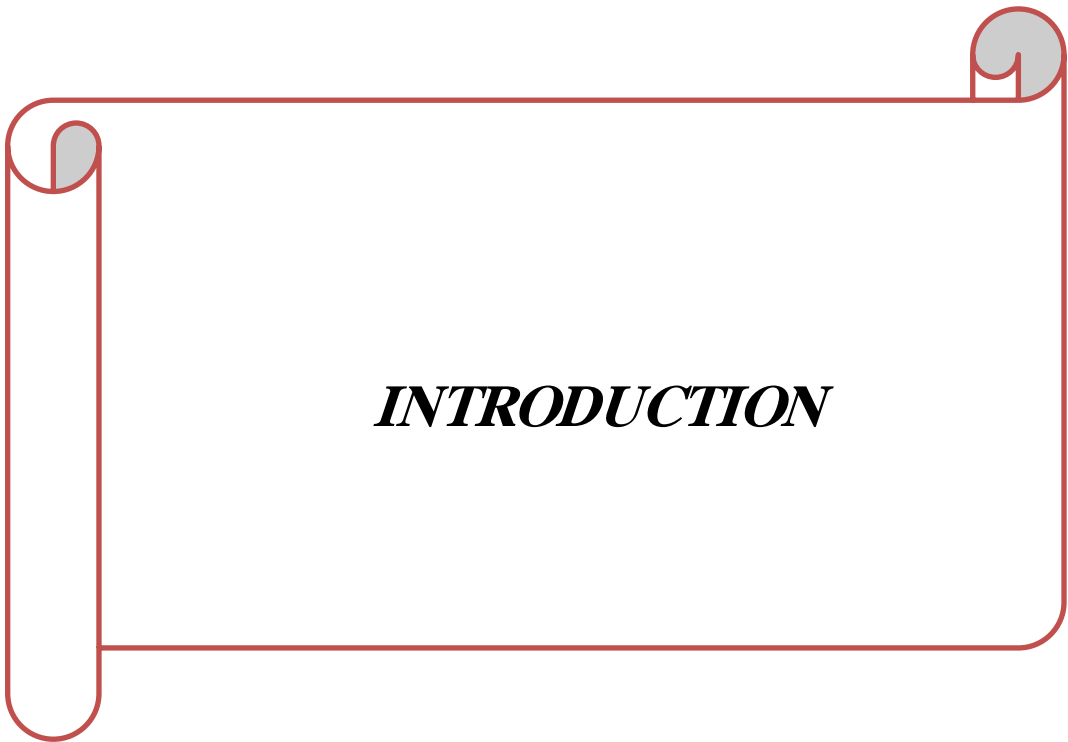
R : Résistant

S : Sensible

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S. : *Staphylococcus*

E.coli : *Escherichia coli*



INTRODUCTION

INTRODUCTION

La mammite est considérée comme l'une des pathologies les plus importantes, fréquentes et coûteuses affectant les vaches laitières (**Bradley, 2002 ; Boutet et al., 2005**), et la plus pénalisante pour les élevages laitiers (**Remy, 2010**). La mammite est la première pathologie rencontrée en élevage laitier. Cette inflammation de la mamelle est le plus souvent due à une contamination par voie diathélique (par le canal du trayon) d'au moins un quartier. Les bactéries sont les pathogènes les plus courants. Des levures ou des algues le sont nettement plus rarement. Une fois qu'il a pénétré dans la citerne du trayon, le germe adhère à l'épithélium et se multiplie. Il colonise l'ensemble du tissu jusqu'aux alvéoles sécrétrices (**Francoz et Couture, 2014**). Cette colonisation altère le métabolisme de la mamelle. La synthèse des constituants protéiques et des triglycérides est diminuée et un phénomène de cytolysse peut même se déclarer. Un tissu cicatriciel se met en place ce qui peut diminuer la capacité de production de l'organe à moyen terme. On distingue les mammites cliniques, associées à des signes cliniques locaux et/ou généraux, des mammites subcliniques qui sont asymptomatiques

La mammite subclinique se traduit le plus souvent sous forme inapparente, sans symptôme ni altération visible du lait. Biologiquement, elle se manifeste seulement par une augmentation du taux des leucocytes et des cellules épithéliales détectées par divers tests de comptage cellulaire et des examens bactériologiques plus poussés. Ces tests permettent d'apprécier l'état sanitaire de la mamelle et d'identifier l'origine à ce problème (**Remy, 2010**). Elles sont caractérisées par la présence de germes pathogènes dans le lait, en nombre anormalement élevé (**Millogo et al., 2010**). A cet égard, les infections subcliniques sont responsables d'environ 80 % de l'ensemble des pertes économiques associées aux mammites, liées à une réduction de la production et de la qualité du lait, ainsi qu'aux coûts de traitements et de préventions (**Petrovski et al., 2006**).

Dans de nombreux pays développés, une mise sous surveillance systématique et régulière est entreprise au sein des élevages laitiers afin de dépister les cas de mammites.

En revanche, en Algérie la plupart des élevages ne sont soumis à aucun contrôle laitier régulier. La fréquence des mammites cliniques et subcliniques est élevée (**Beroual, 2003**). Selon le ministère de l'Agriculture et du Développement rural, l'Algérie a un cheptel

de 900 000 vaches laitières, dont 230 000 bovins laitiers à haut potentiel. L'Algérie, troisième importateur mondial après l'Italie et le Mexique, a une consommation moyenne de lait de 130 L/habitant/an (**Amellal, 1995.**). La production nationale (toutes espèces confondues) en lait est estimée à 2,5 milliards de litres /an (assurée à 73% par un cheptel bovin laitier), alors que les besoins se chiffrent à plus de 4,5 milliards de litres/an, ce qui montre un déficit criard de près de 60%. De ce fait, l'Algérie a recours chaque année à l'importation de poudre de lait pour combler le déficit, dont le montant représente plus du quart de la facture réservée aux importations (soit 800 millions de Dollars) (**M.A.D.R, 2014.**).

Afin de réduire les coûts d'importation, les pouvoirs publics ont opté pour l'importation massive de vaches laitières, mais l'augmentation de la production laitière doit aussi s'accompagner d'une amélioration de l'état sanitaire des vaches.

La présente étude a eu pour objectif d'évaluer la prévalence de mammites subcliniques dans des exploitations laitières, en utilisant le test Californian Mastitis Test (CMT) sur terrain et les tests bactériologiques au laboratoire. La bactériologie permet un diagnostic étiologique précis du micro-organisme en cause. Elle est considérée comme la méthode de référence.

Notre travail est structuré en deux parties, une première partie bibliographique et une deuxième partie expérimentale, qui est consacrée au diagnostic des mammites subcliniques dans quatre fermes de la région de Bouira , et comprend deux volets Dans le 1er volet, sont présentés le milieu d'étude, le matériel et méthodes utilisés sur le terrain comme au laboratoire et dans un second volet, les résultats sont présentés puis discutés.



PAPARTIE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Généralités sur les mammites

1.1 Définition des mammites

Une mammite se définit comme une inflammation d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle quelle qu'en soit l'origine : traumatique, chimique, physique ou biologique. Chez la vache, cette inflammation est secondaire à une infection mammaire par des agents bactériens (et de manière plus rare par des levures, des algues unicellulaires ou des virus). L'infection est dans la majeure partie des cas secondaire à une inoculation par voie diathélique, c'est-à-dire par le canal du trayon. Comme tout phénomène infectieux, une mammite fait intervenir trois acteurs : la bactérie, l'hôte (et plus précisément ses mécanismes de défense) et l'environnement (**Hanzen, 1999 ; Remy, 2010**).

1.2 Impacts des mammites en élevage bovin laitier

1.2.1 Impact économique

Les répercussions économiques des mammites sont importantes à connaître puisqu'elles vont motiver la réalisation d'une visite d'élevage. Les mammites occupent le 1er rang des affections bovines en termes d'impact économique. Elles sont suivies par l'infertilité et les boiteries. L'impact économique total des mammites cliniques est important. En effet, une vache atteinte de mammite représente une perte de lait pour le producteur. Selon **Wattiaux (2003)**, le nombre de cellules somatiques présentes dans le lait a une incidence sur la performance de lactation.

D'après Craven et Yamagata cités par **Soedji (1996)**, la persistance des infections de type subclinique tout au long de la lactation explique leur importance économique, cette persistance entraîne une réduction de la production pendant longtemps, ce qui sabote les résultats de lactation des vaches infectées. Une étude, menée en Tunisie par **Mtaallah (2002)**, a permis d'estimer, à l'aide d'un modèle statistique simple, les pertes moyennes en lait ; dues aux mammites subclinique, et ces pertes s'élèvent à 524 kg par vache et par an.

1.2.2 Impact technologique lors des mammites

Les modifications physico-chimiques et biologiques du lait diminuent sa qualité technologique et perturbent les processus de sa transformation. Ces modifications entraînent une diminution du rendement fromager, texture, goût et odeur anormaux. La persistance des antibiotiques dans le lait après traitement des mammites provoque une inhibition de la flore

lactique entraînant un mauvais égouttage et l'envahissement par la flore colibacillaire et les moisissures.

1.3 Conséquences hygiéniques des mammites

Certaines bactéries pathogènes et / ou leurs toxines, ainsi que les résidus après traitement, sont présents dans le lait de la vache atteinte de mammite et constituent un grand danger pour le consommateur aussi bien l'Homme que le veau. Parmi les bactéries les plus impliquées dans les intoxications alimentaires par ingestion des produits laitiers il y a :

- ✓ *Staphylocoques dorés* (toxines) : ses toxines peuvent entraîner des troubles digestifs graves, environ 38% des toxi-infections alimentaires présumées à *S. doré* sont dues à des produits laitiers.
- ✓ *Listéria* : Les formes graves de listériose peuvent entraîner des avortements, méningites, et sont parfois mortelles chez l'Homme.
- ✓ *Coliformes* : Ils entraînent des troubles digestifs.
- ✓ *Salmonelles* : Ces germes provoquent des troubles digestifs.
- ✓ *Streptococcus agalactiae* : Des cas de méningites néonatales liées à la consommation de lait contaminé ont été décrits aux U.S.A chez l'homme.

2 Classification des mammites

Les mammites peuvent être classées selon leur forme clinique :

2.1 Mammite subclinique

Par définition, les mammites subcliniques sont asymptomatiques. Les animaux atteints ne présentent ni symptômes fonctionnels (pas de modification du lait), ni symptômes locaux (pas de signes externes d'inflammation), ni symptômes généraux. Une mammite subclinique se définit par l'absence de modifications visibles du lait et une élévation du comptage cellulaire somatique (CCS) du quartier atteint. Grâce au contrôle laitier, on peut connaître le CCS moyen de chaque vache tous les mois. Si le CCS est supérieur à 200 000 cellules/mL sur un mélange de lait des quatre quartiers, alors il est considéré que la vache est atteinte de mammite subclinique sur un ou plusieurs quartiers (**Roy et Schmitt, 2014, Royster et Wagner, 2015**). Le diagnostic des mammites subcliniques est donc moins aisé que pour les mammites cliniques. Il existe un test complémentaire au CCS mensuel pour pouvoir les détecter. Il s'agit du Californian Mastitis Test (CMT). Ce test est réalisable au chevet de

l'animal à l'aide d'un réactif que l'on mélange à 2 ml de lait de chaque quartier. Il permet de détecter la mammite subclinique et de savoir quel est le ou les quartier(s) atteint(s). Les mammites subcliniques peuvent guérir spontanément ou alors rester à ce stade plusieurs mois voire même s'aggraver et basculer vers la mammite clinique (**Roy et Schmitt, 2014, Royster et Wagner, 2015**).

2.2 Mammite clinique

Les mammites cliniques sont caractérisées par la présence de symptômes fonctionnels et locaux, et en particulier de lait à l'aspect anormal. Le lait est modifié dans son aspect, sa texture et dans la quantité produite (**Bosquet et al., 2005**). Le lait provenant du quartier atteint peut être d'aspect aqueux ou épaissi, coloré par du sang ou du pus, avec présence de grumeaux ou de caillots. Elles s'accompagnent parfois d'une très forte réaction inflammatoire et de symptômes graves qui peuvent être spectaculaires (congestion, œdème, sécrétion du lait décomposée ou purulente, abcès, fistule et gangrène). Enfin, dans certains cas de mammites cliniques, des signes généraux peuvent être présents avec de la fièvre, de la déshydratation, de la faiblesse et une baisse d'appétit (**Faroult et al., 2003**). Selon l'association de signes généraux ou signes locaux, l'intensité et la rapidité d'apparition des symptômes, la distinction est faite entre :

Tableau 1: Score de sévérité des mammites cliniques (**Faroult et al., 2003**)

Grade	Sévérité	Signes cliniques	% des cas de mammite clinique
1	Faible	Modification de l'apparence du lait (secretions aqueuses, grumeaux)	50-60%
2	Modérée	Modification de l'apparence du lait et signes d'inflammation du quartier (rougeur, douleur, chaleur, induration)	30-40%
3	Sévère	Atteinte systémique de l'animal (abattement, fièvre, anorexie, decubitus, déshydratation) et signes locaux	5-10%

3 Étiologie des mammites subclinique rencontrées en élevage bovin laitier

Les germes pathogènes majeurs sont potentiellement responsables de mammites cliniques. Ce sont les germes les plus virulents. C'est le cas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, les streptocoques (notamment *Streptococcus uberis*). Ils représentent 86% des germes responsables de mammites cliniques (Argente, 2005). Dans de plus rare cas, on retrouve *Trueperella pyogenes*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, des mycobactéries, mycoplasmes, brucelles, levures, algues. Ils sont parfois responsables de sévères réactions locales, d'une forte hausse des concentrations cellulaires somatiques, d'une baisse de production, et même parfois de la mort de la vache. Les germes pathogènes mineurs sont rarement responsables de mammites cliniques. C'est le cas des staphylocoques à coagulase négative et *Corynebacterium bovis* (Reyher et al., 2010). Selon certains auteurs, les germes pathogènes majeurs ont une plus forte importance économique et épidémiologique (Remy, 2010).

3.1 Pathogènes majeurs des mammites subcliniques

Elles sont appelés majeurs du fait leur importance tant économique qu'épidémiologie. Cinq espèces bactériennes sont responsables à elles seules de 90% des infections mammaires. Les mammites subcliniques sont principalement causées par des staphylocoques et des streptocoques donc par des bactéries à Gram-positif. *S. aureus* et *S. agalactiae* et *S.uberis* constituent les deux germes les plus souvent rencontrés dans les mammites subcliniques (Bradley et al., 2002 ; Oviedo-Boyso et al., 2007) .

3.1.1 *Escherichia coli*

Escherichia. coli, également appelé colibacille appartient à la famille des Entérobactéries.

E. coli est une bactérie à gram négatif d'origine digestive, que l'on retrouve principalement dans la litière. C'est une bactérie mobile, vivant isolé ou groupé par paire, sa capsule polysaccharidique rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément, il y a aussi certaines souches qui sécrètent de toxines. La présence d'adhésines, nommées fimbriae, permet à *E. coli* d'adhérer aux cellules épithéliales et de résider ainsi dans la lumière des canaux lactifères. Elle est transmise principalement entre les traites mais elle peut également l'être suite à un défaut de nettoyage des trayons en empruntant les modes de transmission des germes de traite. *E coli* a plutôt tendance à rester dans le sinus lactifère mais

cette bactérie peut également s'implanter profondément dans la mamelle. Elle peut aussi dans certains cas passer dans le sang et provoquer une bactériémie (**Remy, 2010**).

Elle est fréquemment responsable de mammites cliniques, souvent accompagnées de signes généraux, rencontrées en début de lactation, et non précédées ni suivies d'élévation durable des concentrations cellulaires (**Seegers et Serieys, 2002**). Les infections ont lieu le plus souvent pendant le tarissement (**Descoteaux, 2004**). Selon **Hogan et Smith (2003)**, les infections par *E. coli* au moment du tarissement provoquent 65% des mammites cliniques apparaissant lors des 2 premiers mois de lactation. Cette valeur varie selon les études, en effet, selon **Bradley et Greent (2000)**, 52,6% des mammites à entérobactéries survenant lors des 100 premiers jours de lactation sont issues d'une contamination pendant le tarissement.

3.1.2 *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, immobiles, groupés en amas, non sporulés appartenant à la famille des *Staphylococcaceae*. Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires, commensales de la peau et des muqueuses des mammifères et des oiseaux. Dans un élevage laitier, *S. aureus* une bactérie responsable d'un nombre important de mammites chez les bovins, tant subcliniques que cliniques. L'élimination de l'infection est difficile, et favorise le développement d'infections chroniques constituant un réservoir majeur de bactéries au sein du troupeau. Cette bactérie est très majoritairement retrouvée sur la peau et au niveau des muqueuses : la présence de lésions au niveau des trayons (gerçures, lésions d'hyperkératose...) ou au niveau de la mamelle, favorise la création d'un réservoir « animal » de la bactérie. Ce germe est connu pour sa forte contagiosité. En effet, cette bactérie se transmet principalement pendant la traite et son caractère contagieux s'explique par le fait qu'une vache infectée contamine les vaches saines par l'intermédiaire du manchon trayeur, de remontées de lait ou par l'intermédiaire des mains du trayeur (principalement par des mains crevassées) (**Remy, 2010**).

Staphylococcus aureus présente plusieurs facteurs de virulence lui permettant d'exercer son pouvoir pathogène, d'infecter de manière profonde le parenchyme mammaire et d'échapper à la réponse immunitaire. *Staphylococcus aureus* produit ainsi une toxine α (qui expliquerait notamment le tableau clinique rencontré lors de mammite gangréneuse), une coagulase, des fibrinolysines, des leucocidines, des hémolysines et des hyaluronidases (**Hanzen, 2015**). Après pénétration dans la mamelle, l'expression de certains facteurs de virulence permet l'adhésion de la bactérie avec les cellules de l'hôte et avec la matrice

protéique extracellulaire (Wallemacq et al., 2010) ; l'expression de protéines se liant à la fibronectine, au fibrinogène et au collagène permet ainsi l'adhésion bactérienne. Dans un second temps, l'expression de facteurs tels que les hémolysines, les leucocidines et certaines enzymes (coagulases, hyaluronidases, protéases) permet de faciliter l'invasion et la pénétration de la bactérie dans le parenchyme (Oviedo-Boyso et al., 2007). Enfin après avoir franchi la barrière mammaire, la bactérie est capable d'échapper au système immunitaire. En effet, la protéine A inhibe l'opsonisation et la phagocytose médiées par les anticorps (Foster, 2005) alors que la capsule polysaccharidique, exprimée durant la phase de croissance, est capable d'interférer avec la phagocytose (Thakker et al., 1998), même si la contribution de cette capsule à la survie de la bactérie semble plus faible avec les souches bovines de *S. aureus* qu'avec les souches humaines (Wallemacq et al., 2010). La production de biofilm et la capacité à survivre à l'intérieur des cellules épithéliales mammaires (Atalla et al., 2010) et à résister à l'activité bactéricide des granulocytes neutrophiles (Garzoni et Kelley, 2009) contribuent également à la survie de la bactérie chez l'hôte. Ce germe est ainsi assez résistant aux traitements. Les rechutes sont donc fréquentes. Une infection à *Staphylococcus aureus* se manifeste par des cas cliniques peu sévères ou discrets, rencontrés sur toute la lactation, survenant surtout chez des vaches ayant déjà des concentrations cellulaires somatiques élevées qui persistent plusieurs mois après l'épisode clinique. Ces germes sont plus fréquemment à l'origine de mammites subcliniques et chroniques, rendant leur diagnostic et leur contrôle difficile (Wallemacq et al., 2010).

3.1.3 *Streptococcus uberis*

Streptococcus uberis représente à l'heure actuelle le principal streptocoque à l'origine de mammites chez la vache laitière en Europe. C'est une cocci à Gram positif, α hémolytique, esculines +, saprophyte du milieu extérieur. En effet, cette bactérie est d'origine digestive, on la retrouve donc inévitablement dans la litière, mais elle peut persister à la surface de la peau de la mamelle et des trayons. En cas de contamination, on peut retrouver cette bactérie au niveau de l'épithélium mammaire. Cette bactérie peut parfois s'implanter profondément dans la mamelle (Remy, 2010). Cette bactérie exerce sa virulence par différents mécanismes. Certaines souches de *S. uberis* isolées lors de mammites présentent la capacité d'adhérer à l'épithélium mammaire lésé. Cet attachement semble cependant ne pas être associé au premier stade de pathogénicité de cette bactérie (Thomas et al., 1992) : l'adhésion à l'épithélium mammaire ne semble en effet être possible que lorsque l'épithélium mammaire est altéré et serait par conséquent probablement une conséquence de l'inflammation. Elle ne surviendrait

donc essentiellement qu'après le début de l'épisode de mammites (**Leigh, 1999**). *Streptococcus uberis* est également capable de résister à la phagocytose par les neutrophiles (**Hill et al., 1994**) : cette capacité de résistance serait liée à la production d'une capsule d'acide hyaluronique par certaines souches de la bactérie (**Leigh et Field, 1994**). Cette capsule n'aurait en revanche qu'un effet limité sur les mécanismes de résistance à la phagocytose de *S. uberis* par les macrophages (**Grant et Finch, 1997**). Les infections mammaires à *S. uberis* s'installent au cours de la lactation ou durant la période sèche ou pendant les premières semaines de lactation avec des manifestations cliniques ou subcliniques. Les cas cliniques sont de sévérité moyenne, avec rarement des signes généraux. En général, il n'y a pas d'élévation préalable des concentrations cellulaires somatiques mais l'infection est suivie d'une élévation de la concentration cellulaire assez persistante, répondant assez bien au traitement (**Seegers et Serieys, 2002**).

3.1.4 *Streptococcus agalactiae*

S. agalactiae est une espèce bactérienne prend l'aspect de coques d'environ 1µm de diamètre qui forment de longues chaînes. C'est un Streptocoque à Gram-positif, β-hémolytique (ou pyogène) appartenant au groupe B de la classification de Lancefield. La bactérie possède une capsule polysaccharidique ayant un effet anti-phagocytaire, bien que cet effet puisse être inhibé par des anticorps spécifiques. Cette bactérie présente une capacité à adhérer aux cellules épithéliales mammaires conduisant à une inflammation locale, souvent chronique en l'absence de traitement. La contamination des animaux se fait très classiquement durant la traite à partir d'un animal infecté (germe dit « de traite ») (**Keefe, 2012**). Sa prévalence a largement chuté depuis l'instauration de traitements systématiques au tarissement et en améliorant l'hygiène de la traite. *S. aureus* et *S. agalactiae* constituent les deux germes les plus souvent rencontrés dans les mammites subcliniques (**Remy, 2010**).

3.1.5 *Streptococcus dysgalactiae*

Streptococcus dysgalactiae est, comme *S. uberis* et *S. agalactiae*, un coque Gram positif, α hémolytique. Streptocoque appartenant au groupe sérologique C dans la classification de Lancefield, cette bactérie présente plusieurs facteurs de virulence favorisant le développement d'une infection persistante (**Calvinho et al., 1998**). Plusieurs facteurs de virulence déjà cités précédemment (fibrinolysine, hyaluronidase, capsule) ont également été décrits pour *S. dysgalactiae*. La bactérie présente également la capacité d'interagir avec de nombreuses protéines de l'hôte (IgG, albumine, α-2 macroglobuline, fibronectine).

Enfin *S. dysgalactiae* présente la capacité à adhérer à l'épithélium mammaire (**Calvinho et al., 1998**). Tous ces facteurs de virulence favorisent le développement d'une infection persistante en favorisant la protection de la bactérie des défenses de l'hôte et en favorisant son maintien dans la mamelle. Cette bactérie occupe une position intermédiaire entre les germes contagieux et les germes de l'environnement. En effet, elle peut se retrouver dans l'environnement de la vache, et a été isolée de sites extra-mammaires comme au niveau des amygdales, de la bouche ou encore du vagin, mais aussi à partir du pis, et sur les lésions des trayons, La transmission de la bactérie se fait principalement pendant la traite (**abdelkarim, 2012**).

3.2 Les agents pathogènes mineurs

Les bactéries mineures responsables de mammites sont moins fréquemment rencontrées lors de mammites cliniques et sont plutôt retrouvées lors de mammites subcliniques.

3.2.1 *Staphylocoque à coagulase négative* (SCN)

Elles sont des coques Gram + hémolytiques ou non, dépourvus de coagulase, aéro-anaérobies facultatifs, en forme de colonies rondes, lisses, de 4-6 mm de diamètre et de couleur blanche.

Les *staphylocoques à coagulase négative* génèrent majoritairement des mammites subcliniques, le plus souvent chroniques caractérisées par des taux cellulaires modérés, entre 200 000 et 400 000 cellules/mL. D'après **Timms et Schultz, (1987)**, une mammite à SCN entraîne une perte de production laitière de 8 à 10 %. Les staphylocoques à coagulase négative ont longtemps été considérés comme des pathogènes mineurs. Suite à la découverte de leur importance sanitaire et économique, ils sont devenus des pathogènes majeurs (**Angoujard, 2015**)

3.2.2 *Klebsiella spp*

C'est un bacille Gram négatif de la famille des Entérobactéries, les deux espèces les plus fréquemment isolées lors de mammites sont *K. pneumoniae* et *K. oxytoca*. Les mammites à *Klebsiella spp* comme la majorité de celles à *E. coli* suivent un modèle environnemental. Les différences majeures entre les mammites à *E. coli* et celles à *Klebsiella spp* sont que ces dernières sont caractérisées par des signes cliniques plus marqués et un pronostic plus réservé, le parenchyme mammaire étant plus inflammé, Les pertes économiques sont plus importante

avec *Klebsiella spp*, notamment en lien avec à la baisse de production qui est estimée à 6 kg de lait/jour pour une primipare en moyenne et 10 kg de lait/jour pour une multipare. Le taux de guérison spontanée est de l'ordre de 35 %. Des résistances aux antibiotiques sont rapportées : aux tétracyclines dans 20 % des mammites à *Klebsiella spp*, et aux céphalosporines dans moins de 20% des mammites à *Klebsiella spp* (**Zadoks et al., 2001**)

3.2.3 *Mycoplasma bovis*

Les *mycoplasmes* sont des Mollicutes, et souvent qualifiés de « bactéries sans paroi ». Ils possèdent une simple membrane. *Mycoplasma bovis* est introduite dans les élevages indemnes à la faveur de l'introduction d'un bovin porteur sain asymptomatique. Les principales sources de contamination sont les sécrétions des animaux porteurs (nasales, vaginales, lait). *M. bovis* est peu résistant dans l'environnement, La transmission se fait pendant la traite, cette transmission est très rapide et 80% du troupeau peut être infecté en quelques semaines (**Remy, 2010**)

L'absence de paroi explique la difficulté à traiter les mammites à *mycoplasmes* de par leur insensibilité aux antibiotiques agissant sur la paroi cellulaire ou les protéines qui y sont associées, comme par exemple les β -lactamines. De plus, des résistances acquises sont rapportées pour des souches européennes vis-à-vis des tétracyclines, de la tilmicosine (macrolides) et de la spectinomycine (aminosides) (**Nicholas et Ayling, 2003**)

3.2.4 *Trueperella pyogenes*

C'est une bactérie Gram positif anciennement nommée *Arcanobacterium pyogenes* et qui est responsable de la mammite d'été. Cette mammite est sévère avec une létalité pouvant atteindre 50 %. Elle est caractérisée par du pus crémeux et très nauséabond s'écoulant du trayon (**Théron et al., 2010**) . Les réservoirs de *Trueperella pyogenes* sont les lésions des trayons, les abcès, les infections génitales et les quartiers déjà infectés, la contamination des trayons se fait par contact avec de la litière ou par un vecteur (exemple : *Hydrotea irritans*), Ces mammites entraînant une lyse pyogène du quartier, il est conseillé de le « stériliser ». En effet, **Waage et al., (2000)** ont constaté qu'après un mois de traitement sur 32 quartiers atteints de mammite à *Trueperella pyogenes*, plus de la moitié étaient considérés comme non fonctionnels, un quart seulement des quartiers étaient considérés comme guéris (**Waage et al., 2000**)

3.2.5 *Corynebacterium bovis*

Un bacille Gram positif commensal de l'extrémité du trayon, il est souvent considéré comme un contaminant à l'occasion d'examen bactériologiques du lait et aussi Il serait responsable de mammites subcliniques avec une forte augmentation des taux cellulaires en association avec d'autres agents pathogènes surtout lors d'une faible ou absence de désinfection du trayon après la traite (**Scott et al., 2011**)

3.2.6 *Pseudomonas spp*

Pseudomonas aeruginosa est un bacille Gram négatif à l'origine de mammites cliniques allant de la mammite endotoxique suraiguë à des mammites chroniques et récurrentes. La contamination est rare, mais elle peut concerner plus du tiers du troupeau car l'origine de l'infection est l'eau contaminée utilisée pour nettoyer le matériel de traite ou laver les trayons. Les mammites à *Pseudomonas spp* sont difficiles à traiter car la bactérie possède la capacité de réaliser des biofilms dans la mamelle, limitant l'action du système immunitaire et des antibiotiques (**Blowey et Edmondson et al., 2010**).

3.2.7 Levures, champignons et algues

Les levures (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*), champignons (*Aspergillus fumigatus*) et algues (*Prototheca zopfii*) responsables de mammites sont des agents pathogènes mineurs, Ils représentaient moins de 2% des isolats dans l'étude de **Bidaud et al., (2010)**. L'humidité est un facteur favorisant leur développement, les sources de contamination sont souvent des litières humides et/ou moisies, ce qui peut arriver lorsque la paille est stockée à l'extérieur des bâtiments. Les mammites à levure apparaissent lorsqu'un certain nombre de vaches se couchent dans le couloir ou lors de la traite si les trayons ne sont pas essuyés avant l'application des gobelets-trayeurs (**Remy, 2010**). Levures et champignons entraînent des mammites cliniques de sévérité moyenne avec des quartiers durs, chauds, œdématisés et la présence de caillots de lait lors des premiers jets. L'hyperthermie présente est particulièrement élevée lors d'infection à levure (*Candida spp*). Une guérison spontanée est observée dans la majorité des cas en 2 à 4 semaines (**Crawshaw et al., 2005**). Les algues (*Prototheca zopfii*) provoquent des mammites subcliniques ou cliniques aiguës avec une forte augmentation des taux cellulaires et une importante baisse de la production laitière. Les antibiotiques sont totalement inefficaces sur les levures, les champignons et les algues, leur utilisation est donc inutile voire délétère puisque cela conduit souvent à une persistance et une

aggravation de la mammite, aboutissant à la chronicité de celle-ci. A l'arrêt des traitements antibiotiques, une amélioration clinique est même souvent constatée (Remy, 2010).

4 Modèles épidémiologiques des principaux pathogènes impliqués dans les mammites subcliniques

4.1 Modèle mammaire ou modèle contagieux :

Dans le modèle mammaire, les trayons des vaches infectées constituent le réservoir primaire des germes. Pendant la traite, les pathogènes passent de quartiers à quartiers ou de mamelles à mamelles via l'intermédiaire des réservoirs secondaires (lavettes, manchons trayeurs, mains de l'éleveur) de plaies ou à cause du mauvais fonctionnement de la machine à traire, comme sur la Figure 1 (Villard, 2017). Les bactéries concernées par ce modèle contagieux présentent un caractère oligoclonal c'est à dire qu'une à deux souches seulement sont retrouvées dans le troupeau, d'où une très grande contagiosité. La prévalence, soit le nombre de vaches atteintes, est élevée ; et l'incidence, soit le nombre de nouveaux cas, est stable tout au long de la lactation. Les germes concernés induisent des mammites subcliniques ou des mammites chroniques, avec de temps en temps (mais non systématiquement) l'émergence de signes cliniques (Remy, 2010).

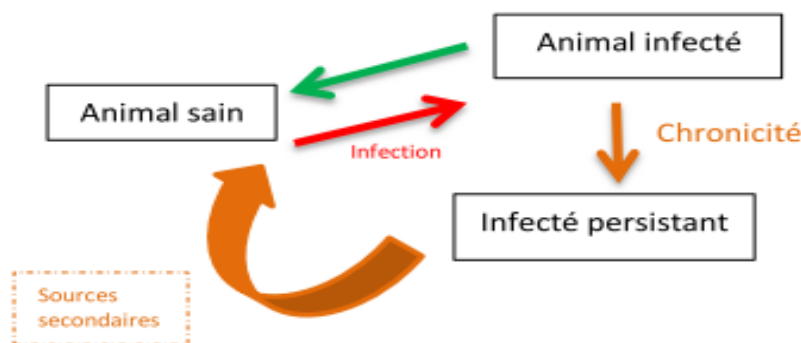


Figure 1: Circulation selon un modèle contagieux d'un agent infectieux dans une population (Durel et al., 2011)

4.2 Modèle environnemental

Dans ce mode de contamination, les bâtiments d'élevage, et très principalement la litière, fournissent le réservoir primaire aux bactéries. La transmission se fait alors par contact direct entre les mamelles et cette litière lors des périodes de couchage de la vache, comme le montre la Figure 2 ; Les bactéries concernées par ce modèle environnemental présentent un

caractère multiclonal, c'est à dire qu'un grand nombre de souches sont retrouvées dans l'élevage, et sont donc peu contagieuses.

La prévalence est généralement faible, mais peut varier au cours de l'année suivant l'évolution des conditions de logement. Les germes impliqués induisent des mammites cliniques, majoritairement au moment du vêlage, même si certaines espèces peuvent subsister au traitement et conduire à des mammites subcliniques (Villard, 2017).

La principale bactérie retrouvée dans le modèle environnemental est *Escherichia coli*. Il s'agit d'une bactérie commensale du tube digestif, peu contagieuse de par son caractère multiclonal. Elle est excrétée quotidiennement dans les bouses, et se retrouve donc systématiquement dans la litière. Les signes cliniques induits par *E. coli* varient en fonction de la souche. Ainsi la contamination pendant la lactation provoque des mammites cliniques pouvant être très sévères voire à des bactériémies, tandis que la contamination pendant la période sèche conduit généralement à des mammites latentes (Remy, 2010).

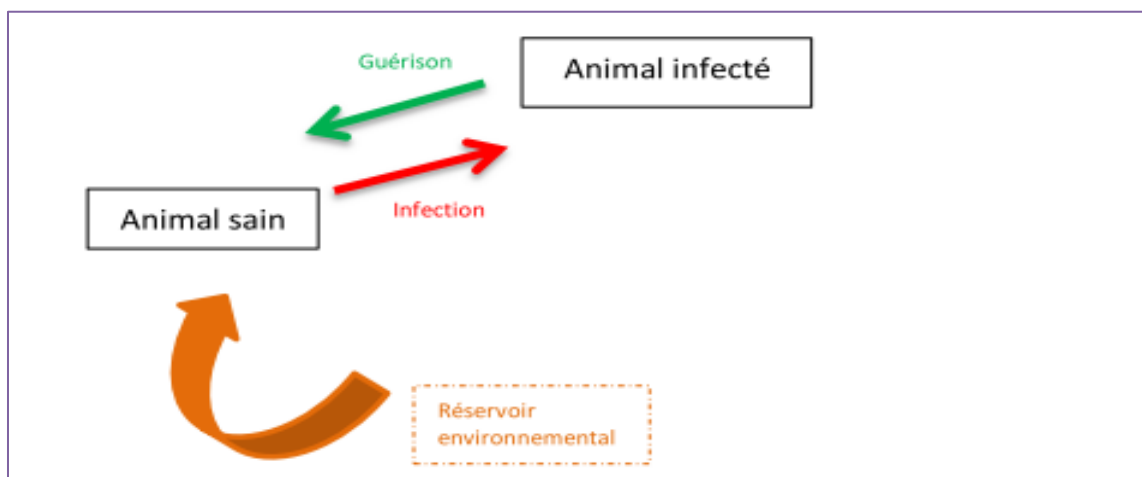


Figure 2: Circulation selon un modèle environnemental d'un agent infectieux dans une population (Durel et al., 2011)

4.3 Modèle mixte

Certaines bactéries peuvent provenir initialement de l'environnement et se transmettre ensuite pendant la traite : c'est le modèle mixte. Dans cette situation, il y a enchaînement ou coexistence dans un même élevage du modèle contagieux et du modèle environnemental. La bactérie revêt alors à la fois un caractère oligoclonal et multiclonal. *Streptococcus uberis* appartient à ce modèle mixte ; ce germe ubiquitaire survit partout et se multiplie activement dans les conditions qui lui sont favorables.

La bactérie appartient à la flore commensale de la peau des trayons et de la mamelle, du pelage, des nasaux, de la cavité buccale, des intestins et des voies génitales. Elle est donc excrétée dans les bouses et les sécrétions vaginales, et se retrouve ponctuellement dans la litière et les herbages surpâturés : l'environnement est donc une première cause d'infection. La bactérie présente alors son caractère multiclonal qui conduit à des mammites cliniques. La traite peut, par ailleurs, propager l'infection : la bactérie revêt alors son caractère oligoclonal. Dès le début de l'infection, la bactérie s'internalise profondément dans le tissu mammaire et provoque des mammites subcliniques. Ces deux modèles de transmissions se succèdent, comme énoncé ci-dessus, ou cohabitent (Remy, 2010).

4.3.1 Réservoirs des agents pathogènes

Il existe trois réservoirs principaux pour les germes responsables de mammites, la mamelle infectée, les lésions des trayons et la litière. La connaissance de ces réservoirs est importante car elle détermine en partie les plans de lutte à mettre en place lors d'un problème de mammites dans un troupeau. Les espèces bactériennes associées aux mammites bovines peuvent être présentes sur l'animal. Les réservoirs des germes contagieux comme *staphylococcus aureus* et *corynebacterium bovis* sont la mamelle infectée et les lésions des trayons. Le réservoir des germes environnementaux comme les entérobactéries est la litière. Pour les germes ubiquitaires comme *streptococcus uberis* ou les *staphylocoques à coagulase négative* dont le mode de transmission n'est pas clairement établi, les réservoirs sont multiples, à savoir la mamelle infectée, les lésions des trayons et la litière. Le tableau 2 présente les réservoirs des principaux agents pathogènes responsables de mammites.

Tableau 2: Principaux réservoirs des agents pathogènes

Agents pathogènes	Réservoirs				
	Vache			Environnement	
	Mamelle infectée	Lésion du trayon	Autres sites	Litière	Autres(sol, eau, mouches)
<i>S. aureus</i>	+++	+++	+	-	-
<i>Str. agalactiae</i>	+++	+++	+	-	-
<i>Str. dysgalactiae</i>	++	+++	++	-	-
<i>Str. uberis</i>	++	+	+++	+++	-
<i>E. coli</i>	+	-	+++	+++	-

5 Diagnostic des mammites subcliniques en élevage bovin laitier

5.1 Le Taux Cellulaire du Tank (TCT)

Le Taux Cellulaire du Tank (TCT) donne une idée de la situation sanitaire du troupeau laitier. Il correspond en quelque sorte à une moyenne des Concentrations Cellulaires Somatiques Individuelles (CCSI) des vaches du troupeau. Il se détermine à partir d'un échantillon de lait prélevé directement à la sortie du tank, et est réalisé au minimum légal d'une fois par mois ; une détermination hebdomadaire (étant préférable) est souvent privilégiée par les laiteries (**Noireterre, 2006**).

L'analyse des cellules somatiques donne à l'éleveur une idée du nombre de quartiers infectés dans son troupeau. Ainsi, au seuil de 200 000 cellules/mL de lait on considère que 3 à 7% des quartiers sont infectés ; à 400 000 cellules/mL, 8 à 12%, et au-delà de 800 000 cellules/mL, 20 à 25%. Suite à ces résultats, l'éleveur peut décider d'une recherche plus approfondie par l'intermédiaire des CCSI (Concentrations Cellulaires Somatiques Individuelles), qui lui permettront de repérer les vaches en situation de mammites subcliniques et d'envisager des mesures correctives (**Noireterre, 2006 ; Remy, 2010**).

5.2 Le Comptage Cellulaire Somatique Individuelle (CCSI)

Le Comptage Cellulaire Somatique Individuelle correspond à la moyenne des taux cellulaires somatiques (cellules épithéliales mammaires, macrophages, PNN et lymphocytes) présentes dans le lait de mélange des quatre quartiers. Ces données sont disponibles suite au contrôle laitier et permettent un suivi mensuel des CCSI de chaque vache d'un troupeau, les CCSI sont uniquement fournis aux adhérents au contrôle laitier, à raison d'une fois par mois, à partir d'un échantillon de lait. Les laboratoires reconnus procèdent à l'analyse par Fossomatic®, une technique de cytométrie en flux. Un agent intercalant, le bromure d'éthidium, est ajouté à l'échantillon de lait qui est ensuite soumis à une longueur d'onde comprise entre 450 et 530 nm. Les noyaux des cellules du lait deviennent alors fluorescents, ce qui permet leur comptage. Ce procédé automatisé permet l'analyse de 500 échantillons/heure, et est très proche de celui utilisé pour la mesure des TCT. Ce type de mesure a un inconvénient majeur : la dilution des cellules somatiques. En effet, le comptage s'effectue sur un lait de mélange des 4 quartiers. Ainsi, la présence d'un comptage élevé sur un quartier peut être masquée si les trois autres quartiers ont un comptage bas. Par exemple, si une vache a un CCSI de 50 000 cellules/mL sur trois quartiers et que le quatrième quartier a un CCSI de 450 000 cellules/mL alors la moyenne sera de 150 000 cellules/mL. Donc le

quartier ayant probablement une mammite n'est pas détectable avec ce type de comptage. Ainsi un CCSI élevé permet de conclure à une probable infection mais un CCSI bas ne permet pas d'exclure une infection (**Durel et al., 2003 ; Noireterre, 2006 ; Pezon et Gremy, 2015**).

Actuellement le contrôle laitier classe les animaux en trois catégories

- 1) Une vache est considérée comme « saine » lorsque l'ensemble de ses CCSI est inférieur à 300 000 cellules/mL.
- 2) Une vache infectée : au moins deux des cinq derniers contrôles sont supérieurs à 800 000
- 3) Une vache considérée comme « douteuse » lorsque présentant au moins une fois dans l'année un CCSI supérieur à 300 000 cellules/mL

Ces données permettent de faire le bilan des CCSI au cours des mois passés. Elles sont utiles pour identifier les vaches réservoirs d'infection, pour suivre et contrôler l'évolution des infections dans le troupeau (**Serieys, 1985**).

5.3 Le Californian Mastitis Test (CMT)

C'est un test très simple, facile, directement réalisable en salle de traite par l'éleveur et peu onéreux. Le test CMT est également appelé test au teepol[®] ou Leucocyttest. Le résultat est lisible à l'œil nu et n'est donc pas quantitatif contrairement au TCT et aux CCSI (**Dudouet, 2004 ; Salat, 2014**). Il permet d'évaluer semi-quantitativement les cellules somatiques présentes dans le lait. Il permet de détecter les mammites subcliniques et d'identifier le(s) quartier(s) atteint(s) lors d'une augmentation de la concentration en cellules somatiques.

Ce test utilise un réactif composé d'un détergent (solution de Teepol à 10%) et d'un colorant (pourpre de bromocrésol) qui est un indicateur de pH. Lors du mélange lait/réactif, les noyaux cellulaires éclatent et il y a une floculation de l'ADN, ce qui est à l'origine d'une augmentation de la viscosité. Ainsi, plus il y a de cellules somatiques dans le lait (polynucléaires neutrophiles et macrophages en cas d'infection), plus le mélange sera épais et visqueux. On a une forte corrélation entre les résultats de ce test et les comptages cellulaires réalisés en laboratoire. Le changement de couleur indique une variation du pH du lait et donc le degré d'inflammation. Par contre, ce test ne peut pas être réalisé lors des 3 à 4 premiers jours de lactation car il y a une émission massive de cellules épithéliales dans le colostrum, plus particulièrement chez les primipares, ce qui nuit à l'appréciation du test. De plus, en

cours de lactation, un résultat négatif ou faible n'exclut pas une infection (**Serieys, 1985 ; Durel et al., 2003**).

5.4 Mesure de la conductivité électrique du lait

Dans certaines étables la conductivité du lait de vache est mesurée, lors de la traite, pour détecter une possible inflammation des mamelles (mammite) qui rend le lait impropre à la consommation. La conductivité électrique du lait est son aptitude à laisser ses charges électriques circuler de manière à produire un courant : elle dépend donc de la concentration du lait en électrolytes. Les cations se déplacent dans le sens du courant c'est à dire de la borne + vers la borne -, tandis que les anions se dirigent dans le sens inverse du courant c'est à dire vers la borne +. La conductivité du lait dépend essentiellement des ions sodium (Na⁺), potassium (K⁺) et chlorure (Cl⁻) (une augmentation remarquable de leur concentration). A l'état physiologique, le lait est plus concentré en K⁺ et lactose qu'en Na⁺ et Cl⁻, alors que le sang et les liquides extracellulaires sont plus concentrés en Na⁺ et Cl⁻ qu'en K⁺ et lactose (**Jacquinet, 2009**).

Dans le cas d'une infection et d'une inflammation du quartier, l'épithélium sécrétoire est altéré. L'activité de certaines enzymes impliquées dans la production du lait est alors diminuée, l'épithélium alvéolaire est endommagé, les jonctions intercellulaires sont plus lâches et la perméabilité capillaire est augmentée. Ces phénomènes sont à l'origine de l'augmentation des concentrations en ions Na⁺, Cl⁻ et une diminution de la concentration en ions K⁺ dans le lait. Ceci a pour effet d'augmenter la conductivité du lait. Il existe actuellement des appareils portatifs de mesure de la conductivité du lait. Cette méthode est aussi le moyen de détection des mammites le plus répandu dans les équipements de traite (**Durel et Poutrel, 2006 ; Gourreau et al., 2009**).

6 Traitements des mammites subcliniques

Lorsque les mesures de prévention n'ont pas suffi et qu'une vache présente une mammite clinique ou subclinique, c'est le recours à un traitement par antibiotiques qui est généralement préconisé. Le traitement des mammites subclinique se fait généralement au moment du tarissement car on peut profiter de la période sèche pour utiliser des spécialités de longue durée d'action. En effet les bactéries sont généralement installées depuis longtemps dans le quartier malade et sont difficiles à éliminer. Il y a encore quelques années, seules les mammites cliniques étaient traitées en lactation. Il fallait donc attendre le tarissement pour

pouvoir traiter les mammites subcliniques. On observe de nos jours une évolution de ces pratiques avec des antibiothérapies destinées à traiter des mammites subcliniques en pleine lactation.

6.1 Traitement des mammites subcliniques en lactation

Les mammites subcliniques ne présentent pas de danger pour la vie de la vache ni une potentielle perte de fonction de la glande mammaire. Ainsi, l'administration d'un antibiotique en lactation peut attendre les résultats d'une bactériologie. Cependant, de nombreux cas de mammites subcliniques sont dus à des infections chroniques, la plupart du temps à *S. aureus*. L'administration d'un traitement intramammaire n'est donc pas forcément judicieuse au vu de la potentielle fibrose étendue et des micros abcès potentiellement formés dans le parenchyme mammaire (**Erskine et al., 2003**).

Tout l'intérêt d'une antibiothérapie en lactation (en dehors de la présence de signes cliniques) repose sur une vision à long terme de la gestion du troupeau laitier : les vaches intéressantes à traiter sont donc les vaches atteintes d'une mammite subclinique ayant une bonne chance de guérison. Notons qu'il est indispensable de déterminer le ou les quartiers atteints par la mammite subclinique, via un test CMT, avant d'entamer toute antibiothérapie. Le test CMT nous aidera, par ailleurs, à l'évaluation des chances de guérison de la laitière citée ci-dessus. Si au moins deux quartiers sont touchés, notamment les quartiers postérieurs, que la vache a plus de 5 ans et que les CCSI sont supérieurs à 300 000 cellules/mL, la vache a peu de chance de guérison (**Remy, 2010**).

Les agents pathogènes particulièrement responsables de mammites subcliniques sont les streptocoques et les staphylocoques. L'utilisation de macrolides par voie générale et de β -lactamines par voie intra-mammaire donnent de bons résultats. Selon une étude, les taux de guérison atteignent 70 à 90%. Une baisse progressive des CCS doit ainsi être observée durant les mois suivants le traitement. Les animaux ne répondant pas au traitement doivent être séparés ou alors être réformés (**Durel et al., 2003**).

6.2 Traitement des mammites subcliniques au tarissement

Pendant longtemps, le tarissement a été considéré comme une période sans importance particulière. Actuellement, c'est la période clé pour la gestion des infections mammaires. Le traitement hors lactation permet d'éliminer efficacement les infections présentes au tarissement et de réduire la fréquence des nouvelles infections apparaissant pendant les trois

premières semaines de tarissement qui constituent la période la plus favorable aux infections (**Lerondelle, 1985 ; Chaffaux et Steffan, 1985**). Le tarissement est la période idéale pour associer un traitement antibiotique et la fonction immunitaire de la mamelle. Le traitement des mammites subcliniques et chroniques est ainsi à privilégier lors du tarissement (**Giguere et al., 2013**). Le traitement au tarissement a plusieurs avantages par rapport au traitement en lactation. La dose d'antibiotique est plus élevée et la concentration est maintenue dans la mamelle (absence de traite) (**Royster et Wagner, 2015**). Néanmoins, le tarissement est une période critique. Des changements biochimiques, cellulaires et immunologiques ont lieu. L'involution du parenchyme mammaire débute 1 à 2 jours après la fin de la lactation et dure de 10 à 14 jours. C'est en particulier durant cette période que la glande mammaire est sensible à de nouvelles infections intramammaires (**Erskine et al., 2003**).

L'antibiothérapie au tarissement a deux objectifs : d'une part un objectif curatif et d'autre part un objectif préventif. Le tarissement est la période idéale pour traiter une mammite subclinique. L'absence de lait dans la mamelle favorise en effet la diffusion de l'antibiotique dans les tissus mammaires. On observe un taux de guérison proche de 90% pour les vaches infectées par un streptocoque, contre un taux de guérison inférieur à 70% pour les vaches infectées par un *staphylocoque doré*, puisque ce dernier s'internalise très profondément dans le tissu mammaire, ce qui le rend difficile d'accès pour l'antibiotique. En cas d'absence de guérison de la mammite subclinique à la fin du tarissement, la vache sera à considérer comme incurable et devra être réformée (**Durel et al., 2003**).

En suivant ce principe d'antibiothérapie systématique au tarissement, il est nécessaire de pratiquer une différenciation des vaches laitières en deux catégories : celles qui recevront uniquement un traitement préventif et celles qui recevront un traitement curatif. Ainsi, si les CCSI des trois derniers mois sont inférieurs à 200 000 cellules/mL, on peut se contenter d'un traitement préventif. A l'inverse, si ne serait-ce qu'une CCSI est supérieure à 200 000 cellules/mL sur les trois derniers mois, ou si la vache a subi au moins deux mammites cliniques pendant sa lactation, il faudra employer un traitement curatif. Mais dans tous les cas de figure, la vache doit recevoir une antibiothérapie (**Remy, 2010**).

Pour traiter une mammite subclinique, un antibiotique doit pouvoir atteindre le lieu de l'infection à concentration efficace, et ce, pendant un temps suffisant. Si la vache est considérée comme « saine » : elle recevra soit un obturateur de trayon soit une antibiothérapie préventive. L'antibiotique devra alors être choisi en fonction du modèle épidémiologique et

de la bactérie dominante de l'élevage. Pour les vaches « douteuses » et « infectées », l'antibiothérapie se devra d'être ciblée et il faudra donc pratiquer une bactériologie. Le traitement au tarissement correspond à une administration unique d'antibiotique, dans chacun des quatre quartiers, qui ne peut en aucun cas être renouvelé. Une exception cependant à cette règle : en cas de perte lactée juste après l'administration, il faudra refaire le traitement antibiotique et utiliser ensuite un obturateur de trayon (**Petit, 2013**). Le tableau 3 représente les différents antibiotiques utilisés, leurs spectres et leurs modes d'action.

Tableau 3: Comparaison des propriétés des antibiotiques utilisés pour le traitement (Hanzen, 2016)

Famille	Principaux représentants	Spectre	Mode d'action	Distribution
Pénicillines G	- Benzylpénicilline - Pénéthacilline	Gram+ (Strepto+ Staphylo à pénicillinases-)	Bactéricide	Extracellulaire limitée (Benzylpénicilline) ou large (Pénéthacilline)
Pénicillines A	- Ampicilline - Amoxicilline	Gram+ (Strepto+ Staphylo à pénicillinases-) Gram- (E. coli)	Bactéricide	Extracellulaire large
Pénicillines M	- Cloxacilline - Oxacilline - Nafcilline	Gram+ (staphylo à pénicillinases + et strepto)	Bactéricide	Extracellulaire limitée
Céphalosporines	- Céfalexine - Céfazoline - Céfapirine - Cefalonium - Céfopérazone - Celfquinome	Gram+ Gram-	Bactéricide	Extracellulaire variable
Aminosides	- Néomycine - Framycétine - Gentamycine - Streptomycine	Gram+ (staphylo, pas d'activité sur les streptos) Gram-	Bactéricide	Extracellulaire faible
Polypeptides	- Bacitracine - Colistine	Gram+ (bacitracine) Gram- (Colistine)	Bactéricide	Extracellulaire faible
Macrolides et apparentés	- Spiramycine - Tylosine - Erythromycine - Novobiocine - Lincomycine - Rifaximine	Gram+ (surtout staphylos)	Bactéricide Bactériostatique	Intracellulaire large
Tétracyclines	- Tétracycline - Oxytétracycline	Gram+ Gram-	Bactériostatique	Large
Quinolone	- Fluméquine - Marbofloxacin - Enrofloxacin - Danofloxacin	Gram+ (staphylos) Gram-	Bactéricide	Large
Sulfamides		Gram+ Gram-	Bactériostatique	Large
Sulfamides et triméthoprime		Gram+ Gram-	Bactéricide	Intracellulaire large

7 Mesures prophylactiques des mammites subcliniques

La prophylaxie des infections mammaires est basée sur l'ensemble des moyens permettant, d'une part, de diminuer la fréquence des nouvelles infections et, d'autre part, de réduire la durée des infections existantes. Ainsi, tout principe de prévention sera axé sur le

diagnostic continuuel à l'échelle du troupeau, une hygiène de la traite, le traitement des animaux au tarissement et la réforme des animaux incurables (Durel et al., 2003)

7.1 Prophylaxie médicale

La vaccination a pour objectif de protéger l'animal vacciné avec trois axes : diminuer la sévérité des signes cliniques, réduire le nombre de cas et baisser les CCSI.

En Europe, il y a plusieurs types de vaccin par exemple le Starvac® du laboratoire Hipra. Ce vaccin est composé de deux valences : l'une est constituée d'une souche d'E. coli, et l'autre d'une souche de *S. aureus*.

La souche d'E. coli possède un lipopolysaccharide (LPS) de membrane incomplet, elle apporte donc des antigènes communs aux souches d'E. coli mais également aux autres entérobactéries (*Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, etc.). La souche de *S. aureus* comprend un polysaccharide capsulaire de type 8 et produit un composant extracellulaire pseudocapsulaire dit « slime », antigène commun aux souches de *S. aureus* et aux staphylocoques à coagulase négative.

Il s'agit donc en principe d'un vaccin à « spectre large » vis à vis des bactéries Gram négatives et des staphylocoques responsables de mammites bovines.

Le protocole de vaccination comprend trois injections intramusculaires profondes : la première 45 jours avant la date présumée du vêlage, la deuxième 10 jours avant le vêlage et la troisième 52 jours après celui-ci. Un autre protocole est proposé selon le fabricant quel que soit le stade physiologique de l'animal. Il est composé d'une primovaccination avec deux injections à trois semaines d'intervalle suivi d'un rappel tous les trois mois.

L'immunité apparaît à partir du treizième jour suivant la première injection et persiste jusqu'au soixante-dix-huitième jour suivant la troisième injection d'après le fabricant. La vaccination est un moyen de lutte contre les entérobactéries et les staphylocoques. Elle doit être toujours associée à une très bonne conduite d'élevage avec une bonne gestion des facteurs de risques et une bonne détection des mammites. (Poutrel, 2014)

7.2 Prophylaxie sanitaire

Les mesures prophylactiques concernent l'élimination des réservoirs et le contrôle de la transmission des germes et contrôle de la réceptivité et de la sensibilité de la mamelle. Ainsi, pour :

✓ Les réservoirs animaux

Des campagnes de dépistage sont organisées avec pour objectif la détection précoce des vaches atteintes et l'élimination celles infectées (risque accru de contamination pour des vaches saines).

✓ Les réservoirs environnementaux :

Le manque d'hygiène dans l'environnement des vaches contribue à augmenter le risque et la fréquence de mammites. Les erreurs alimentaires quantitatives (excès de concentrés, de protéines pendant le tarissement...) et/ou qualitatives (eau d'abreuvoir contaminée, fourrages moisiss...), occasionnent des diarrhées avec excrétion de germes qui contribuent à la contamination de l'environnement des animaux donc à l'augmentation des risques d'infections mammaires.

✓ Contrôle de la transmission des germes

Les deux moments où la transmission se fait est : pendant la traite et entre les traites. La traite doit être la plus hygiénique possible (aucune précaution n'est exagérée) et, à la sortie de la salle de traite, le maintien des vaches en position debout pendant environ trente minutes à une heure est fondamental pour la fermeture du sphincter du trayon.

✓ Contrôle de la réceptivité et de la sensibilité de la mamelle

Un suivi post-partum rigoureux doit être accordé à la parturiente afin de différencier les modifications vasculaires des mammites aiguës. En période de lactation, la moindre lésion au niveau de la mamelle (peau du trayon ou revêtement extérieur de la mamelle) doit subir des soins méticuleux étant donné que cette lésion est rapidement colonisée par les germes qui gagnent ensuite l'intérieur de la mamelle et déclenchent la mammite. En période de tarissement, il faut effectuer un traitement antibiotique pour assainir les quartiers en éliminant tous les germes constatés au cours de la période de traite. Et ce traitement est de plus en plus complété par un deuxième traitement à base d'un produit non antibiotique qui permet de boucher le trayon afin d'éviter l'entrée de nouvelle bactérie (**Tchassou, 2009**)

✓ **La santé des animaux**

Une surveillance particulière doit être apportée aux animaux en mauvais état général ou ayant une autre maladie ; Les autres maladies prédisposent aux mammites par une action mécanique comme la fièvre de lait qui induit un relâchement du sphincter, par une baisse de l'immunité telles les métrites et les acétonémies et par modification du comportement de l'animal comme les boiteries qui augmentent le temps de couchage. **(Durel et al., 2011)**

✓ **Augmentation du nombre de traites par jour**

La traite permet l'évacuation du lait et avec celui-ci d'une partie des bactéries, des toxines et des médiateurs de l'inflammation. La réalisation d'une traite plus fréquente est déconseillée lors de mammites dues aux streptocoques environnementaux. Les vaches traitées via des traites fréquentes seules ou via l'association d'une antibiothérapie intra-mammaire et des traites fréquentes avaient des taux de guérison clinique et microbiologique inférieurs à ceux des vaches témoins. La traite fréquente augmente la contagion et accroît le temps de guérison **(Roberson et al., 2004)**.



PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE



***OBJECTIFS ET
METHODOLOGIE***

1 Objectifs et méthodologie

1.1 Objectifs de l'étude

Notre stage est consacré à l'étude du diagnostic des mammites subcliniques dans quelque élevage bovin laitier. L'étude s'est déroulée pendant une période allant de mois de Février jusqu'au mois d'Avril 2021 au niveau de daïra d'Aïn Bessem, wilaya de wilaya de Bouira. L'objectif général de notre travail est :

- 1) le dépistage des mammites subcliniques dans quelque élevage bovin laitier par un test CMT (Californian Mastitis Test)
- 2) D'étudier la prévalence des principales bactéries responsables de mammites (Staphylocoques et E.coli).
- 1) Détermination du profil de résistance et de sensibilité de ces bactéries vis-à-vis des antibiotiques utilisés en routine dans la thérapeutique vétérinaire.

1.2 Région d'étude

Notre étude a été effectuée au centre Algérien, il s'agit de daïra d'Aïn Bessem est une circonscription administrative algérienne située dans la wilaya de Bouira, son chef-lieu est situé sur la commune éponyme d'Aïn Bessem. Elle couvre une superficie totale de 126 km² et s'étend sur une surface de 7,6 km² (figure 3)

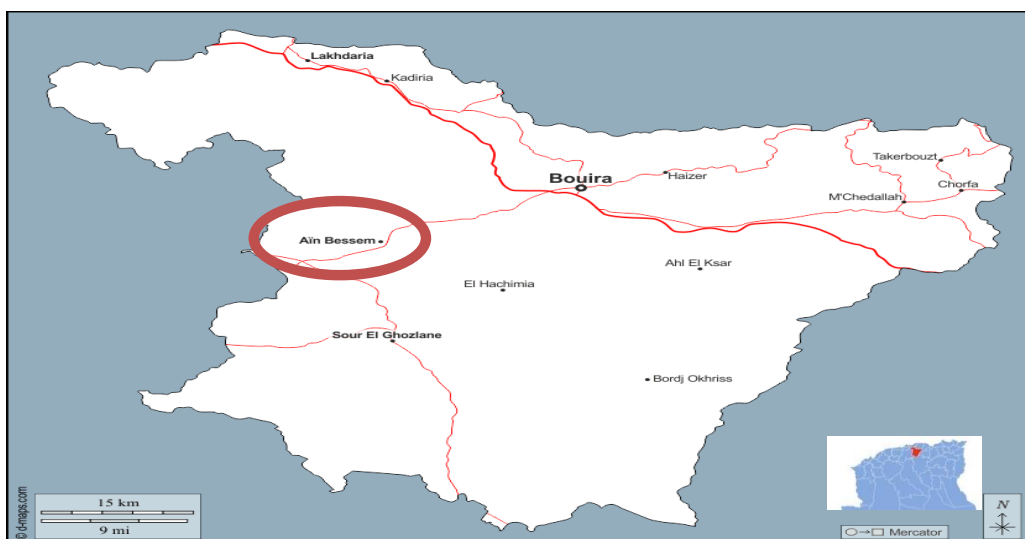


Figure 3: Situation géographique de la de la daïra d' Aïn Bessem

1.3 Matériel non biologique

Le matériel non biologique est constitué de :

- 1) Matériel du terrain pour le nettoyage et la désinfection, la détection des mammites subcliniques et pour le prélèvement du lait (tableau4)
- 2) Matériel de laboratoire bactériologique (tableau5)

Tableau 4: Matériel du terrain

Nettoyage et désinfection	Détection des mammites subcliniques	Prélèvement et conservation
Eau ordinaire	Flacon de Teepol®	Tubes stériles
Papier à usage unique	Coupelle alvéolée	Glacière
Eau de javel diluée		Cryoconservateurs
Lavettes individuelles		Réfrigérateur ou congélateur.
Désinfectant à base d'alcool à 70°		

Tableau 5: Matériel de laboratoire

milieux d'isolement	Les réactifs	La verrerie	Autre matériel
Chapman, Héktoen , Bouillon coeur-cervelle BHIB, MH (Muller Hinton), Milieu Urée indole Milieu TSI . Mannitol-mobilité	plasma du lapin, eau physiologique, l'eau oxygéné, disque d'ONPG kovacs . alcool Violet de gentiane Lugol . fuchsine Huile d'immersion disques d'antibiotiques.	Boîtes de Pétri, tubes en verre stériles, des lames, pipettes pasteur stériles.	bec Bunsen, étuve un microscope, bain-marie, une pince, anse de platine seringues de 5ml, portoirs,écouvillons des gants et des bavettes.

1.4 Matériel biologique

L'étude est portée sur la qualité bactériologique du lait prélevé des 31 vaches laitières (14 vaches en phase de lactation et 17 vaches en tarissement). Les vaches sont de différentes races et à des différents stades de lactation. Les seules conditions de sélection étaient l'absence de mammite clinique.

1.5 Échantillonnage et la collecte des informations

Les échantillons sont prélevés à partir des vaches qui ne présentent aucun signe d'inflammation. Les informations ont été recueillies sur des fiches d'enquête sous forme de questionnaires renseignant sur l'identification de la ferme, la structure du troupeau, la pratique de la traite, l'alimentation et le suivi sanitaire des animaux (Annexe n°1). Une fiche de prélèvement a permis de recueillir des informations spécifiques aux animaux prélevés, à savoir le stade et le rang de lactation (Annexe n°2).

1.5.1 Le test de CMT

Le California Mastitis Test (CMT) est un test peu onéreux et facile à réaliser sur le terrain qui permet le dépistage rapide des mammites subcliniques.

1.5.2 Principe et technique de réalisation

Le CMT est basé sur l'emploi d'un détergent tensioactif (solution de Teepol à 10 %) et d'un indicateur coloré (pourpre de bromocrésol) sur le lait. Ce réactif tensioactif provoque la lyse des cellules présentes dans le lait par la destruction des parois et la libération de l'ADN formant ainsi un réseau qui emprisonne les globules gras et autres particules. Ce qui a pour effet d'augmenter la viscosité du lait, voire de provoquer un flocculat dont l'importance et la consistance sont fonction de la teneur en cellules de l'échantillon de lait. L'indicateur coloré change de couleur comme dans le test avec un papier pH.



Figure 4: Technique de réalisation du Californian Mastitis Test (CMT).

La réalisation du test est facile mais une bonne propreté est nécessaire (nettoyer chaque trayon à l'aide d'alcool à 70°C et l'essuyer, le premier jet est éliminé) . En pratique, au début du trait

- ✓ les premiers jets de lait de chaque quartier sont prélevés dans chacune des quatre coupelles identifiées du plateau.
- ✓ Puis le plateau est incliné pour éliminer le lait en excès et il ne restera dans les cupules que la quantité de lait nécessaire à la réaction (environ 2 ml).
- ✓ Après ajout d'environ 2 ml de réactif RAIDEX dans chaque coupelle
- ✓ un mouvement circulaire est imprimé au plateau pendant quelques secondes pour mélanger le lait avec le réactif.
- ✓ On note enfin par transparence la présence et l'aspect du flocculat.

1) Lecture et interprétation

La lecture et l'interprétation du CMT se font en référence au tableau de lecture (tableau 6).

Tableau 6: Interprétation du Leucocyttest selon les indications accompagnant le réactif

Lecture			Interprétation	
Aspect	Score	croix	Infection	Relation avec la numération cellulaire moyenne (x 10 ³ ml)
	Valeur			
Consistance normale	0	(0)	absente	0-200
Léger gel disparaissant après agitation	1	(±)	Risque d'infection par pathogène mineur	150-500
Léger gel persistant, filament grumeleux	2	(+)	Mammite subclinique	500-1500
Epaississement immédiat, amas visqueux au fond de la coupelle	3	(++)	Mammite subclinique	800-5000
Gel épais, consistance du blanc d'œuf	4	(+++)	Mammite subclinique à la limite de l'expression clinique	Plus de 5000

1.6 Prélèvement de lait

Tout quartier présentant un score au CMT supérieur ou égal à 2 a fait l'objet de prélèvement pour les analyses bactériologiques. Les prélèvements de lait sont effectués dans des conditions aussi proches que possible de l'asepsie :

- ✓ nettoyage et séchage des mains du trayeur et de la mamelle de l'animal.
- ✓ une désinfection soigneuse de l'extrémité des trayons à l'aide d'un tampon de coton imbibé d'alcool à 70° en commençant par les trayons les plus éloignés [lorsque la vache est abordée à droite, la désinfection des trayons est réalisée dans l'ordre, quartier postérieur gauche (QPG), quartier antérieur gauche (QAG), quartier postérieur droit (QPD) et quartier antérieur droit (QAD)].
- ✓ Les prélèvements ont été réalisés dans des tubes stériles.
- ✓ on ouvre le tube en tenant le bouchon dans la même main.
- ✓ élimination des premiers jets.
- ✓ on prélève quelques millilitres de lait puis on referme le tube.

- ✓ Tous les échantillons sont identifiés, placés sous froid dans une glacière contenant des carboglaces et acheminés au laboratoire où ils sont aussitôt congelés en attendant leur analyse.

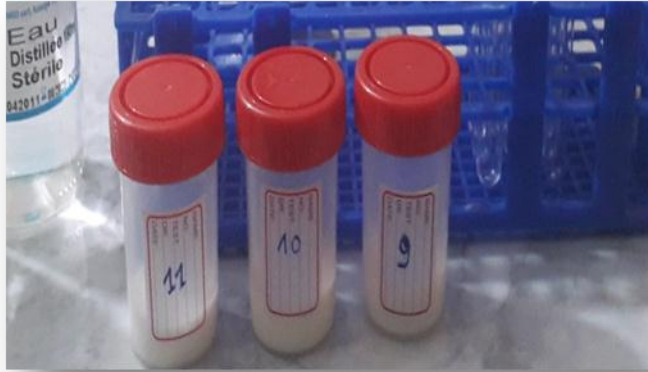


Figure 5: les échantillons du lait (photo personnel)

1.7 Analyses bactériologiques

L'étude bactériologique a été réalisée dans un laboratoire vétérinaire à Bouira. L'analyse bactériologique se fait à partir des échantillons qui ont un CMT positif. Le travail a consisté à constituer des pools, à préparer les milieux de culture, à la mise en culture des prélèvements, à faire l'isolement et l'identification des germes contenus dans les échantillons de lait et enfin à tester la sensibilité de quelques germes isolés vis-à-vis de quelques antibiotiques couramment utilisés.

1.7.1 La constitution des pools

Cette étape a consisté à mélanger des laits prélevés des quartiers positifs sur un même animal. L'objectif est d'obtenir un échantillon de lait de mélange par vache positive. Ainsi, 14 échantillons de lait de mélange ont été examinés au laboratoire sur un total de 28 échantillons.

1.7.2 La préparation des milieux de culture

Les milieux préparés sont répartis en boîtes de Petri :

- ✓ Desserrer légèrement le bouchon des flacons avant de chauffer afin de permettre l'échange de pression.
- ✓ Faire fondre le milieu en le plaçant dans un bain-marie à 50 °C avant de monter en température à 95 °C.
- ✓ Retirer le milieu dès lors qu'il est fondu afin d'éviter de le surchauffer.
- ✓ Laisser reposer sur une surface thermorésistante à température ambiante pendant un court instant (2 minutes par exemple)
- ✓ Couler le milieu de culture gélosé en surfusion dans les boîtes de Petri de façon à obtenir une épaisseur de 3 mm pour les boîtes d'un diamètre de 90 mm.
- ✓ Laisser refroidir et solidifier le milieu gélosé en plaçant les boîtes avec les couvercles en place sur une surface fraîche et horizontale.
- ✓ Conserver les milieux préparés en laboratoire dans des conditions empêchant la modification de leur composition : à l'abri de la lumière, de la dessiccation et si nécessaire dans un réfrigérateur à 2-8 °C.

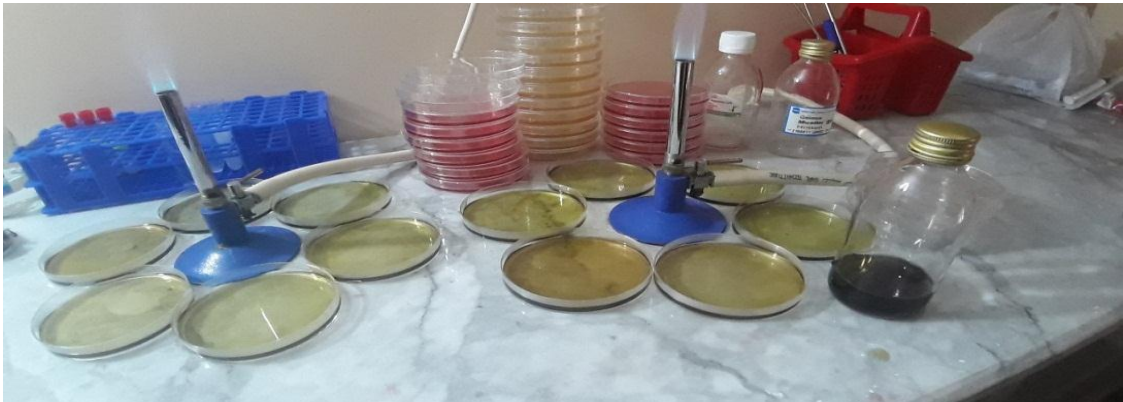


Figure 6: Préparation de milieu de culture

1.7.3 L'enrichissement

Utiliser le bouillon (BHIB) Brain-Heart Infusion Broth qui est un milieu nutritif tamponné, est utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies, incluant levures et moisissures. On prend à l'aide d'une seringue à usage unique 1ml de lait cru est met dans 1ml de bouillon BHIB, puis les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h (figure6)

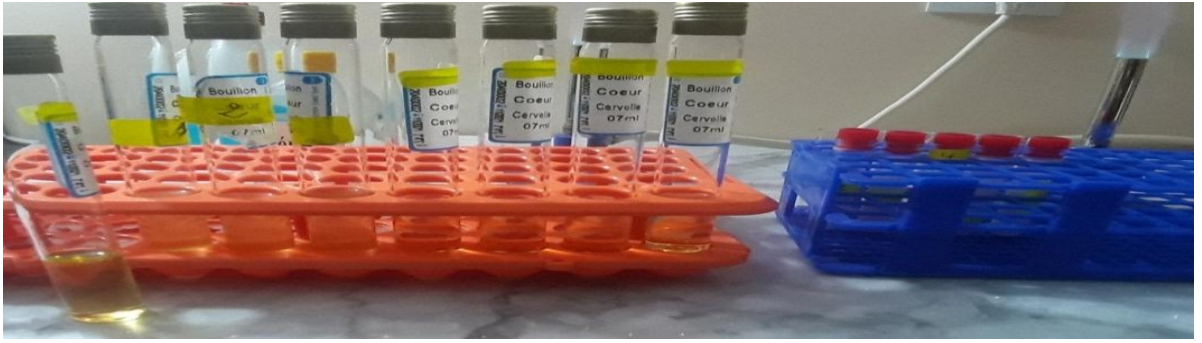


Figure 7: Enrichissement des prélèvements de lait sur BHIB

1.7.4 La dilution

C'est un procédé qui consiste à obtenir une solution de concentration inférieure à celle du prélèvement.

- ✓ On mélange 1ml du tube de BHIB incubé avec 10 ml de l'eau distillé stérile.
- ✓ On réalise la dilution jusqu'à 10^{-3}

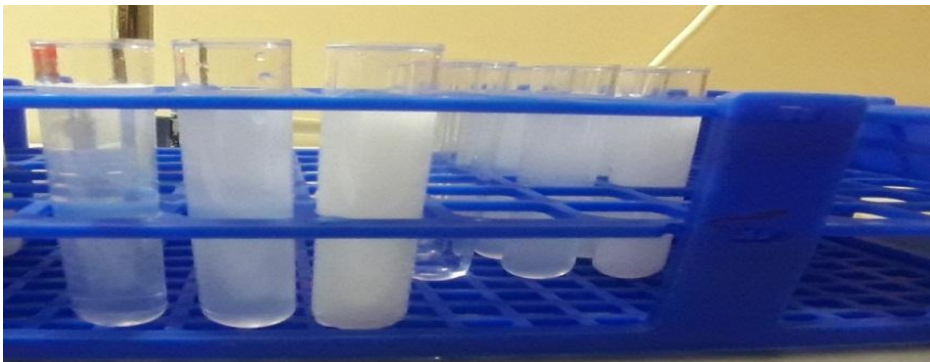


Figure 8: Tubes de dilution

1.7.5 Isolement

L'ensemencement a été réalisé sur des boîtes de pétri contenant de la gélose Chapman (l'isolement des gram positif) et de l'Hektoen (pour le gram négatif). Ces derniers ont été incubés à l'étuve, à 37°C , pendant 24 heures.

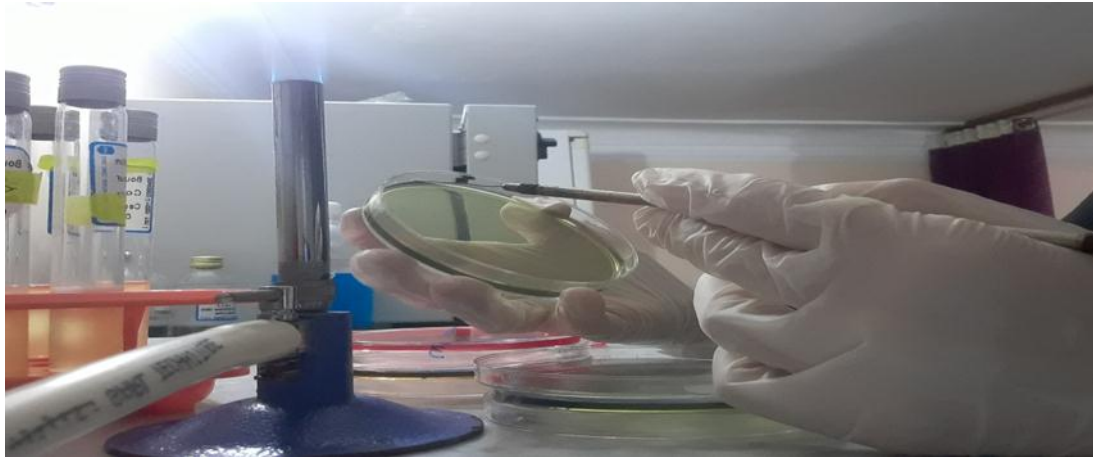


Figure 9: Ensemencement sur milieu Hektoen

1.7.6 Identification microscopique des germes

1) Préparer un frottis :

- ✓ Nettoyer une lame à l'alcool puis déposer une goutte d'eau distillée sur la lame.
- ✓ Prélever une colonie à l'aide d'une pipette pasteur stérile.
- ✓ Frotter la pointe de la pipette dans la goutte d'eau, et réaliser un frottis à partir du centre de la lame en décrivant un mouvement circulaire.
- ✓ Passer la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur. Puis laisser refroidir la lame.

2) Deuxième étape : Réaliser la coloration :

- ✓ Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé et laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries puis jeter l'excès de colorant et rincer très brièvement en faisant couler de l'H₂O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).
- ✓ Déposer quelques gouttes de Lugol sur le frottis, Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries. Puis laisser agir 1 minute puis jeter la solution et rincer brièvement à l'H₂O comme précédemment décrit.
- ✓ Décolorer en faisant couler l'alcool sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes). Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool elle est alors imperméable et le colorant

violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.

- ✓ Rincer à l'H₂O.
- ✓ Déposer la solution de fuchsine (rose) pendant 1 minute. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente puis jeter la solution et rincer brièvement à l'H₂O comme précédemment décrit.
- ✓ Laisser sécher à l'air puis observer au microscope avec une goutte d'huile à immersion (l'huile de vaseline), au grossissement 1000x.

3) Troisième étape : Tests biochimiques

❖ test de catalase :

L'enzyme catalase sert à neutraliser les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène. La catalase accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et oxygène (2H₂O₂ + Catalase 2H₂O + O₂).

- ✓ À l'aide d'une anse d'inoculation stérile prélevez une colonie bien isolée d'une culture pure (18 à 24 heures d'incubation) et placez-la sur la lame de microscope.
- ✓ À l'aide d'une pipette Pasteur, déposez 1 goutte de H₂O + O₂ à 3% sur la colonie. Ne pas mélanger. Test positif : observez la formation immédiate de bulles (O₂ + eau = bulles).

❖ La coagulase

C'est une enzyme libérée dans le milieu par *staphylococcus aureus*, cette enzyme est capable de coaguler le plasma de lapin. À l'aide d'une seringue à usage unique on met 3 gouttes de plasma de lapin dans un tube à verre stérile et on prend avec une pipette pasteur une colonie bien isolée à partir du milieu et l'introduit dans le tube, puis incubés à 37°C. Des lectures doivent être effectuées tous les quarts d'heures au moins pendant les quatre premières heures en cas de coagulase réversible.



Figure 10: Test de la coagulase

❖ GELOSE TSI (Triple Sugar Iron)

La gélose TSI est utilisée pour l'identification présomptive des *entérobactéries* basée sur la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose et sur la production de gaz et d' H_2S . La pente du milieu TSI estensemencée par stries et le culot par pique centrale, puis incubation à $37C^\circ$ pendant 18 heures.

Lecture

Pour faciliter la détection des germes qui fermentent uniquement le glucose, la concentration de ce sucre a été abaissée au 1/10ème de celle du lactose ou du saccharose, de telle façon que la faible quantité d'acide produite sur la pente pendant la fermentation s'oxyde rapidement, ce qui entraîne un retour rapide à la coloration rouge ou bien à une ré-alcalinisation plus prononcée. Par contre, la réaction acide (couleur jaune) est maintenue en profondeur dans le culot du tube.

- ✓ Les germes qui fermentent le lactose ou le saccharose font virer au jaune la pente du tube.
- ✓ La production de sulfure d'hydrogène se manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique.
- ✓ La production de gaz (hydrogène, dioxyde de carbone) résultant des fermentations sucrées se traduit ou bien par l'apparition de bulles ou bien par la fragmentation de la gélose.

❖ Mannitol-mobilité

L'ensemencement du milieu s'est fait par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester à l'aide d'une anse de platine (fil droit sans boucle). Incubation à 37C° durant 18 heures.

❖ Production de la B-galactosidase (Disques ONPG)

Le test est pratiqué en réalisant une suspension épaisse de la bactérie testée dans de l'eau distillée puis à l'aide d'une pince flambée et refroidie nous avons ajouté un disque imprégné d'ONPG et nous avons mis le tube dans le bain-marie pendant 15 à 20 minutes. En présence de β -galactosidase, l'orthonitrophényl-B-D-galacto-pyranoside (ONPG) incolore est scindé, et libère l'orthonitrophénol jaune en solution.

❖ Uree Indole

Ce milieu contient des substrats (L-tryptophane et urée) et un indicateur coloré (rouge de phénol). L'ajout de réactif de Kovacs et de perchlorure de fer permet de détecter respectivement la présence de tryptophanase et de tryptophane désaminase. À l'aide d'une pince flambée et refroidie, on prend une colonie bactérienne et on l'ensemence dans le milieu urée indole.

Recherche de la production d'indole : après 24 heures d'incubation, verser 4 à 5 gouttes de réactif Kovacs (code 55313) dans le tube de milieu Urée Indole ensemencé

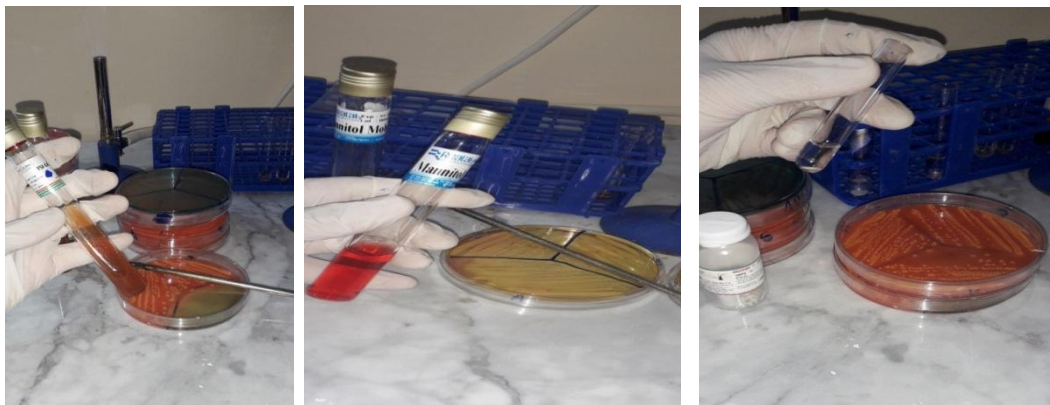


Figure 11: La présence de l'uréase : le milieu vire au rouge violacé

1.8 Antibiogramme

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été testée par la méthode de diffusion en Mueller-Hinton. Nous avons préparé une suspension bactérienne, à partir des colonies bien isolées et parfaitement identiques sur Hektoen et Chapman .on décharge la pipette pasteur dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile, et bien homogénéiser la suspension bactérienne, jusqu'à devenir trouble.

La suspension peut être ajustée en ajoutant, soit de la culture s'elle est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'elle est trop forte. Elle doit êtreensemencée dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

Le milieu Mueller-Hinton est fondu et refroidie à 45°C coulé en boite de pétrie à une épaisseur de 04 mm pour la solidification.

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube sans oublier de le faire pivoter, afin de le décharger au maximum puis frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération trois fois en tournant la boite de 60° à chaque fois en tournant l'écouvillon en lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boite de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois, puis nous avons déposé avec une pince stérile les disques d'antibiotiques. Les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés après 24heures d'incubation à 37°C.

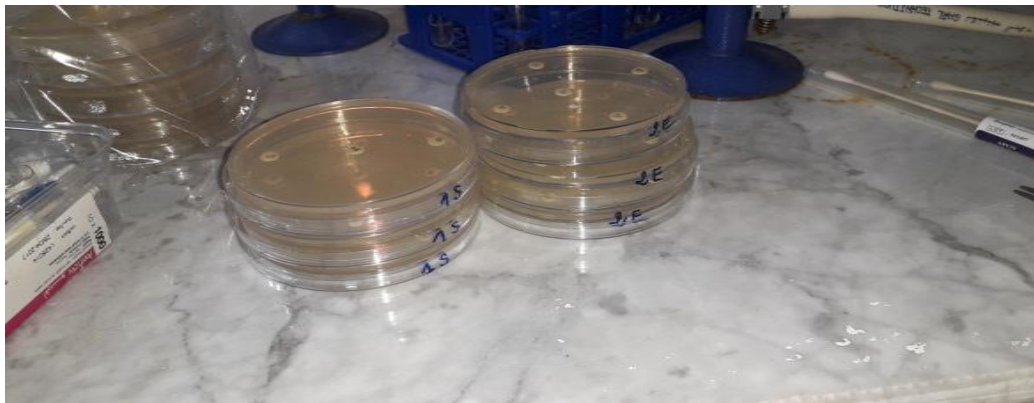


Figure 12: Réalisation de l'antibiogramme



RESULTATS ET DISCUSSION

2 Résultats et discussions

2.1 Caractéristiques de l'échantillon étudié

Les informations recueillies sur le terrain nous ont permis de faire la répartition des vaches examinées positivement en fonction des races, du stade de lactation et du numéro de lactation.(Tableau 7)

Tableau 7: Tableau représentatif des informations recueillent des échantillons

Vache	La race	Range de lactation	Stade de lactation
2	Holstein	4	8 mois
3	Holstein	5	5 mois
7	Holstein	2	3 mois
9	Local	1	7 mois
10	Normand	3	6 mois
11	Local	2	7 mois
14	Local	4	4 mois
15	Local	2	17 jours
19	Holstein	3	2 mois
22	Normand	1	3 mois
23	Holstein	2	2 mois
26	Local	5	3 mois
29	Local	4	6 mois
30	Local	7	3 mois

2.2 Résultats Tests de CMT

Sur un total de 31 vaches examinées ; 45.16 % (14vaches) présentent des CMT positifs, 54.84% (17vaches) révèlent des CMT négatifs (Figure13). Au total, 4 éleveurs ont participé à l'étude. Il ressort que des cas de mammite subclinique (au moins une vache réagissant positivement au CMT par élevage) ont été présents dans tous les élevages.

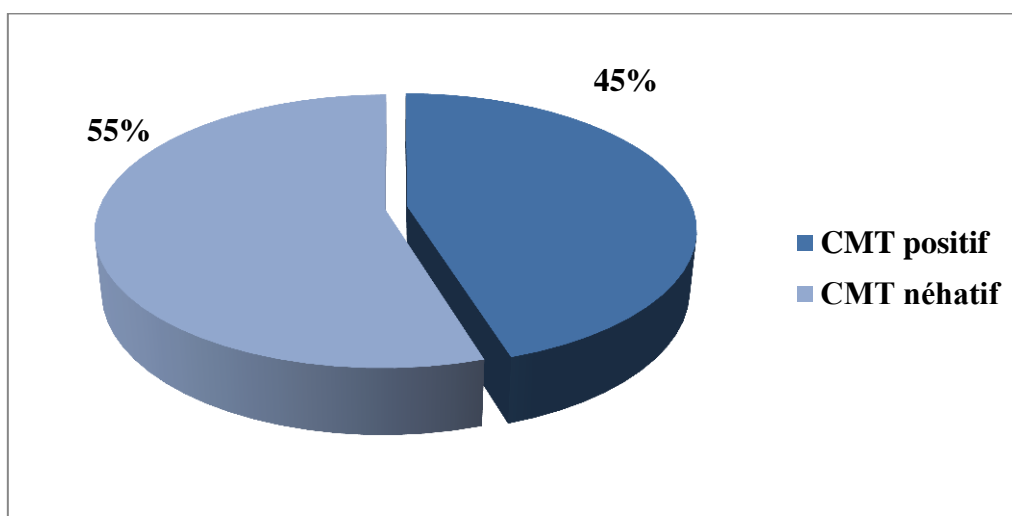


Figure 13: Résultats du CMT des vaches examinées durant notre étude

2.3 Prévalence des mammites selon le stade de lactation

L'échantillon constitué de 41.17 % de vaches en début de lactation qui ont testé positivement (1 à 3 mois), 44.44% en mi lactation (4-6 mois) et 60% de vaches en fin de lactation (7 mois et plus)

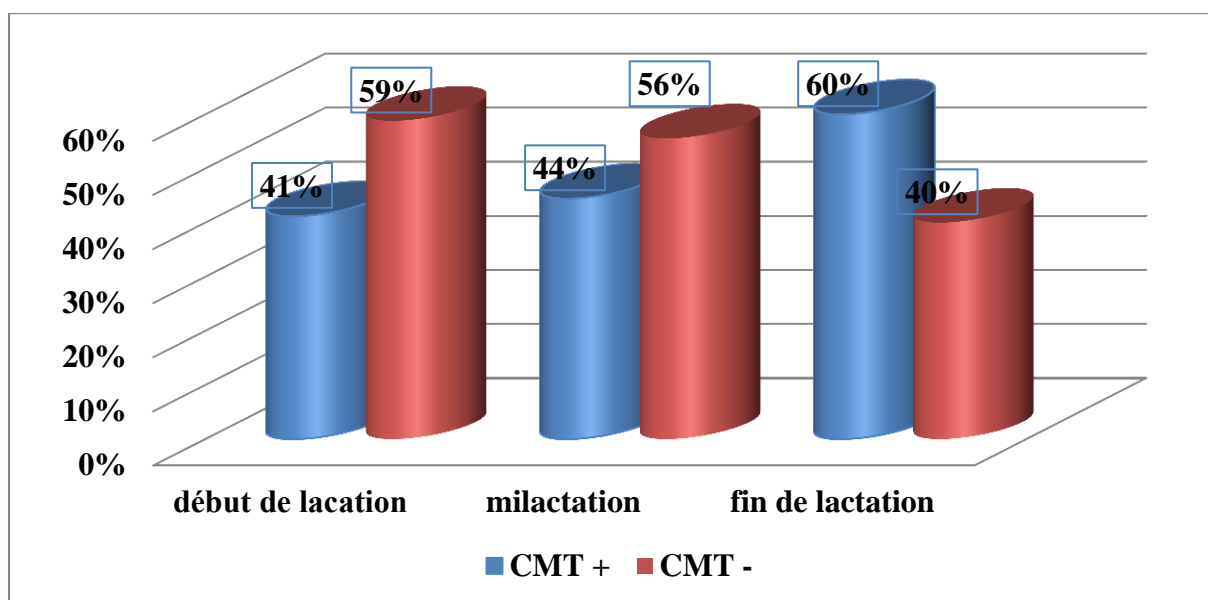


Figure 14: Prévalence des mammites selon le stade de lactation

2.4 Prévalence des mammites selon range de lactation

Selon la figure 15, les vaches ayant un rang de mise bas entre 2 et 4 mis bas avaient un pourcentage d'infection plus important (56%) que les primipares (22%) et celles qui ont plus de 4 range (50%).

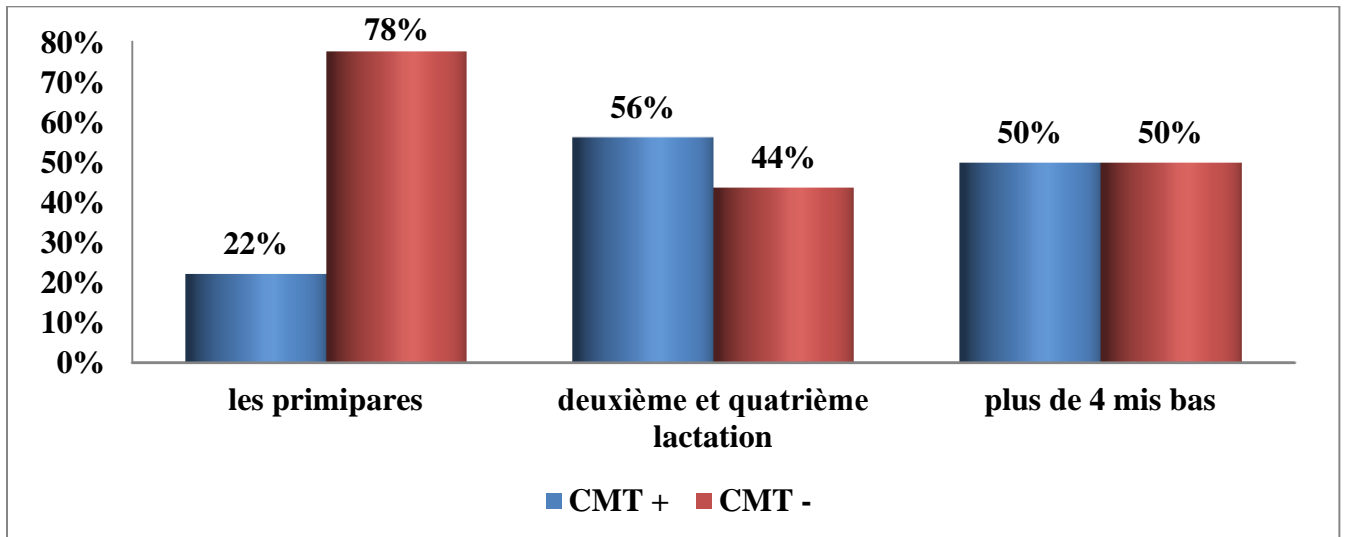


Figure 15: Prévalence des mammites selon range de lactation

2.5 Résultats par rapport aux quartiers :

En exprimant les résultats par rapport au nombre de quartiers, sur un total de 31 vaches examinées ayant 124 quartiers, 12 quartier n'a pas été pris en compte lors de l'étude en raison de leur non fonctionnalité.

Ainsi, sur les 112 quartiers testés, on a obtenu les résultats suivants (Figure) :

- ✓ 75% de cas négatifs (un score de 0) au CMT.
- ✓ 19.64% de cas positifs (un score ≥ 2) au CMT.
- ✓ 5.35% de cas douteux (score = 1) au CMT

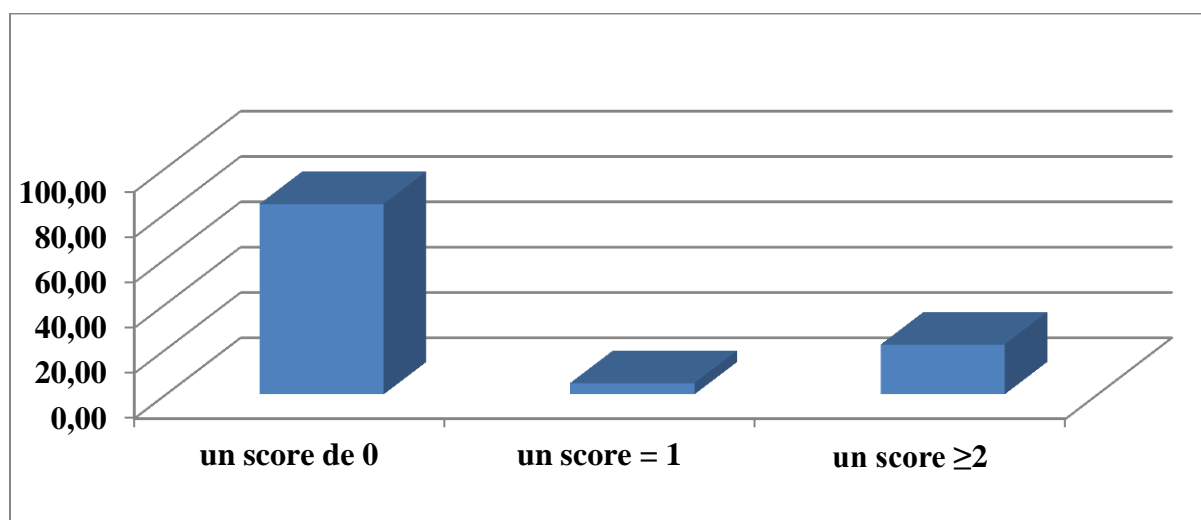


Figure 16 Résultats du test CMT selon le score de chaque quartier

2.6 Résultats bactériologiques

2.6.1 Prévalence des *Staphylococcus* isolées lors de mammites subcliniques

Les 14 échantillons analysés bactériologiquement ayant un CMT positif ont été contaminés par des *Staphylococcus* (85,14%) (Figure 17). Suite à isolement des cultures (Figure 18), coloration de gram (Figure 19), test catalase (Figure 20), test coagulase (Figure 20) et le résultat test mannitol mobilité (figure 21), parmi les 12 souches de staphylocoques, on a identifié 10 souches appartenant à l'espèce de *Staphylococcus aureus* avec un pourcentage de 83,33%, et 2 souches appartenant à l'espèce de *Staphylocoques* à coagulase négative avec un pourcentage de 16,66% (Figure22).

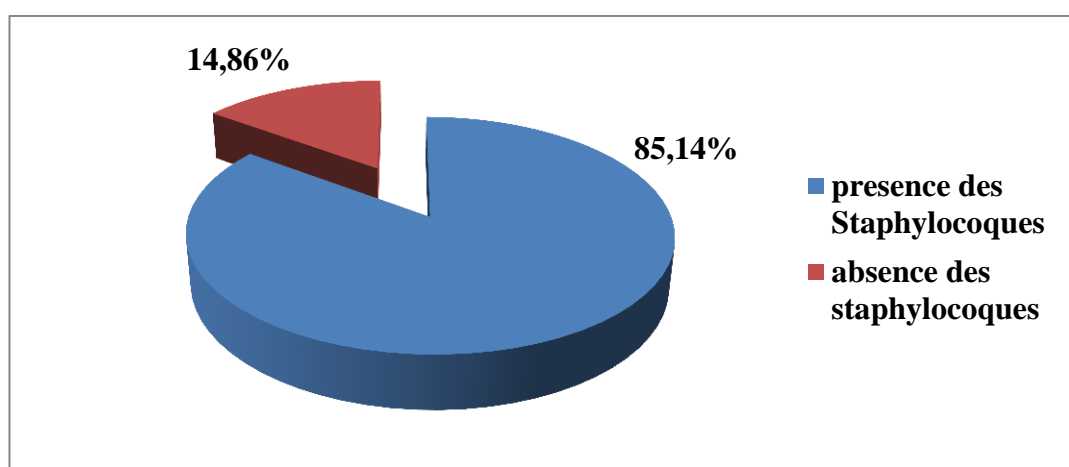


Figure 17: pourcentage des échantillons contaminés par des *Staphylococcus*



Figure 18: Isolement de *S.aureus* sur le milieu chapmen (photo personnel)

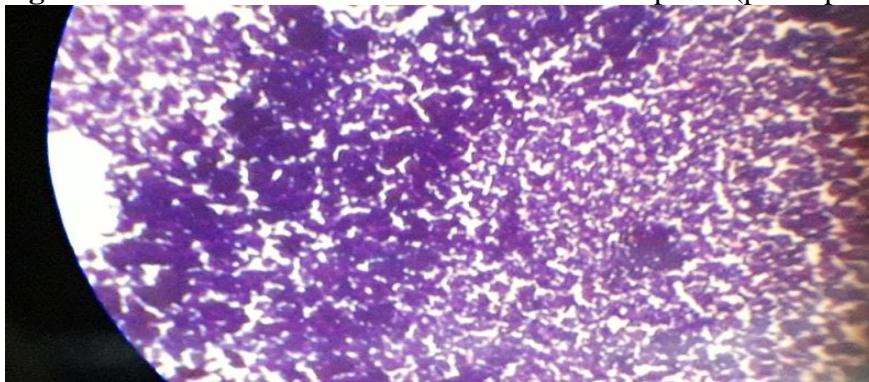


Figure 19: Image microscopique des *S.aureus* après la coloration, de gram



Figure 20: Résultat de test de coagulase

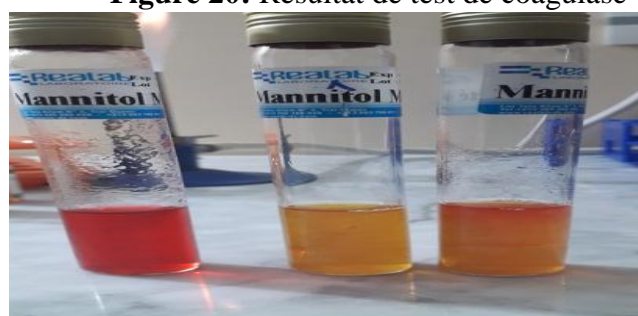


Figure 21: Résultat test mannitol mobilité, coloration jaunâtre de milieu

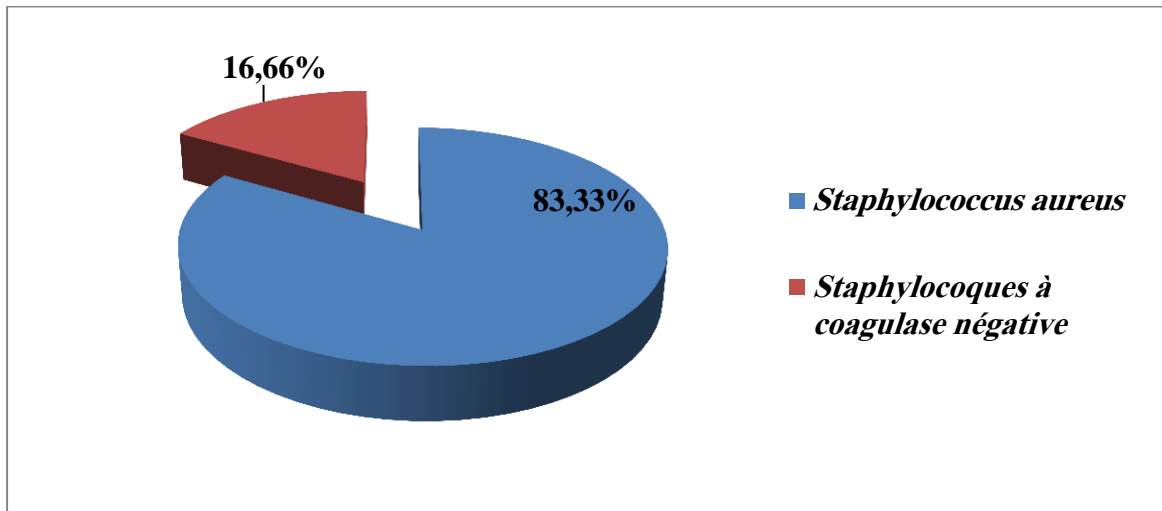


Figure 22: Répartition des Staphylocoques isolés.

2.6.2 Prévalence d'*Escherichia coli* isolées lors de mammites subcliniques

Les 14 échantillons analysés bactériologiquement, l'isolement des cultures (Figure 25), coloration de gram (Figure 24), test de TSI (Figure 26) et confirmation de *E.coli* sur le milieu urée indole + réactif kovacs, ont été contaminés par *Escherichia coli* (78%) (Figure 23)

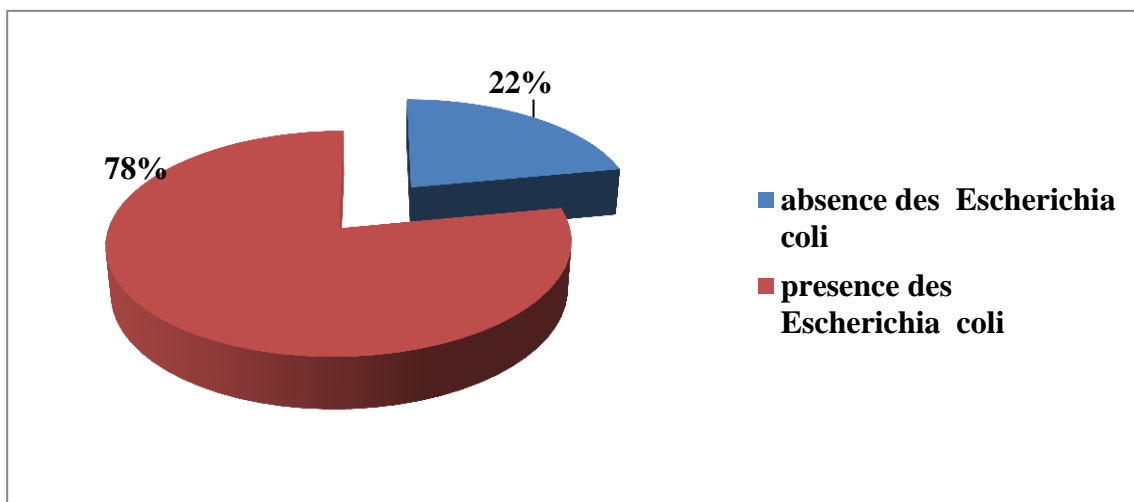


Figure 23: pourcentage des échantillons contaminés par des *eschirichia coli*

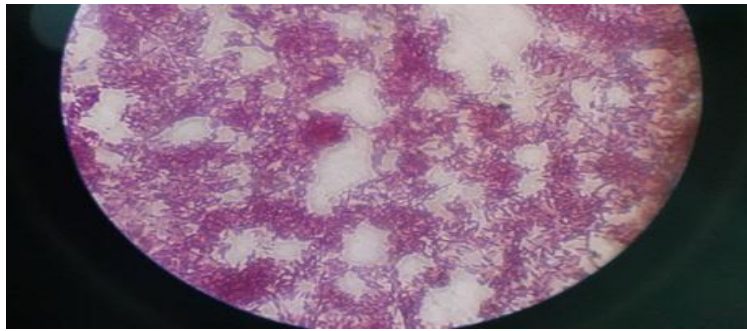


Figure 24: Image microscopique de *E.coli* après la coloration de Gram



Figure 25: Isolement d'*E. Coli* sur le milieu hektoen (colonies saumon = fermentation des sucre)



Figure 26: confirmation d'*E. Coli* par le test de TSI (de gaz +, culot jaune, pente jaune)



Figure 27: confirmation de *E.coli* sur le milieu urée indole + réactif kovacs

2.7 Antibiogramme

Le dernier volet de ce travail s’est consacré à l’étude de l’antibiogramme des germes identifiés causant des mammites subcliniques : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

2.7.1 Sensibilité de *Staphylocoque aureus* aux ATB :

L’antibiorésistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques observée dans nos cultures est indiquée dans la Figure ci-dessous. (Figure 28).

Le test d’antibiogramme nous a révélé une résistance importante des *Staphylococcus aureus* isolés des 14 vaches ayant un CMT positif vis-à-vis de Colistine et le Tétracycline avec un pourcentage de 100 %. 80 %, cependant une sensibilité très importante a été remarquée avec la plupart des autres antibiotiques utilisés : pénicilline à 100%, Kanamycine, et l’Erythromycine avec un pourcentage de 90% et Amoxicilline-Ac et le Chloramphénicol, avec un pourcentage de 80%.

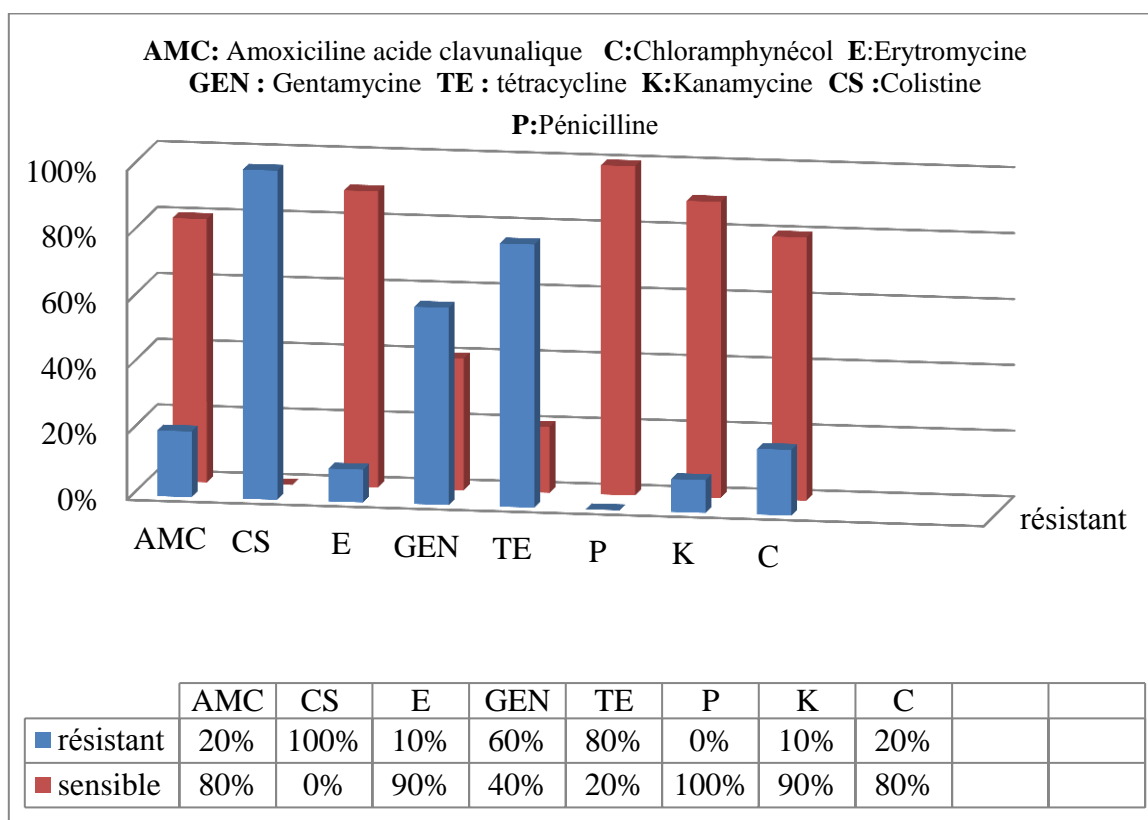


Figure 28: représentation graphique de sensibilité des S.aureus aux antibiotiques

2.7.2 Sensibilité d'*Escherichia coli* aux ATB

L'antibiorésistance d'*Escherichia coli* aux antibiotiques observée pour nos cultures est indiquée dans la Figure ci-dessous. Selon la Figure l'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques vis-à-vis d'*Escherichia coli*, nous a révélé que cette dernière présente une activité importante vis-à-vis de l'action inhibitrice des antibiotiques Ampicilline, Colistine, streptomycine et Pénicilline , une résistance faible pour Chloramphénicol et Amoxicilline-Ac. En revanche, la même souche d'*Escherichia coli* se révèle avec une sensibilité presque totale vis-à-vis 3 antibiotiques : Gentamicine (100%), Kanamycine (82%), Acide nalidixine (100%) .

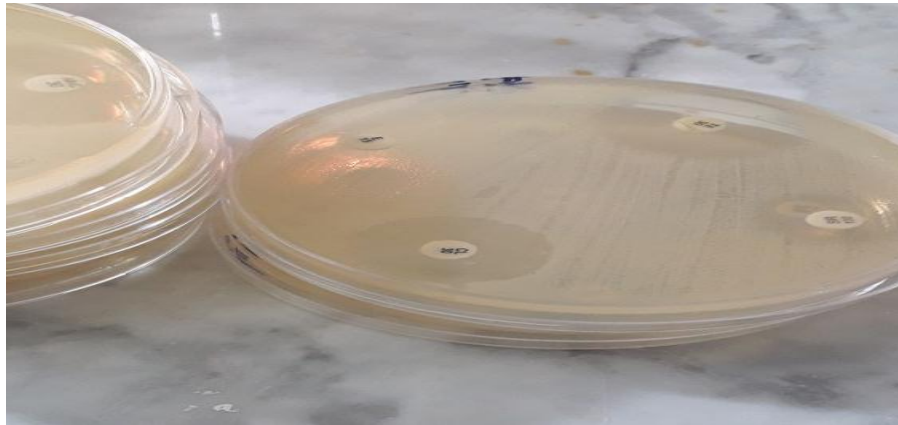


Figure 29: lecture de résultats de l'antibiogramme

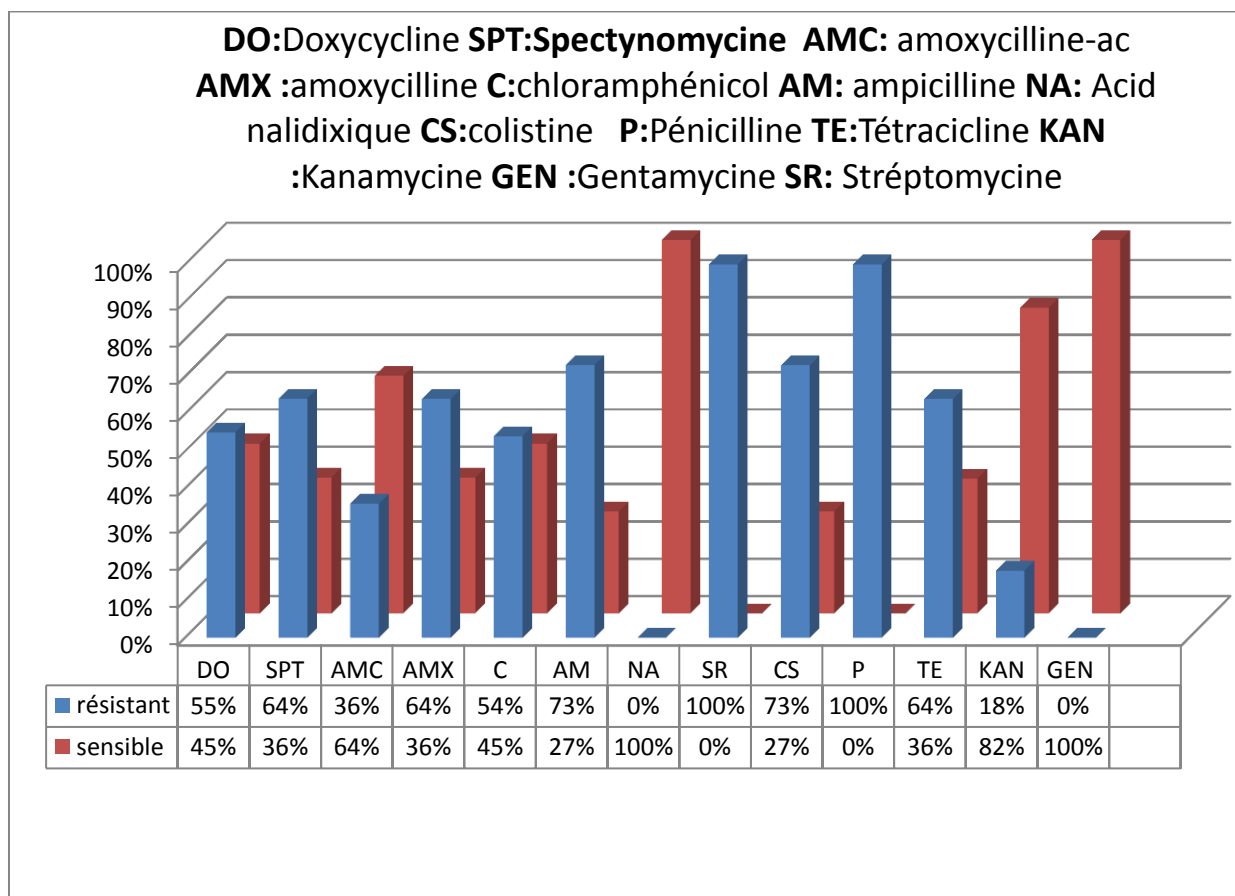


Figure 30: représentation graphique de sensibilité des e. coli aux antibiotiques

3 Discussion

Notre étude s'est basée sur l'estimation de la prévalence des mammites subcliniques bovines dans quatre troupeaux de vaches en identifiant les germes qui le cause afin de déterminer leur sensibilité aux antibiotiques, dans le cadre de l'évaluation de la qualité microbiologique et sanitaire du lait cru des vaches testées.

Le California Mastitis Test (CMT), utilisé depuis plus de 40 ans dans plusieurs pays, reste le meilleur test réalisable chez les femelles laitières pour détecter les mammites subcliniques (Ruegg et Reiman, 2002). Il donne une réponse qualitative sur le statut inflammatoire de chaque quartier de la mamelle (saine ou infectée) et permet de sélectionner les animaux sur lesquels seront effectués des prélèvements lors d'enquêtes sur les mammites (Gonzales et al 1988). Dans notre étude la détermination du test CMT du lait analysé des 31 vaches. nous a révélé un pourcentage de 45.16 % des vaches présentant un CMT positif, avec

un taux d'infection qui peut atteindre le 60% dans le deuxième et le quatrième élevage et ça peut exprimer par le mauvais état de propreté dans les bâtiments.

Cette prévalence obtenue (45.16%) est supérieur à celle trouvée par **(Saidi et al., 2015)** sur 15 élevages de centre de l'Algérie (25 %), cependant elle s'est située à un niveau plus faible que celle trouvée dans une autre étude menée en Algérie (57 %) **(Niar, 2000)**, une autre étude sur les mammites des vaches laitières utilisant le CMT, réalisée dans l'Est algérien **(Bouaziz, 2005)**, a donné un taux de prévalence plus élevé (73,6 %).

Cette variation de la prévalence des mammites subcliniques pourrait être attribuée à la définition de l'infection, variable d'un auteur à un autre **(Eberrhat , 1986)**, et à l'utilisation de différentes méthodes de diagnostic , cela peut traduire aussi par la forte possibilité de présence ces genres d'inflammations même chez les bovins qui apparaissent en bonne santé.

Pour la prévalence de mammite subclinique en fonction du rang et stade de lactation, plusieurs auteurs **(Morse, 1987, Sargeant, 2001)** rapportent que la proportion de vaches affectées par des mammites augmente avec le nombre de lactations, selon notre étude on a constaté aussi que les vaches primipares ne sont infecté que dans 22.22% de vaches primipares testées alors que la prévalence est plus importante lors des ranges avancé (dépasse les 50% à partir de la quatrième range)

L'incidence des mammites subcliniques a donc été plus marquée chez les vaches âgées , la prédisposition aux infections mammaires augmente avec l'âge, suite aux modifications physiologiques et anatomiques subies par les mamelles : allongement des trayons et donc diminution de la distance par rapport au sol, lésions sur le trayon, perte d'élasticité du sphincter et augmentation de sa perméabilité, ce qui favorise les contaminations exogènes **(Poutrel, 1983)**.

En parlant de stade de lactation on a remarqué que le taux d'infection en fin de lactation est plus important (60%) qu'au début (41.17%) ou en milactation (44.44%). Cela peut exprimer par l'utilisation des antibiotique en tarissement par les éleveurs sous-titre préventif donc le risque d'infection au début de lactation va être diminué

Résultats bactériologiques

Avec le CMT, la prévalence des mammites subcliniques a été évaluée à 45.16 % des vaches dépistées et la culture bactériologique a été positive chez 92.86 % des vaches positives au CMT. Ce résultat a montré une très bonne corrélation entre les résultats du CMT et l'isolement pour l'identification des infections intra-mammaires et donc une bonne fiabilité du test CMT utilisé pour le dépistage. Ce résultat est meilleur que celui rapporté par **(Ruegg et Reiman, 2002)** qui obtiennent des chiffres de 75 à 80 % de corrélation. L'étude réalisée dans l'Est algérien par **(Bouaziz, 2005)** a montré une sensibilité et une spécificité du test CMT respectivement de 75 et 89 %. Ces résultats rejoignent celle de **(Rasmussen et al. ,2005)**, qui trouvent une bonne corrélation entre les résultats du CMT et l'isolement pour l'identification des infections intra-mammaires chez les vaches laitières dans les conditions de l'élevage malgache. D'autre part, des études ont mis en évidence la plus grande fiabilité du CMT en comparaison avec d'autres tests simples tels que le papier indicateur de pH **(Sargeant, 1998, Sargeant ,2001)**.

Cette prévalence ressemble au résultat apporté par **(OUadah et Saoudi, 2015)** (50%) mais elle est supérieure à celle observée par certains auteurs, **Kudinha et Simango (2002)**, **Bada-Alamedji et al (2005)** qui ont trouvé respectivement 34,2% et 36,63%.

De nombreuses études effectuées sur les mammites montrent que les pathogènes majeurs sont surtout représentés par *S. agalactiae* , *S. aureus* et *E. coli* .

Dans cette étude, aucune souche de *Streptococcus agalactiae* n'a été isolée. Par contre *S. aureus* représente 83.33 % des souches isolées et identifiées. Cette prévalence est supérieur au résultat apporté par certains auteurs : **Ouadah Z.Y et Saoudi Gh ,2015** (50%) , **Kudinha et Simango ,2002** (34,2%) , **BADA-ALAMBEDI et al. (2005)** 36,63%.

Staphylococcus aureus est toujours considéré comme l'un des agents étiologiques les plus courants associés à des infections subcliniques dans les vaches en lactation par **(EL-SEEDY et al., 2010)**, elle fait partie du groupe des bactéries contagieuses qui se transmettent d'une vache à l'autre pendant la traite.

Dans notre étude *l'Escherichia coli* a représenté un taux de 78 % qui est une valeur un trop élevé par rapport aux autres travaux telle celle d'**Ouadah et Saoudi (2015)** et **Ameen et**

al (2019) avec un taux de 33% et 19% respectivement. Cette bactérie est présente dans la majorité des troupeaux et cause le plus souvent des infections chroniques.

La forte fréquence observée pour ces germes pose un véritable problème car, même s'ils ne sont pas à l'origine d'un vrai processus pathologique, ils perturbent, rien que par leur présence au sein de la mamelle, la qualité du lait en augmentant le nombre de cellules (**Perrin- Coullioud et al, 1991**). Cette prévalence élevée peut avoir un rapport avec les conditions d'hygiène très peu satisfaisantes dans les élevages.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré une bonne sensibilité de *S. aureus* au chloramphénicol à l'Erythromicine au kanamycine, et à la pénicilline. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par **Ameen et al (2019)**, **Ouadah et Saoudi (2015)**. Par contre, une autre étude réalisée par (**BOUCHO et al 1985**) où il a obtenu une sensibilité médiocre pour le chloramphénicol.

Une résistance non négligeable des *staphylocoques* a été observée pour la Gentamicine ce pourcentage de résistance (60%) peut se justifier par l'utilisation large de cet antibiotique dans le traitement des mammites. L'utilisation abusive des antibiotiques (doses insuffisantes, longue durée de traitement...) sont le plus souvent à la base des phénomènes de résistance. Concernant l'étude de la sensibilité de *E. Coli* vis-à-vis les antibiotiques, on a trouvé que : cette bactérie est très sensible à la Gentamicine(100%) et la Acide nalidixique (100%) alors qu'elle résiste bien (100%)à la pénicilline et la streptomycine. Une résistance assez importante a été remarquée avec le chloramphénicol suite à leur utilisation accrue dans le traitement des mammites.



CONCLUSIONS ET

RECOMMANDATIONS

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

En Algérie, le secteur laitier a une importance considérable dans l'économie agricole. Les besoins de son extension et de son développement constituent un enjeu majeur pour la politique agricole du pays. La rentabilité des élevages de vaches laitières dépend de la maîtrise de l'alimentation et du contrôle de certaines pathologies comme les infections mammaires résultant de l'action de micro-organismes pathogènes très variés. Ces derniers attaquent et endommagent les tissus sécrétoires qui réagissent très souvent par la mobilisation des leucocytes polynucléaires neutrophiles dans la région de l'infection. Cette affection est très répandue dans le monde entier.

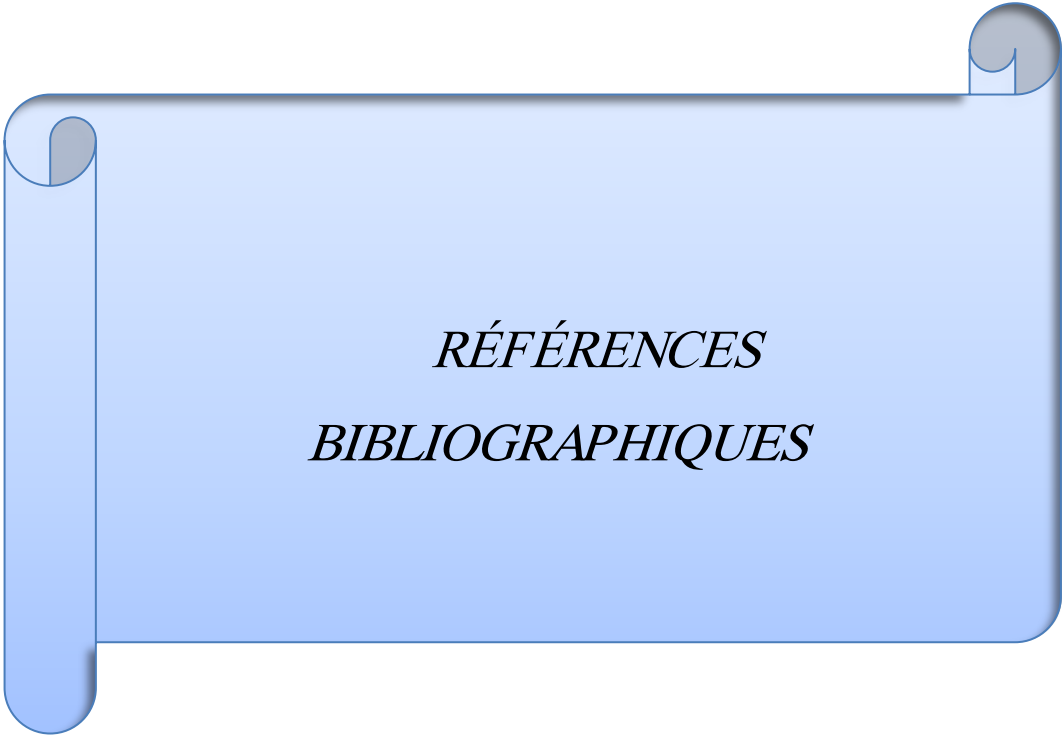
Le présent travail a permis d'évaluer la prévalence des mammites subcliniques qui demeurent parmi les pathologies dominantes sévissant dans un élevage laitier et d'identifier les germes qui en sont responsables. Les résultats obtenus, par le test **Californian Mastitis Test (CMT)**, ont montré l'importance de l'inflammation des mamelles chez 31 vaches (mammites subcliniques) dans quatre fermes différentes dans la région de Ain Bessem.

On note une prévalence remarquable de (45.16%) de cas de mammites bovines diagnostiqués dans l'étude. Les germes responsables de cette pathologie sont principalement des bactéries pathogènes : *Staphylococcus* avec une prévalence globale (85.14%), les *Escherichia coli* avec une prévalence de (78%) et on note l'absence totale des *Streptococcus*. (0%). parmi les *Staphylococcus* isolés, on a identifié (83.33%) *Staphylococcus aureus*.

L'évaluation de la sensibilité des principaux germes isolés vis-à-vis de certains antibiotiques, a montré en général une sensibilité variable de ces germes vis-à-vis des molécules testées. Ainsi, les antibiotiques : Gentamicine, Amoxicilline-Ac , Colistine et le kanamycine, sont montrés avec une action inhibitrice commune à l'encontre des bactéries pathogènes isolées. L'emploi de différents outils de diagnostic (Examen clinique, CMT et l'analyse bactériologique) nous ont permis de comparer et valider nos résultats de diagnostic de l'infection, ainsi, afin de promouvoir l'élevage bovin laitier et l'amélioration de la qualité du lait cru de la vache. il est désirable d'établir des normes de contrôle des pratiques d'hygiène dans les fermes laitières car la mise en place de ce système diminuera la prévalence des mammites bovines et augmente la qualité et le taux de la production du lait cru de vache dans les exploitations laitières en Algérie .

La mammite subclinique est la plus répandue et pose beaucoup de problèmes, car la difficulté de sa détection la rend difficile à traiter. Elle est à l'origine de pertes économiques considérables. Pour améliorer la production et préserver la santé du consommateur, une lutte efficace contre les mammites s'avère indispensable. Cette lutte sera surtout basée sur la prévention, car la mammite, une fois installée, est difficile à éliminer et son traitement est très coûteux. Face à l'importance des germes de contamination, nous suggérons :

- ❖ Une amélioration des conditions de traite à savoir une bonne hygiène de la traite.
- ❖ Une bonne hygiène des étables.
- ❖ Des dépistages périodiques des vaches à mammite subclinique et la réforme des animaux sujets à des mammites chroniques.
- ❖ Une bonne maintenance des machines à traire.
- ❖ L'instauration d'un traitement systématique de toutes les vaches au tarissement à l'aide d'antibiotiques judicieusement choisis qui permettront d'assainir les quartiers pendant la période sèche afin d'éviter les mammites en période pré et post partum.



RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdelkarim issa ibrahim. , 2015 Bilan bactériologique des mammites dans les troupeaux Zébu Azawak à la station expérimentale sahélienne de Toukounous (Niger) et épidémiologie moléculaire des *Staphylococcus aureus* isolés entre 2009 et 2012 thèse , médecine vétérinaire , université de Liège.

Ameen,F Shorouk,A,R Sahar,A.El-Shatouryd , Emad M.Riad , Mohamed E.Enany Abdullah A.Alarfaja 2019 Prevalence of antibiotic resistant mastitis pathogens in dairy cows in Egypt and potential biological control agents produced from plant endophytic actinobacteria , Saudi Journal of Biological Sciences , Volume 26, Issue 7, November 2019, Pages 1492-1498

Amellal R.,1995. La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et réalité de la dépendance. Options Méditerran., Sér. B :°14.

Atalla, H., Gyles, C., Mallard, B., 2010. Persistence of a *Staphylococcus aureus* small colony variants (*S. aureus* SCV) within bovine mammary epithelial cells. Vet. Microbiol. 143, 319–328.

Bada-Alamedji R. ; Kana Y. ; Issa Ibrahim A. ,2005. Bactéries associées aux mammites subcliniques dans les élevages urbains et périurbains de Niamey (NIGER). RASPA, 3 (2) : 119-124.

Beroual K., 2003. Caractérisation des germes d'origine bactérienne responsables des mammites bovines dans la région de la Mitidja. Thèse Magister, Université de Blida, Algérie, 134 p

Bildaud O, Houffschmitt P, Vigurie Y ,2010. Étiologie des mammites bovines en France entre 2005 et 2007. Intervet,

Blowey RW, Edmondson P., 2010 Mastitis control in dairy herds. Seconde édition. . CABI, Wallingford, United Kingdom. 272 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bouaziz O., 2005. Contribution à l'étude des infections intra-mammaires de la vache laitière dans l'Est algérien. Thèse Doct., Université Mentouri, faculté des Sciences, Constantine, Algérie, 235 p.

Bouchot M. ; Catel J. ; Chirol C. ,1985. L'antibiogramme et le traitement des infections mammaires des bovins. Rec. Méd. Vét., 161 (6-7) : 587-601.

Boutel P., Detilleux J., Motkin M., Deliege M., Piraux E., Depinois A., Debliquy P., Mainilj., Czaplicki G., Lekeux P., 2005. Comparaison du taux cellulaire et de la sensibilité antimicrobienne des germes responsables de mammite subclinique bovine entre les filières conventionnelle et biologique. Ann. Méd. vét., 149 : 173-182.

Bradley A.J., 2002. Bovine mastitis: An evolving disease. Vet. J., 164: 116-128.

Bredley J, Greent M., 2000 A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. Journal of Dairy Science. ;83(9):1957-65.

Calvinho, L.F., Almeida, R.A., Oliver, S.P., 1998. Potential virulence factors of *Streptococcus dysgalactiae* associated with bovine mastitis. Vet. Microbiol. 61, 93–110.

Christiane Le Louedec., 1978 EFFICACITE DES ANTIBIOTIQUES CONTRE LES MAMMITES BOVINES *STAPHYLOCOCCIQUES* ET *STREPTOCOCCIQUES*. Annales de Recherches Vétérinaires, INRA Editions, 9 (1), p.63-88.

Crawshaw WM, Macdonald NR, Duncan G.,2005. Outbreak of *Candida rugosa* mastitis in a dairy herd after intramammary antibiotic treatment. Veterinary Record., 156, 812-813.

Dean A.S., Crump L., Greter H., Hattendorf J., Schelling E., Zinsstag J., 2012. Clinical manifestations of human brucellosis: a systematic review and meta-analysis. PLoS Negl. Trop. Dis., 6, 1929.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Debeaumont C. P. A. Falconnet . M. Maurin., 2005. Real-time PCR for detection of *Brucella* spp. DNA in human serum samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 24: 842–845 .

Descoteaux L. ,2004La mammite clinique : stratégies d'intervention. In *St Hyacinthe*;. p. 1-23.

Dudouet C.,2014. La production des bovins allaitants. 4ème édition. Paris : France Agricole;

Durel L. ; Faroult B. ; Lepoutre D. ; Brouillet P. ,2003. Mammites des bovins (cliniques et subcliniques) : La dépêche : démarches diagnostiques et thérapeutiques .La dépêche technique, 87, pp. 39.

Durel L, Guyot H, Théron L., 2011.Vade-mecum des mammites bovines. ÉditionsMed'Com, Paris, France. 270 p

Durel L, Poutrel B ., 2006. Le diagnostic bactériologique des mammites par le vétérinaire praticien, solutions pratiques et limites. *Bulletin des GTV.* (33):43-53.

El-Seedy, F. R., El-Shabrawy, M., Hakim, A., Dorgham, S. M., Nagwa, S., Bakry, M. A. et Osman N. N. M. ,2010. Recent Techniques used for isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* from Mastitis Cows. *J. Amer. Sci.* 6 (2).

Emile Sègbégnon Houssa., 2006. evaluation de la prevalence et des causes des mammites subcliniques en élevage bovin laitier intensif dans la zone périurbaine de dakar (cas des fermes de niacoulrab et de wayembam) ,these docteur en medecine veterinaire ,Faculté de Médecine, Pharmacie et d'Odonto-stomatologie de Dakar p 16-27

Erskine J. Wagner S. ET Degraves F.J. ,2003 Mastitis therapy and pharmacology. *The Veterinary Clinics Food Animal Practice*, 19(1), pp. 109–138.

Francoz D, Couture Y.,2014. Manuel de médecine des bovins. Editions Med'com. 2014. 704 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Garzoni, C., Kelley, W.L., 2009. *Staphylococcus aureus*: new evidence for intracellular persistence. Trends Microbiol. 17, 59–65

Gay E., Bord S., Bouchard D ,Barnouin J., 2002. Modalités de traitement des mammites cliniques en Élevage bovin laitier en France, Rencontres Recherche Ruminants, 9, p 37-40.

Giguere I. Sprescott J.F. ET Dowling P.M. ,2013. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 5 th Edition. Wiley-Blackwell, pp. 519-334

Gonzales R.N., Jasper D.E., Farver T.B., Bushnell R.B., Franti C.E., 1988. Prevalence of udder infections and mastitis in 50 California dairy herds. J. Am. med. Assoc., 193: 323-328.

Grant, R.G., Finch, J.M., 1997. Phagocytosis of *Streptococcus uberis* by bovine mammary gland macrophages. Res. Vet. Sci. 62, 74–78.

Hanzen CH. ,2009. Propédeutique de la glande mammaire : sémiologie, diagnostic individuel et de troupeau. Liège, Belgique, Université de Liège, p. 11.

Hanzen CH. ,2016. Physio-anatomie et propédeutique de la glande mammaire. Symptomatologie, étiologie et thérapeutiques. Approches individuelles et de troupeau des mammites. Université de Liège. Faculté de médecine vétérinaire. 170 p

Hélène Massou ., 2006. ENQUETE SUR LE TRAITEMENT DES MAMMITES CLINIQUES EN AGRICULTURE BIOLOGIQUE EN BRETAGNE UTILISATION DE L'AROMATHERAPIE THESE diplôme d'Etat de DOCTEUR VETERINAIRE , la Faculté de Médecine de Nantes , page 29 , 30.

Hogan J, Smith L., 2003 Coliform mastitis. Veterinary Research.;5(34):507-19

Hill, A.W., Finch, J.M., Field, T.R., Leigh, J.A., 1994. Immune modification of the pathogenesis of *Streptococcus uberis* mastitis in the dairy cow. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 8, 109–117.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Jacquinet S., 2009. Evaluation du dépistage des mammites par la conductivité électrique du lait. Th.D.Vétérinaire, Toulouse,

Kudinha T. et Simango C., 2002. Prevalence of *coagulase negative staphylococci* in bovine mastitis in Zimbabwe. J. S. Afr. Vet. Assoc., 73 (2): 62-5.

Leigh, J.A., Field, T.R., 1994. *Streptococcus uberis* resists the bactericidal action of bovine neutrophils despite the presence of bound immunoglobulin. Infect. Immun. 62, 1854–1859.

Millogo V, Svennersten SK, Ouédraogo GA, Agenäs S, 2010. Raw milk Hygiene at farms, processing units and local markets in Burkina Faso. Food Control, 21: 1070-1074.

Morse D., Lorenzo M.A., Wilcox C.J., Natzke R.P., Bray D.R., 1987. Occurrence and reoccurrence of clinical mastitis. J. Dairy Sci.,70: 2168.

Niar A., Ghaazy K., Dahache S.Y., 2000. Incidence des mammites sur les élevages bovins de la wilaya de Tiaret. In : 4e Séminaire international de médecine vétérinaire, Constantine, Algérie, 21-22 nov. 2000.

Nicholas R, Ayling RD. ,2003 Mycoplasma bovis : disease, diagnosis, and control. Research in Veterinary Science., 74, 105-112.

Ouadah Z. Y ; Saoudi Gh., 2015 Diagnostic des mammites sub-cliniques dans un élevage bovin laitier

Oviedo-Boyso, J., Valdez-Alarcón, J.J., Cajero-Juárez, M., Ochoa-Zarzosa, A., López-Meza, J.E., Bravo Patiño, A., Baizabal-Aguirre, V.M., 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. J. Infect. 54, 399–409.

Perrin-coullioud I. ; Martel J. L. ; Brouillet P. et Fedida M., 1991. Identification et sensibilité aux antibiotiques de diverses espèces de staphylocoques associés à des mammites bovines inapparentes et sub-cliniques. Rev. Méd. Vét, 42: 39-47.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Petrovski K., Trajcev M., Buneski G. ,2006. A review of the factors affecting the costs of bovine mastitis. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 2006, 77, 52-60.

Poutrel B., 1983. La sensibilité aux mammites : revue des facteurs liés à la vache. *Ann. Rech. vet.*, 14 : 89-104.

Poutrel B., 2014 ,Prévention vaccinale des mammites à coliformes et staphylocoques. *Supplément technique, Dépêche Vétérinaire.* 136, 31-32.

Remy D., 2010. Les mammites : hygiène, prévention, environnement, 1re édn. Paris, France, La France agricole, 260 p.

Rakotozandeindrainy R., Razafindrajaona J.M., Foucras G., 2007. Diagnostic rapide à la ferme des mammites subcliniques des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar. *Revue Méd. vét.*, 158 : 100-105.

Rasmussen M.D., Bjerring M., Skjoth F., 2005. Visual appearance and CMT score of foremilk of individual quarters in relation to cell count milked automatically. *J. Dairy Res.*, 88: 49-56.

Reyher K, Dohoo I, Scholl D., 2010 Les bactéries de la mammite, un mariage complexe. *Le producteur de lait québécois.* p;38-40.

Roberson JR, Warnick LD, Moore G, 2004 Mild to moderate clinical mastitis: efficacy of intramammary amoxicillin, frequent milk-out, a combined intramammary amoxicillin, and frequent milk-out treatment versus no treatment. *J. Dairy Sci.*, 87, 583-592.

Royster E., Wagner S. ,2015. Treatment of mastitis in cattle. *The Veterinary Clinics Food Animal Practice.*, 31, pp.17–46.

Ruegg P.L., Reiman D.J., 2002. Milk quality and mastitis tests. *Bovine Pract.*, 36: 41-54.

Sargeant J.M., Morgan A., Scott H., Leslie K.E., Ireland M.J., Bashiri A., 1998. Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario: frequency of occurrence and bacteriological isolates. *Can. Vet. J.*, 3: 33-38.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sargeant J.M., Leslie K.E., Shirley J.E., Pulkrabeck B.J., Lim G.H., 2001. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intra-mammary infection in early lactation. *J. Dairy Sci.*, 84: 2018-2024.

Scott PR, Penny CD, Macrae A., 2011 Cattle medicine . Manson Publishing, London, United Kingdom. 289 p.

Seegers H, Serieys F. ,2002.L'intervention du vétérinaire face à un problème de mammites : questions de base et réponses possibles aujourd'hui. In Tours; p. 139-45.

Serieys F. ,1985. La numération des cellules du lait : interprétation pour le diagnostic et le suivi des infections mammaires. *Recueil de médecine vétérinaire : Les mammites bovines*, 161, (6-7), p. 553-566.

Thakker, M., Park, J.S., Carey, V., Lee, J.C., 1998. Staphylococcus aureus serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in a murine bacteremia model. *Infect. Immun.* 66, 5183–5189.

Théron L, Pluvinage P, Sérieys F, Hanzen Ch .,2010. Mammites bovines à pathogènes inhabituels, comment les gérer au niveau individuel et du troupeau?. *Bulletin des GTV.* 54, 41-53.

Thomas, L.H., Leigh, J.A., Bland, A.P., Cook, R.S., 1992. Adherence and colonization by bacterial pathogens in explant cultures of bovine mammary tissue. *Vet. Res. Commun.* 16, 87–96.

Togniko Kenneth Tchassou, 2009 enquête épidémiologique sur les mammites subcliniques dans les élevages bovins laitiers périurbains à Dakar Thèse pour obtenir le Grade de Docteur Vétérinaire (Diplôme D'ÉTAT) p 37

Waage S, Skei HR, Rise J, Rogdo T, Sviland S, Ødegaard,SA.,2000. Outcome of clinical mastitis in dairy heifers assessed by reexamination of cases one month after treatment. *Journal of Dairy Science.* 83, 70-76.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Wallemacq, H., Girard, B., Lekeux, P., Bureau, F., 2010. La vaccination contre les mammites à *Staphylococcus aureus* chez la vache laitière. *Ann Méd Vét* 154, 16–29.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Annexe N°1 :

Fiche de renseignement

I. Identification

Nom de la ferme :

Communauté :

Nom et prénoms du répondant :

II. Structure du troupeau :

Types zootechniques	Nombre
Vaches en lactation	
Vaches tarées	
Taureaux Génisses	
Velles	
Taurillons	
Veaux	
Total	

III. Fiche traite

Rythme de traite : matin seul matin et soir Destination
du lait après la traite

Autoconsommation Vente au marché ou à un grossiste

Vente en situ transformation sur place

Examen systématique des premiers jets : oui non Rang de
traite des vaches à mammites chroniques :

Début Fin N'importe

IV. Hygiène dans les élevages Caractéristique physique du sol Terre battue

Sol meuble Avec paille / sans paille

Bétonné Avec paille / sans paille

Terre battue Avec paille / sans paille

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Drainage Bon (sol sec) Insuffisant Sol toujours humide

Propreté du sol

Présence des selles sèches et fraîches

Présence des selles fraîches seules

Absence ou rareté des selles fraîches sur le sol

Hygiène de la traite :

Les trayeurs se lavent-ils les mains avant la traite ? Oui non

Les télines des vaches sont-elles nettoyées avant chaque traite ? oui non

Comment se fait le nettoyage ?

Au chiffon sec A main nue

par rinçage à l'eau Par rinçage à l'eau sous pression Mensuel

Contrôle de la machine à traire : Annuel Mensuel

Combien de fois les manchons et autres éléments en caoutchouc de la machine à traire sont-ils remplacés par an ?

Traitement systématique des vaches au tarissement

Produits utilisés pour le traitement

IV. Alimentation

Composition de la ration alimentaire des vaches

Les différentes formulations en fonction du stade de lactation

V. Plan de prophylaxie

Pathologies couramment rencontrées dans l'élevage

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Quelles sont les pathologies contre lesquelles les animaux sont souvent vaccinés ? Avec quelle fréquence ?

SINCÈRE MERCI POUR VOTRE PARTICIPATION À CETTE ENQUÊTE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Annexe N°3 :

Antibiotique	Abréviation
Ampicilline	AM
Colistine	CS
Streptomycine	SR
pénicilline	P
Amoxicilline -AC	AMC
Chloramphénicol	C
Erythromycine	E
Gentamicine	GEN
Tétracycline	TE
Kanamécine	KAN
Doxycycline	DO
Streptomycine	SPT
Amoxicilline	AMX
Acide Nalidixique	NA

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Résumé :

Les mammites constituent une des affections les plus importantes en élevage bovin laitier , elle se définit par une inflammation de la glande mammaire, touchant un ou plusieurs quartiers, quels qu'en soient l'origine, la gravité et le mode d'évolution (ROYSTER E., WAGNER S. , 2015).

Au cours de notre stage pratique nous avons réalisé deux testes successifs : dépistage des mammites subclinique des 31 vaches sélectionnées par le test California Mastitis Test (CMT) et analyse bactériologique des laits des vaches ayant un California Mastitis Test (CMT) positif.

Le diagnostic a révélé une prévalence de 45.16 % des mammites subcliniques sur un totale de 31 vaches.

L'analyse bactériologique des échantillons des laits crus, prélevés des 14 vaches ayant un California Mastitis Test (CMT) positif a révélé une prévalence de 85.14% de Staphylococcus (83.33% de Staphylococcus aureus) et 78% d'Escherichia coli. Le test d'antibiogramme de Staphylococcus aureus a révélé la sensibilité presque totale à l'encontre de l'action inhibitrice importante des antibiotiques : pénicilline à 100%, Kanamycine , Erythromycine , Colistine à 90 %, Tandis que Escherichia coli s'est avérée sensible vis-à-vis des antibiotiques: Gentamicine(100%), Kanamycine (82%),Acide nalidixine(100%) .

Mots clés: mammites subcliniques, vache, lait, Staphylocoque aureus, Escherichia coli, le California Mastitis Test, antibiotiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Summary :

Mastitis is one of the most important ailments in dairy cattle farming, it is defined by inflammation of the mammary gland, affecting one or more quarters, whatever the origin, severity and mode of development (ROYSTER E., WAGNER S., 2015).

During our practical training, we carried out two successive tests: screening for subclinical mastitis of 31 cows selected by the California Mastitis Test (CMT) and bacteriological analysis of the milk of cows with a positive California Mastitis Test (CMT).

The diagnosis revealed a prevalence of 45.16% of subclinical mastitis in a total of 31 cows.

Bacteriological analysis of raw milk samples taken from 14 cows with a positive California Mastitis Test (CMT) revealed a prevalence of 85.14% of *Staphylococcus* (83.33% of *Staphylococcus aureus*) and 78% of *Escherichia coli*. The *Staphylococcus aureus* antibiogram test revealed almost total sensitivity to the strong inhibitory action of antibiotics: 100% penicillin, Kanamycin, Erythromycin, 90% colistin, While *Escherichia coli* was found to be sensitive with respect to antibiotics: Gentamicin (100%), Kanamycin (82%), Acid nalidixin (100%).

Keywords: subclinical mastitis, cow, milk, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, California Mastitis Test, antibiotics.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ملخص:

يعد التهاب الضرع احد اهم الامراض التي تصيب البقر ، ويتم تعريفه من خلال التهاب الغدة الثديية ، وهو عبارة عن التهاب في الضرع ، يكون اما في احد او اكل ارباع الضرع ، بغض النظر عن أصله وشدته.

انطلاقا من الداسة التي قمنا بها حيث قمنا بفحص التهاب الضرع ل 31 بقرة بواسطة اختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع

. والتحليل البكتيريولوجي للحليب الابقار التي اكد انها تعاني من التهاب

. كشف التشخيص عن انتشار 45.16% من التهاب الضرع في إجمالي 31 بقرة

أظهر التحليل البكتيريولوجي لعينات اللبن الخام المأخوذة من 14 بقرة (اختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع الإيجابي) انتشار 85.14% من المكورات العنقودية (83.33% مكورات العنقودية الذهبية) و 78% من العصيات القولونية

كما أظهر اختبار فعالية المضاد الحيوي ضد مكورات العنقودية الذهبية حساسية شبه كاملة للتأثير التثبيطي القوي للمضادات الحيوية: 100% بنسلين ، كاناميسين ، إريثروميسين ، 90% كوليستين ، بينما وجد أن الإشريكية القولونية حساسة فيما يتعلق (بالمضادات الحيوية: الجنتاميسين (100%) ، كاناميسين (82%) ، حمض الناليديكسين (100%)

الكلمات المفتاحية: التهاب الضرع تحت الإكلينيكي ، البقر ، الحليب ، المكورات العنقودية الذهبية ، الإشريكية القولونية ، اختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع ، المضادات الحيوية