

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid IBN BADIS
Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد ابن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

KETROUCI Narimane Saliha

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Microbiologie appliquée

THÈME

**Étude bactériologique sur les infections
mammaires chez les bovins laitiers.**

Présenté le 22/09/2020

Devant les membres du jury

Président	DJIBAOUI .R	Professeur	U. Mostaganem
Examineur	DAHOU.A.E.A	Maître de conférences B	U. Mostaganem
Encadreur	RECHIDI-SIDHOUM.N	Maître de conférences B	U. Mostaganem

Travail réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales

Année universitaire 2019-2020

Remerciements

Au début et avant tout, je remercie « ALLAH » le tout puissant de m'avoir guidé tout au long de mes années d'études et de m'avoir donné le courage et la santé pour réaliser ce travail.

Je tiens tout d'abord à rendre un vibrant hommage au Dr RECHIDI-SIDHOUM.N., promotrice de mon mémoire. Depuis ma formation, jusqu'à l'aboutissement de ce travail, vous avez toujours répondu promptement à toutes mes sollicitations. J'ai beaucoup bénéficié de votre grande disponibilité.

Je remercie également les membres du jury qui ont bien voulu accepter l'évaluation de mon travail malgré leurs multiples occupations, hommage respectueux au Professeur DJIBAOUI.R. en tant que président et Docteur DAHOU.A.E.A., en tant qu'examineur.

Au Professeur HOMRANI.A., pour avoir bien voulu mettre à ma disposition le laboratoire des sciences et techniques de productions animales en ce qui concerne ma recherche.

A tous les enseignants qui m'ont accompagné pendant mon cursus universitaire

A Mr. MESKINI.Z., doctorant, pour son précieux aide et pour ces conseils qui ont contribué à la réalisation de mon travail.

Je remercie également tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en premier lieu à mes chers parents qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours et qui m'ont éclairé le chemin à suivre dans la vie ;

A mon mari qui m'a beaucoup aidé durant tout ce travail afin de le réaliser ;

A mon fils qui est venu dans ce monde plein d'incertitudes ;

A ma sœur et à mon frère ;

A ma belle-mère et mon beau père ;

A mes beaux frères ;

A toute ma famille sans exception ;

A tous mes collègues de la promotion 2ème année master « microbiologie appliquée » ;

A tous ceux qui m'ont aidé dans l'élaboration de ce mémoire.

Résumé

Comme le lait est un aliment de base, il doit satisfaire aux exigences qualitatives pour le consommateur et pour l'industrie laitière. Pour atteindre ces objectifs les éleveurs doivent contrôler et prévenir les mammites surtout, sub-cliniques qui représentent un taux d'infection très élevé. Pour cela, l'objectif de cette étude est de détecter précocement les mammites, par l'isolement et la caractérisation des germes pathogènes chez les bovins laitiers de l'exploitation expérimentale « élevage », de l'université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem. Les résultats bactériologiques du lait ont permis l'isolement et l'identification d'un staphylocoque de type coagulase négative. L'indice de propreté indique un état relativement propre des locaux et des animaux et le test au teepol révèle la présence de mammite subclinique chez une vache laitière. Ceci montre que la conduite de la traite et l'état d'hygiène des locaux sont probablement la cause des infections mammaires inapparentes. Une formation adéquate des éleveurs sur les méthodes de détections précoces des mammites et sur les mesures d'hygiène à suivre dans la conduite des vaches laitières permettra de diminuer de façon significative l'apparition de mammites et les pertes financières qui en découlent.

Mots- clés : Vache laitière, mammite subclinique, microbiologie, hygiène.

ملخص

نظرًا لأن الحليب غذاء أساسي، يجب أن يفي بمتطلبات الجودة للمستهلك وصناعة الألبان. لتحقيق هذه الأهداف، يجب على المربين السيطرة على التهاب الضرع والوقاية منه، وخاصة التهاب الضرع شبه الإكلينيكي، والذي يمثل نسبة إصابة عالية جدًا. لهذا الهدف من هذه الدراسة هو الكشف المبكر عن التهاب الضرع من خلال عزل وتوصيف الجراثيم المسببة للأمراض في الأبقار الحلوب من المزرعة التجريبية لتربية الأنعام من جامعة عبد الحميد ابن باديس في مستغانم. سمحت النتائج البكتريولوجية من الحليب بعزل وتحديد المكورات العنقودية السلبية المخثرة. يشير مؤشر النظافة إلى حالة نظيفة عن وجود التهاب الضرع تحت الإكلينيكي في بقرة حلوب. هذا يدل على teepol نسبيًا للمباني والحيوانات ويكشف اختبار أن إجراء الحلب والحالة الصحية للمباني هي على الأرجح سبب التهابات الثدي غير المرئية. إن التدريب الكافي للمربين على طرق الكشف المبكر عن التهاب الضرع وتدابير النظافة التي يجب اتباعها في إدارة أبقار الألبان سيقبل بشكل كبير من حدوث التهاب الضرع والخسائر المالية الناتجة عنه

الكلمات المفتاحية: بقرة حلوب ، التهاب الضرع ، دراسة ميكروبيولوجية ، إجراءات النظافة

Summary

As milk is a staple food, it must meet quality requirements for the consumer and for the dairy industry. To achieve these objectives, breeders must control and prevent mastitis especially, sub-clinical, which represents a very high infection rate. For this, the objective of this study is to detect mastitis early, by isolating and characterizing pathogenic germs in dairy cattle from the experimental farm, from the Abdelhamid IBN BADIS University in Mostaganem. Bacteriological results from the milk allowed the isolation and identification of a coagulase negative staphylococcus. The cleanliness index indicates a relatively clean condition of the premises and the animals and the teepol test reveals the presence of subclinical mastitis in a dairy cow. This shows that the conduct of milking and the hygienic condition of the premises are probably the cause of the invisible breast infections. Adequate training of breeders on the methods of early detection of mastitis and on the hygiene measures to be followed in the management of dairy cows will significantly reduce the occurrence of mastitis and the resulting financial losses.

Keywords: Dairy cow; mastitis ; microbiological study; pathogenic germs; hygiene measures.

Sommaire

Liste des tableaux	6
Liste des figures.....	7
Liste des annexes.....	8
Introduction.....	9
Première Partie : Etude Bibliographique.....	12
Chapitre I : Généralités sur les bovins.....	13
Chapitre II : Infections mammaires chez les bovins.....	16
Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires.....	21
Chapitre IV : Recherche bactériologique.....	30
Chapitre V : Diagnostic des infections mammaires.....	34
Chapitre VI: Etude bactériologique.....	40
Deuxieme Partie : Recherche Expérimentale.....	46
Chapitre I : Matériel et méthodes.....	47
Chapitre II : Résultats.....	56
Chapitre III : Discussion.....	65
Conclusion.....	67
Annexes.....	69
Références Bibliographiques.....	74
Table des matières.....	81

Liste des tableaux

Titre	Page
Tableau 1 : Situations épidémiologiques types. Localisation des principales bactéries responsables de mammite au sein de la mamelle.	27
Tableau 2 : Résultat de bactériologie sur le lait de mammite de différentes études	29
Tableau 3 : Caractérisation épidémiologique du modèle contagieux et du modèle environnemental	32
Tableau 4 : Caractérisation épidémiologique des sous modèles à Staphylocoques ou à Streptocoques	33
Tableau 5 : Caractérisation épidémiologique des sous modèles environnementaux à entérobactéries ou à streptocoques	33
Tableau 6 : Germes pathogènes responsables des mammites	41
Tableau 7 : Propreté et hygiène, la ferme d'Hassi-Mamèche	57
Tableau 8 : Résultats des analyses bactériologiques pour les échantillons (E1).	59
Tableau 9 : Résultats des analyses bactériologiques pour les échantillons (E2).	59
Tableau 10 : Résultats des analyses bactériologiques pour les échantillons (E3).	60

Liste des figures

Titre	Page
Figure n° 01 : Indice de propreté des vaches	36
Figure n° 02 : Plateau de Leucocytost –CMT TEST-	37
Figure n°03:Vue par satellite montrant la situation de la ferme expérimentale et du laboratoire LSTPA.	48
Figure n°04: Technique de CMT et la réaction entre le réactif et le lait prélevé des 4 quartiers	51
Figure n° 05 : Technique et les étapes de prélèvement de lait	52
Figure n° 06 : Echantillons prélevés des trois vaches de la ferme	52
Figure n°07 : Technique montrant un étalement en surface et en profondeur	53
Figure n° 08 : Etat de propreté de la vache 1	57
Figure n°9 : Etat de propreté de la vache 2	58
Figure n°10: Etat de propreté de la vache 3	58
Figure n°11 : Résultats négatifs sur le milieu Rothe bouillon.	60
Figure n°12 : Résultats négatifs sur le milieu Mac Conckey	61
Figure n° 13 : Résultat sur le milieu Chapman	61
Figure n° 14 : Coloration de Gram par gr x100 d'échantillon 1	62
Figure n°15 : Coloration de Gram par gr x100 d'échantillon 3	62
Figure n°16 : Test de Catalase	63
Figure n° 17: Test d'hémolyse	63
Figure n° 18 : Echantillon 1 : hémolyse β (bêta).	63
Figure n° 19 : Echantillon 3 : hémolyse α (alpha).	64
Figure n° 20 : Test de Coagulase.	64

Liste des annexes

Titre	Page
Annexe A : Milieux préparés pour les analyses bactériologiques	70
Annexe B : Caractères microbiologiques des germes responsables des mammites chez les bovins.	72
Annexe C: Tableau récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite.	73

Introduction

L'augmentation du niveau de la production laitière et l'amélioration de la qualité hygiénique du lait produit sont, entre autres, de grands défis auxquels sont confrontés les élevages bovins laitiers. Ces défis ne sauraient être relevés sans de meilleures connaissances des agents étiologiques impliqués dans les mammites, mais aussi par l'élaboration des stratégies adéquates de lutte et de prévention. En effet, la mammite est une des maladies qui causent beaucoup de pertes économiques dans les élevages à travers le monde, non seulement liées à la baisse de la production du lait et aux coûts des traitements des animaux malades, mais aussi aux pénalités dues à une élévation du nombre des cellules somatiques, voire même à l'élimination des vaches incurables dans les cas les plus extrêmes. Cette notion de pertes économiques est cependant difficile à objectiver dans les conditions actuelles d'élevage en Algérie.

De nos jours, les principales bactéries impliquées dans l'infection de la glande mammaire ont été répertoriées dans les pays développés. Dans ces différents pays, plusieurs études ont été consacrées à cette maladie, telle que l'évaluation du coût de la maladie, la caractérisation génétique des souches responsables de l'infection, la définition des différents modèles épidémiologiques de la maladie, ou encore l'évaluation de l'efficacité des programmes de contrôle mis en place. Si ces notions sont déjà connues et en perpétuelle actualisation dans ces pays, il n'en est pas de même dans certains pays en voie de développement comme l'Algérie, où les études qui ont porté sur les mammites sont encore à un stade embryonnaire, car elles se limitent essentiellement à la reconnaissance des différents agents étiologiques de la maladie.

La détermination exacte de l'identité des bactéries responsables de la mammite est tout aussi primordiale qu'importante dans l'orientation du choix thérapeutique, tout comme dans le contrôle de l'infection dans un élevage d'autant plus qu'il n'y a pas une bonne corrélation entre les signes cliniques et la nature du germe impliqué (Bradley *et al.*, 2000). La culture bactériologique des échantillons de lait est une méthode largement utilisée par de nombreux laboratoires pour l'identification bactériologique. Elle se révèle être une technique relativement lente, car il faut attendre 48 à 72 h avant d'obtenir les résultats (Hogan *et al.*, 1999). Dans une étude regroupant une quarantaine de laboratoire, le pourcentage de bactéries responsables de mammites correctement identifiées par la culture bactériologique varie entre 63% et 91% (Abdoulkarim, 2014).

Problématique : Est-ce que l'état de salubrité des fermes laitières peut avoir une influence sur l'apparition des mammites ?

Pour atteindre l'objectif visé par notre recherche soit l'isolement et la caractérisation des bactéries responsables des mammites chez les bovins nous avons réparti notre travail en deux parties :

Dans la première partie, c'est une étude bibliographique concernant quelques généralités sur les bovins et les mammites bovines, la définition, la classification et les origines.

Dans la deuxième partie, nous avons cité les méthodes des analyses microbiologiques des mammites, et on a discuté les résultats obtenus.

Première Partie :
Etude Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les bovins

Chapitre I : Généralités sur les bovins

1. Races bovines en Algérie

1.1. Races exploitées

En Algérie, la composition du troupeau a fortement changé avec l'introduction, depuis 1970, des races Pie-Noire, Pie-Rouge et Tarentaise. Les croisements, souvent, anarchiques, et l'insémination artificielle à base de semences importées ont fortement réduit le sang de races locales qui ne subsistent en mélange que dans les régions marginales (montagnes, élevage bovin en extensif). Le cheptel bovin est constitué principalement de trois races : les races locales, les races hautes productrices et les races améliorées ou mixtes (Bendiab, 2012 ; Guerra, 2008 ; Rechidi-Sidhoum *et al.*, 2014).

1.1.1. Races locales

Les races locales représentées par la brune de l'Atlas, se trouvent dans les zones montagneuses et le nord de l'Algérie. Comparativement aux races importées, les races locales sont caractérisées par l'adaptation aux conditions difficiles du milieu. En effet, elles sont adaptées à la marche en terrains difficiles, aux variations des régimes alimentaires, à la résistance, à la sous-alimentation et aux maladies (Yakhlef, 1989).

On trouve encore ces vaches de race pure réparties en quatre rameaux principaux : la chélifienne, la Sétifienne, la Guelmoise et la Cheurfa.

1.1.2. Races hautes productrices

A partir des années 1970, et dans le souci d'améliorer la production de lait, l'Algérie, a importé de nombreuses génisses de races réputées pour leur productivité. Parmi celles-ci, la Pie-noire-Prim'Holstein, la Pie-rouge de l'Est et la Pie rouge Montbéliarde, originaire du nord de l'Europe et en effectif plus réduit, la Fleckvieh originaire de Suisse et enfin la tarentaise, une race peut-être issue de vaches africaines qui s'est répandue en France, particulièrement adaptée au climat de montagne (Guerra, 2008).

1.1.3. Races améliorées ou mixtes

Les races améliorées ou mixtes sont issues de multiples croisements entre les races locales et les différentes races importées pour l'amélioration de la production (Guerra, 2008).

2. Alimentation (nature, quantité et qualité)

L'alimentation de la vache laitière en Algérie est différente d'un type d'élevage à un autre et même d'une exploitation à une autre selon la nature des ressources alimentaires disponibles,

Chapitre I : Généralités sur les bovins

selon la région, et aussi selon la saison. En effet, on distingue deux périodes qui déterminent le régime alimentaire pour les vaches laitières.

La Période de stabulation durant l'hiver où les animaux reçoivent la paille de céréales, le foin de prairie ou d'avoine comme ration de base. Les quantités distribuées sont variables d'une exploitation à l'autre et plus importantes par rapport aux autres saisons.

En plus du fourrage grossier, les vaches reçoivent des quantités de concentré à l'étable comme complémentation tout le long de l'année. Les quantités distribuées de concentré sont variables en fonction de la saison et selon l'exploitation. En effet, elles sont en moyenne de 2,17 kg / vache / jour avec un maximum de 12 kg / vache / jour.

Les concentrés utilisés sont soit simples (blé), soit composés essentiellement de blé, d'orge, de soja et de maïs avec ou sans consommation de matière verte.

La période de pâturage des prairies et des jachères au printemps, des chaumes en été et des repousses d'herbes en automne, s'étalent du mois de mars jusqu'à septembre en général. Les vaches reçoivent des quantités très faibles de fourrage grossier ou ne reçoivent plus auprès de quelques unités. Le concentré est distribué à l'étable comme aliment complémentaire (Nadjraoui, 2001).

Chapitre II :
Infections mammaires
chez les bovins

Chapitre II : Infections mammaires chez les bovins

1. Différents types de mammites

1.1. Définition

La mammite est une inflammation de la mamelle dont l'origine la plus fréquente est la pénétration de bactéries dans un quartier par le canal du trayon. Chez la vache, la mammite se manifeste par une modification non clinique de la sécrétion lactée (diminution de production et augmentation du nombre de cellules somatiques sans aucun signe clinique); une modification de la sécrétion suivie de signes cliniques fonctionnels (grumeaux, sang ou caillots sanguins, pus dans le lait), de signes cliniques locaux (gonflement, chaleur, douleur, rougeur) et de signes cliniques généraux (température plus ou moins élevée, avec ou sans appétit et, quelquefois, en décubitus, un état de choc). L'infection mammaire peut prendre diverses formes suivant qu'elle soit associée ou non à des signes cliniques : on distingue les mammites cliniques associées à des symptômes inflammatoires et des infections subcliniques (Durel *et al.*, 2004).

2. Mammites cliniques

Les mammites cliniques se caractérisent par la présence des signes cliniques fonctionnels et locaux, voire généraux. Les signes cliniques fonctionnels se traduisent par une modification de la sécrétion de la glande mammaire matérialisée par un changement de l'aspect du lait (grumeaux, sang ou caillots sanguins, pus dans le lait) et de la composition du lait. Les signes locaux sont ceux observés lors d'un processus inflammatoire classique à savoir : rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur du quartier atteint.

2.1. Mammites suraiguës

Les mammites suraiguës se caractérisent par la rapidité de leur apparition et de leur évolution, souvent mortelles en l'absence de traitement. Elles peuvent revêtir deux formes chez les bovins, la forme paraplégique et la forme gangréneuse. La forme paraplégique est associée le plus souvent aux coliformes. Elle est caractérisée par une agalaxie brutale, une toxémie, une hyperthermie, une hypocalcémie, de la tachycardie, de l'anorexie, l'atonie du rumen et de la diarrhée. Le quartier atteint est chaud, enflé et douloureux. Le lait peut être blanc avec une consistance aqueuse ou devenir jaune et séreux avec des caillots observables à l'épreuve du bol à fond noir (Remy, 2010). Elles surviennent généralement quelques jours après le vêlage (Guerra, 2008). Le diagnostic nécropsique montre des lésions localisées au niveau des canaux et des alvéoles (Durel. L *et al.*, 2004). Deux formes de mammites suraiguës se distinguent les mammites colibacillaire et les mammites gangreneuses

Chapitre II : Infections mammaires chez les bovins

2.1.1. Mammites « colibacillaires »

Ce sont les mammites suraiguës les plus observées. La vache est soit debout mais choquée (hyperthermie, déshydratation, tachypnée, tachycardie avec parfois diarrhée plus ou moins aqueuse) soit en décubitus avec normothermie ou hypothermie, résultat de l'état de choc provoqué par les endotoxines bactériennes et une bactériémie. La mamelle ne présente pas toujours de signes locaux à part la modification de la sécrétion lactée, mais parfois cette dernière peut être retardée par rapport aux symptômes généraux. Dans certains cas, le quartier est flasque et mou et ne produit plus de lait. Ces mammites sont dites « colibacillaires » car souvent causées par une infection à entérobactéries (Remy, 2010).

2.1.2. Mammites « gangreneuses »

Sont relativement rares, souvent fatales pour les animaux atteints. Certains auteurs décrivent la mastectomie comme traitement de choix dans les mammites gangréneuses chez les ruminants, *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), *Clostridium perfringens* et *Escherichia coli* sont les bactéries prédominantes responsables de mammites gangréneuses chez les ruminants (Remy, 2010).

2.2. Mammites aiguës

Ce sont les mammites courantes, l'inflammation du quartier atteint est évidente (rougeur, gonflement, douleur, chaleur) et la production laitière est affectée tant dans la qualité que dans la quantité, alors que l'état général de l'animal n'est pas ou peu altéré. Cette symptomatologie n'est pas spécifique à une espèce bactérienne particulière et peut apparaître à tous les stades de la lactation. On rencontre toutes les espèces bactériennes responsables d'infections mammaires lors d'isolement (Remy, 2010).

2.3. Mammites chroniques

Elles sont secondaires à une mammitte aiguë. La mamelle est modérément enflammée et évolue vers la fibrose. Elle devient atrophique et présente des zones d'induration à la palpation. L'évolution est lente vers un tarissement du quartier. Dans certains cas le quartier reste inflammatoire, dur et chaud avec peu ou pas de sécrétion lactée. Cette dernière présente souvent deux phases : une plus ou moins aqueuse et l'autre, du pus en amas obstruant le canal du trayon. Le quartier n'est alors plus qu'un vaste abcès. La perte du quartier est inévitable. Tous les germes responsables de mammites peuvent être rencontrés avec une prédominance des Gram positifs (Remy, 2010).

Chapitre II : Infections mammaires chez les bovins

3. Mammmites subcliniques

Les mammmites subcliniques sont insidieuses et caractérisées par une absence de signes cliniques. L'inflammation due à l'infection s'accompagne essentiellement d'un afflux de cellules somatiques dans le lait du quartier infecté, particulièrement les polynucléaires neutrophiles, et par une modification de la composition chimique du lait (baisse des taux de caséine et de lactose, augmentation des taux d'électrolytes). Le diagnostic des mammmites subcliniques repose sur la numération des cellules somatiques du lait, la mise en évidence des modifications chimiques et la recherche de la bactérie en cause. L'augmentation des cellules somatiques peut être révélée par des méthodes de comptage, comme le California Mastitis Test (CMT), le Fossomatic[®], le Coulter Conter[®] la conductivité électrique. Lors de mammite subclinique, les bactéries peuvent persister dans le pis et l'infection devenir chronique suite à l'expression de certaines propriétés. Par exemple, la formation d'un bio-film, la survie à l'intérieur des cellules épithéliales mammaires et/ou l'absence de synthèse d'une capsule sont considérées comme trois propriétés impliquées dans la chronicité d'une infection à *S. aureus* elles sont beaucoup plus fréquentes que les infections cliniques, plus insidieuses car difficilement détectables (Bousquet *et al.*, 2005).

4. Importances des mammmites bovines

4.1. Importance médicale

Les mammmites suraiguës peuvent causer la perte de l'animal ou tout du moins du quartier atteint. Les mammmites subcliniques sont souvent difficilement curables et entraînent la réforme de l'animal et son abattage précoce. Les mammmites aiguës et suraiguës altérant l'état général de l'animal, peuvent intervenir comme facteurs prédisposant à d'autres maladies de la vache laitière, comme les déplacements de caillette, des arthrites ou des endocardies secondaires au passage du germe dans la voie sanguine (Rechidi-Sidhoum, 2018). . D'autre part, les vaches atteintes de mammite même modérée, présentent des modifications de posture et une hyperalgie durable (de quelques jours à quelques semaines) (Remy, 2010).

4.2. Importance sanitaire

Le lait de mammite clinique n'est pas commercialisé mais celui des infections subcliniques peut entrer dans la production de fromage (Dahou, 2017), et autres produits laitiers La contamination de ceux-ci par certains germes (*Brucella bovis*, *Mycobacterium bovis* ; *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella*) peut être responsable de toxi-infections alimentaires en l'absence de pasteurisation (Rechidi-Sidhoum, 2019).

Chapitre II : Infections mammaires chez les bovins

4.3. Importance économique en Algérie

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. Toutefois, il est utile et nécessaire, pour la compréhension de la problématique de l'élevage laitier de cerner les atouts et les contraintes de l'élevage bovin laitier ainsi que les solutions possibles. Ainsi, parmi les principales maladies en élevage bovin laitier, les infections mammaires sont la principale cause, loin devant la reproduction, de pertes économiques pour des raisons sanitaires telles que, le lait non produit ou non commercialisé, le paiement du lait pour qualité cellulaire insuffisante, la réforme des vaches non soignables et le coût des traitements et temps passé à les exécuter (Yakhlef, 2010).

Chapitre III :
Epidémiologie des
infections mammaires

Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires

1. Pénétration des bactéries dans la mamelle

A part le cas particulier des mammites tuberculeuses et brucelliques d'origine hématogène, les germes pathogènes pénètrent généralement dans le quartier par le canal du trayon. Celui-ci constitue une première barrière contre la colonisation de la mamelle : le sphincter à la base du canal assure l'étanchéité entre la mamelle et le milieu extérieur. Les cellules kératinisées de la muqueuse se desquament régulièrement, participant à l'élimination des germes en début de traite. Ainsi la pénétration des germes se réalise au moment où le sphincter est ouvert, durant la traite et surtout en fin de traite (le sphincter reste ouvert environ une demi-heure après la traite), mais aussi à l'approche du vêlage, ou au tarissement où le sphincter laisse suinter voire couler un peu de lait par la pression de celui-ci. La pénétration des bactéries se produit suivant trois possibilités, au cours de la traite :

1.1. Par le phénomène de traite humide ou Reverse Flow

C'est le retour du lait qui vient d'être traité vers le trayon en raison d'un mauvais réglage des phases de massage de la machine à traire. Ces germes profitent de l'ouverture du trayon en post-traite pour pénétrer le canal. Les lésions du trayon et du sphincter (verruge, gerçure, blessure, éversion du sphincter) favorisant la multiplication des germes. Un contact précoce entre le trayon et l'environnement (pâturage, litière, etc.) est aussi un facteur prédisposant l'infection du canal par des pathogènes après la traite (Labbé, 2007).

1.2. Par l'introduction de germes par l'être humain

Que ce soit par l'éleveur ou le vétérinaire, l'introduction dans le sinus lactifère de germes est réalisée par la mise en place de traitement intra-mammaire ou de sondage du canal du trayon de manière non adéquate (défaut d'hygiène). Après cette étape, les bactéries se retrouvent dans le lait intra-mammaire. C'est le site infectieux obligatoire pour tous les types de mammites (Labbé, 2007).

2. Infection du quartier mammaire

Lors de chaque traite, une évacuation du lait contribue à l'élimination des bactéries qui ont pu pénétrer le quartier. Le lait joue un rôle de véhicule et de milieu nutritif pour les germes. Ceux-ci peuvent entre chaque traite envahir l'ensemble des canaux galactaphores. Les bactéries qui ont la capacité d'adhérer à la surface des épithéliums, ne seront pas chassées par la traite. Cette propriété est probablement une condition nécessaire pour la colonisation de la mamelle de manière plus profonde et sa persistance dans le quartier. Il est possible que

Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires

certaines germes aient une capacité de croissance telle qu'il ne soit pas nécessaire pour eux d'avoir des facteurs d'adhésion pour produire tout de même une infection. La multiplication bactérienne engendre la production d'enzymes, de toxines qui sont responsables des lésions du tissu sécrétoire et de la modification qualitative du lait produit. Les défenses immunitaires se mettent en place plus ou moins rapidement suivant l'animal et la nature de l'infection. Une mamelle saine ne renferme que peu de cellules immunitaires. Ce sont surtout des macrophages. Lors d'infection, la lésion des tissus mammaires provoque l'afflux de polynucléaires neutrophiles sanguins par diapédèse. Ils deviennent l'espèce cellulaire majoritaire dans le lait. Ce sont eux qui provoquent l'augmentation des taux cellulaires constatée dans le lait de mammite avec l'augmentation des cellules épithéliales desquamées, des lymphocytes et des macrophages. L'afflux massif des polynucléaires est responsable de l'apparition de caillots de fibrine et des grumeaux dans le lait de mammite. La mamelle possède entre autre, une auto-défense par la sécrétion de lacto-ferrines, le lysozyme, et le système lacto-péroxydase-thiocyanate-péroxydase dans le lait, qui limite la fixation des agents pathogènes sur les cellules épithéliales et leur multiplication (Taponen *et al.*, 2006).

3. Guérison ou persistance de l'infection

Suivant les pouvoirs pathogènes de la bactérie et l'efficacité des défenses immunitaires, l'infection mammaire peut évoluer vers une guérison spontanée ou vers l'extension dans le cas de mammite clinique. Certaines bactéries, après adhésion à la surface des cellules épithéliales, peuvent y pénétrer et s'y multiplier. Cette localisation intra-cellulaire est associée à des infections de type chroniques et récurrentes (Bosque *et al.*, 2005). Certaines souches de *Staphylococcus aureus* en pénétrant dans les cellules épithéliales, sont capables de provoquer une apoptose (phénomène sous contrôle normalement hormonal qui se produit en fin de lactation, occasionnant une réduction de la production laitière) (Lafont *et al.*, 2002), ont montré que lors d'infection expérimentale par *Staphylococcus aureus*, la production lactée chute de manière significative par rapport à des vaches saines. D'autres souches de staphylocoques sont connus pour résister à la bactéricidie des lysosomes, des macrophages et des polynucléaires et peuvent même s'y multiplier. L'action des adhésines, exotoxines, invasines des bactéries associées au passage massif des polynucléaires, provoque la désorganisation des liaisons inter-cellulaires épithéliales et autorise la pénétration de l'agent pathogène dans le parenchyme mammaire, et peut même atteindre les voies lymphatiques,

Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires

sanguines et provoquer une septicémie. Lors de localisation dans le parenchyme, il se produit une augmentation du tissu inter-alvéolaire au détriment des alvéoles producteurs de lait (Bosquet *et al.*, 2005). Un tissu fibreux réactionnel et cicatriciel se met en place pour circonscrire le foyer infectieux. Le tissu croît avec l'ancienneté de l'infection, formant des nodules durs dans le quartier, qui sont palpables. La pénétration intra-cellulaire dans le parenchyme mammaire est signe de chronicité. L'apparition de fibrose détermine une incurabilité de l'infection, l'agent est quasi intouchable dans les micros abcès du parenchyme. Lorsqu'un équilibre s'établit entre multiplication et persistance du germe et les défenses de la mamelle, on observe des mammites subcliniques sans symptôme. Dès que cet équilibre est rompu, l'expression clinique reprend. L'évolution clinique d'une mammite dépend de la nature des bactéries en cause et du statut immunitaire du bovin.

4. Étiologie des mammites bovines

La grande majorité des mammites bovines est d'origine infectieuse (Durel *et al.*, 2004). Il existe cependant quelques rares cas de mammites traumatiques, chimiques ou physiques. L'infection de la mamelle se fait par voie exogène principalement, la voie endogène est décrite notamment pour les mycoplasmes mais est rare (Le Grand *et al.*, 2004). On classe les espèces bactériennes responsables d'infections mammaires en deux groupes.

5. Bactéries mammopathogènes

5.1. Pathogènes majeures

Les bactéries responsables de mammites peuvent être distinguées en deux groupes. Le premier groupe est constitué par des bactéries qui vivent sur la vache et se transmettent d'animal à animal ou d'un quartier à un autre à l'occasion du processus de la traite. Ces bactéries sont à l'origine de l'apparition dans les élevages laitiers de mammites contagieuses. Les bactéries responsables de mammites contagieuses regroupent classiquement *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma bovis* et *Mycoplasma spp*, (Bidaud *et al.*, 2007), et à cela s'ajoutent les staphylocoques coagulase négative (SCN). Le deuxième groupe des bactéries responsables de mammites est constitué des germes qui vivent dans l'environnement de la vache. Ces germes contaminent directement la mamelle entre les traites (lors du couchage) par simple contact avec la litière qui est une source majeure de contamination favorable à la multiplication des germes dans le cas où l'environnement des animaux est mal entretenu. Les principales bactéries responsables des mammites environnementales sont essentiellement représentées par *Streptococcus uberis*, *S. dysgalactiae*, *Enterococcus spp*, *Trueperella pyogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*,

Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires

Enterobacter spp, *Serratia spp* et *Pseudomonas spp*, (Bidaud *et al.*, 2007). A ces bactéries s'ajoutent également quelques champignons et levures.

5.1.1. *Escherichia coli*

C'est un bacille Gram négatif provenant des fèces des animaux et se développant dans la litière ou les aires de couchage (logettes), souillées par ceux-ci. Une étude de Wenz *et al.*, 2006, sur les facteurs de virulence d' *Escherichia coli*, a montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre les gènes de virulences (gène A codant par une protéine d'adhésion, les gènes CNF1 et CNF2 provoquant des dommages vasculaires et le gène CS31 A, commun à *Escherichia coli* retrouvé dans les entéropathies des veaux) et la gravité des symptômes de mammites. La sévérité des symptômes dépendrait plus de l'animal et de sa réaction immunitaire. Les facultés d'adhésion des colibacilles ne sont pas excellentes et ils ne sont pas retrouvés en position intracellulaire (Durel *et al.*, 2004). Toutefois, certaines souches sont capables d'envahir les cellules épithéliales (Schmitt *et al.*, 2007), et sont responsables de mammites chroniques. Ces souches pourraient être adaptées à l'environnement mammaire par opposition aux autres souches. Les infections à *Escherichia coli* sont possibles à tout moment de la lactation mais elles sont prédominantes dans les trois premières semaines de lactation (Durel *et al.*, 2004), (Remy, 2010). Après inoculation, le pic de croissance a lieu entre 5 et 16 heures, mais l'apparition des symptômes est plus tardive (Salat *et al.*, 2007).

5.1.2. *Staphylococcus*

Ce germe est présent partout à la surface de la peau et des muqueuses et en particulier au niveau des trayons (Schmitt-Van De Leemput, 2007). Toutes lésions de ces derniers, favorisent sa multiplication. *Staphylococcus aureus* est résistant dans le milieu extérieur. Il peut, s'il y a un défaut d'hygiène au moment de la traite ou un dysfonctionnement de la machine à traire, se retrouver dans les gobelets trayeurs (sur le caoutchouc et ses fissures et dans le lait résiduel restant dans les manchons après la traite). La contamination d'une vache à une autre, se réalise par ceux-ci, par les mains du trayeur ou des lavettes. Après pénétration dans le canal du trayon, il envahit les canaux galactophores et colonise rapidement les cellules épithéliales (dès 24 heures) (Salat *et al.*, 2007). Il se multiplie plutôt lentement, le pic étant entre 2 et 11 jours, suivant l'animal. La concentration en bactéries dans le lait est toujours faible. Puis il colonise le parenchyme mammaire assez rapidement. Il y est détectable dès 4 jours après inoculation (Remy, 2010). La réaction inflammatoire est lente et souvent modérée (Remy, 2010). Parfois, on observe des mammites aiguës avec forte inflammation du quartier

Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires

et destructions tissulaires irréversibles, conduisant à la perte du quartier et parfois de l'animal, mais le plus souvent l'évolution est chronique ou plus fréquemment subclinique. Il y a alors formation de micro-abcès dans le parenchyme mammaire qui protègent la bactérie des défenses immunitaires et des traitements antibiotiques (Eicher *et al.*, 2003). Certaines souches sont capables de résister à la phagocytose des macrophages et restent à l'intérieur des lysosomes. Elles forment de petites colonies à faible croissance mais persistantes et pouvant se démultiplier (Durel *et al.*, 2004). La réaction inflammatoire dans ces deux derniers cas est très discrète voire indétectable. Il s'établit une sorte d'équilibre entre la bactérie et son hôte. Lors de remultiplication de *Staphylococcus aureus*, de nouveaux épisodes cliniques peuvent apparaître mais souvent ils sont asymptomatiques, seuls les taux cellulaires augmentent. *Staphylococcus aureus* est un germe contagieux, seules très peu de souches sont présents dans un élevage. Il évolue de manière oligoclonale.

5.1.3. *Streptococcus*

Ce germe est responsable en général de mammite clinique plutôt en début de lactation et au moment du tarissement. Il est présent comme *Escherichia coli*, dans la litière souillée par les fèces des animaux, mais aussi sur la peau et les muqueuses ainsi que les trayons et leurs lésions, et le matériel de traite où il peut persister (Durel *et al.*, 2004 ; Wenz *et al.*, 2006). Les *Streptococcus uberis* colonisent les voies galactophores puis, sans traitement adéquat à ce stade, sont capables par des adhésions de se fixer sur les cellules épithéliales, évitant d'être évacués par la chasse lactée lors de la traite (Durel *et al.*, 2004). Ils produisent une hyaluronidase qui pourrait être responsable de la désorganisation des barrières tissulaires (Serieys, 2007), favorisant leur passage dans le parenchyme (Bosquet *et al.*, 2005), précisent qu'ils sont détectables dans le parenchyme dès 6 jours après l'infection. A ce stade le quartier atteint peut devenir un réservoir mammaire de germes, et on observe un passage à la chronicité. En général, de très nombreuses souches sont retrouvées (caractère poly-clonal) dans un élevage mais il est possible lorsque la bactérie évolue sous le type contagieux, qu'un nombre réduit de souches soit responsable des mammites de l'exploitation (caractère oligoclonal). Les mammites à *Streptococcus uberis* sont en général aiguës avec inflammation du quartier, hyperthermie et caillots dans le lait. Lors de passage à la chronicité, où avec certaines souches, la réaction inflammatoire est beaucoup plus modérée, sans hyperthermie, mais elle est généralement supérieure à celle rencontrée lors de mammite subclinique à *Staphylococcus aureus*. Le tableau 1 résume les localisations préférentielles de ces trois pathogènes majeurs.

Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires

Tableau1 : Situations épidémiologiques types. Localisation des principales bactéries responsables de mammites au sein de la mamelle (Faroult *et al.*, 2002 ; Lepage, 2006).

	Lait	Phagocytes	Cellules épithéliales	Parenchyme sans fibrose	Parenchyme avec fibrose	Sang
<i>Escherichia coli</i>	+	-	+ Si infection chronique avec souche spécifique excrétion dans le lait intermittente	-	-	+ Si bactériémie précoce en cas de mammite aiguë
<i>Streptococcus</i>	+	-	+ Certaines souches d'infection chronique	+ <i>Streptococcus uberis</i> précocement	+ Sur <i>Streptococcus uberis</i> et mammite ancienne ou récidive	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+ Dans certains cas	+	+ Précocement	+ Sur ancienne infection ou vache âgée	-

5.2. Pathogènes mineurs

Ne sont normalement qu'exceptionnellement responsables de mammites cliniques mais plutôt responsables d'infections subcliniques. Ce sont surtout les *Staphylococcus* coagulase négatifs (SCN) (*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus haemolyticus*.) (Bravard *et al.*, 2006; Ben Hassen *et al.*, 2003). Longtemps considéré comme pathogènes mineurs comme décrit dans cette classification traditionnelle, ils sont devenus des pathogènes majeurs responsables de mammites cliniques et chroniques (Taponen, 2007) avec de fortes inflammations du quartier ainsi que des mammites subcliniques. Ils représentent 14 % des isolats de l'étude précédemment citée, et seraient responsables de 20 % des mammites bovines en France (Bosquet *et al.*, 2005). Les staphylocoques coagulase négatifs sont des germes de la flore cutanée normale. La source d'infection est en général un défaut d'hygiène au moment de la traite, où ils colonisent le canal du trayon à la faveur d'une blessure.

Les résultats de bactériologie des différentes études de terrain sur l'étiologie des mammites bovines obtenus à Mayenne (France) (Schmitt-Van De Leemput. E. 2007) ou à Gavray (France), montrent la prédominance des *Staphylococcus* coagulase négatif, *Streptococcus*

Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires

uberis, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Streptococcus dysgalactiae* et *agalactiae*.

Dans une autre étude des analyses bactériologiques réalisées à l'Ecole Nationale de Santé Publique (ENSP) de Niamey, Niger par rapport à la station de Toukounous. Tous les échantillons de lait des quartiers positifs au CMT de 104 vaches, soit 112 échantillons au total, sont positifs. Au terme des analyses bactériologiques, 55 souches bactériennes ont été identifiées dont la moitié (51%) appartiennent au genre *Staphylococcus*, avec 42% de *S. aureus* et 9% de staphylocoques à coagulase négative. Les autres bactéries isolées ont été identifiées au genre *Enterococcus* (13%), à la famille des *Enterobacteriaceae* (25%), au genre *Acinetobacter* (2%) et, enfin, au genre *Bacillus* (9%). En 2009, la répartition des bactéries selon les trois troupeaux révèle que la majorité des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* a été isolée du troupeau des primipares et que la majorité des *S. aureus* (21/23) l'a été des troupeaux des multipares. On retiendra alors une forte fréquence des bactéries contagieuses, particulièrement *S. aureus* (41,8%) par rapport aux bactéries de l'environnement à la station de Toukounous (Abdoulkarim, 2014).

Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires

Tableau 2 : Résultats de bactériologie sur le lait de mammite de différentes études

	Etude en Mayenne	Etude à Gavray	Etude française	Etude anglaise	Etude Nigérienne
<i>Staphylococcus coagulase négatif</i>	8%	32%	14,5%	17,8%	9%
<i>Staphylococcus aureus</i>	20%	16%	13,3%	13,9%	42%
<i>Streptococcus uberis</i>	35%	24%	25,4%	29%	-
<i>Strptococcus agalactiae</i>	7%	0	-	-	-
<i>Streptococcus dsygalactiae</i>	7%	0	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	23%	19%	17,6%	18%	-
<i>Klebsiella ssp</i>	-	0,04%	5%	-	-

Cette répartition statistique des bactéries isolées lors d'un examen bactériologique varie au cours du cycle de production. En effet les infections par *Escherichia coli* sont plus fréquentes en début de lactation, celles à *Staphylococcus aureus* se localisent surtout en début et fin de lactation et celles à *Streptococcus uberis* sont plutôt prédominantes, au tarissement au début de lactation (Houffschmit, 2004).

L'identification du modèle épidémiologique auquel il est possible de rattacher la situation de l'élevage étudiée permet de cibler les mesures préventives et curatives de l'infection (Bosquet, 2004), (Bosquet *et al.*, 2005). On distingue un modèle épidémiologique environnemental, un modèle contagieux et un modèle d'association.

Chapitre IV :
Recherche
bactériologique

Chapitre IV : Recherche bactériologique

1. Modèle environnemental

Dans ce modèle épidémiologique, les agents pathogènes responsables d'infections mammaires, sont issus de l'environnement des bovins. La litière, l'aire de parcours, les aérosols en suspension dans le bâtiment et les bio-films sur les surfaces, sont tous des sources potentielles de bactéries pathogènes (Federici, 2004). Celles-ci sont issues du tube digestif des animaux qui contaminent leur environnement par l'intermédiaire de leurs bouses. On distingue dans ce modèle toutes les entérobactéries, la majorité des souches de *Streptococcus uberis* et les entérocoques (Houffschmitt, 2004). Un très grand nombre de souches de chaque espèce est présent dans chaque élevage (modèle multiclonal). Le plus souvent on observe des mammites de type clinique, d'aiguës à suraiguës, plutôt sporadique mais parfois lors de problèmes d'hygiène de litière, on peut voir une flambée des cas cliniques. La mammite « colibacillaire » à *Escherichia coli* correspond au prototype de la mammite d'environnement (Lafont *et al.*, 2002). L'infection se fait par voie ascendante à partir de la litière des vaches souillée par les excréments des animaux. La mamelle des vaches laitières hautes productrices est pour des raisons anatomo-physiologiques prédisposée à ce type d'infection entre les traites. Ce sont le plus souvent des mammites aiguës avec symptômes généraux importants.

2. Modèle contagieux

La source de pathogènes est alors dans la mamelle. L'infection est transmise de quartier à quartier par la traite. Les germes sont présents sur la peau des trayons à la faveur de lésions (gerçure, blessure, microlésion) ou dans le lait d'un quartier infecté. Le défaut d'hygiène lors de la traite ou un dysfonctionnement de la machine à traire est responsable de la contamination. En général, les mammites sont de nature subclinique avec quelques épisodes cliniques, non systématiques. Les bactéries responsables sont essentiellement les *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* et *dysgalactiae*, ainsi que certaines souches de *Streptococcus uberis*. Les *Staphylococcus* coagulase négatif peuvent aussi être classés dans ce modèle, bien que certains soient d'origine environnementale (Gehring, 2006). On n'observe dans ce modèle épidémiologique qu'un faible nombre de souches dominantes dans l'élevage en général, une ou deux souches (Bosquet *et al.*, 2005), le modèle contagieux est donc oligoclonal.

3. Modèle d'association

La différenciation entre les deux modèles n'est pas toujours aussi nette dans les élevages. Certains germes peuvent appartenir aux deux modèles, comme *Streptococcus uberis*. Les deux modèles peuvent coexister dans le même élevage. Par exemple, une contamination

Chapitre IV : Recherche bactériologique

environnementale par *Streptococcus uberis*, suivie d'une infection chronique d'un quartier mal soigné, transmission à d'autres bovins par la traite ou, la présence d'un germe de réservoir mammaire comme *Staphylococcus aureus*, occasionnent des mammites subcliniques sur certaines vaches cohabitant avec des germes d'environnement, engendrant des épisodes cliniques. Il n'est donc pas toujours évident de rattacher la situation épidémiologique d'un élevage à ces deux modèles. Mais, en général, on observe plutôt un modèle plutôt que l'autre, permettant ainsi de prescrire des propositions correctives adaptées. Ces modèles épidémiologiques ont été mis en place afin d'orienter le diagnostic sans la connaissance du germe. Ils se basent sur des critères peu précis et sur l'analyse des comptages cellulaires de tank et individuels (tableau 3 et 4) (Bosquet, 2004 ; Bosquet *et al.*, 2005). L'identification du modèle épidémiologique auquel il est possible de rattacher la situation de l'élevage reste un élément important pour le ciblage des traitements et des mesures préventives (Bosquet *et al.*, 2005). Cela évite un traitement des infections mammaires par des produits antibactériens large spectre de manière systématique. La détermination du modèle se réalise par étude des documents d'élevage (comptages cellulaires individuels et de tank, le nombre de mammites cliniques, les résultats d'examen bactériologiques) donnant le contexte épidémiologique dominant dans cet élevage (Berthelot, 2006).

Tableau 3 : Caractérisation épidémiologique du modèle contagieux et du modèle environnemental (Bosquet, 2004).

Critères	Modèle contagieux	Modèle environnemental
Comptage cellulaire	- CCST > 200 000 - moins de 85 % de CCSI < 300 000	CCST < 200 000 plus de 85 % de CCSI < 300 000
Incidence de cas cliniques	Faible à modérée (< 30 cas / 100 vl / an)	Modérée à élevée (> 30 cas / 100 vl / an)
Sévérité des cas cliniques	Plus faible	Plus forte
Facteurs de risques	- Traite favorisant la contagion - Défaut de trempage - Crevasses, lésions sur les trayons - Tarnissement mal conduit - Réforme insuffisante	- Stabulation longue - Logement défectueux - Défaut de lavage, essuyage des trayons - Défaut d'hygiène des traitements intramammaires

CCST : Comptage cellulaire somatique de tank

CCSI : Comptage cellulaire somatique individuel

VL : vaches laitières

Chapitre IV : Recherche bactériologique

Tableau 4 : Caractérisation épidémiologique des sous modèles à staphylocoques ou à streptocoque (Bosquet,2004).

Critères	Sous modèle à staphylocoques	Sous modèle à streptocoques
Séries de CCSI > 300 000	Longues >4 mois	Moyennes 3- 4 mois
Rechutes	Fréquentes	+/- fréquentes
CCSI avant mammite clinique	Élevés en moyenne	En augmentation
Indice de guérison au tarissement	Faible à modéré	Modéré à élevé
Sévérité des mammites cliniques	Faible à modérée	Modérée en moyenne
Quartier fibrosé après mammite	Fréquent	Rare
Facteurs de risques	Lésion du trayon, défaut de réforme	Perte de lait sur la litière, logement défectueux

Tableau 5 : Caractérisation épidémiologique des sous modèles environnementaux à entérobactéries ou à streptocoques (Bosquet, 2004).

Critères	Sous modèle à streptocoques	Sous modèle à entérobactéries
Séries de CCSI > 300 000	Moyennes 2-3 mois	Courtes 1 -2 mois
CCSI avant mammite clinique	En augmentation	Faibles
CCSI après mammite clinique	Élevés	Faibles
Sévérité des mammites cliniques	Modérée en moyenne	Modérée à forte
Rechutes	Peu à assez fréquentes	Rares
Facteurs de risques	Perte de lait sur la litière, hygiène des bâtiments	Défaut d'hygiène autour du vêlage

Chapitre V :
Diagnostic des
infections mammaires

Chapitre V : Diagnostic des infections mammaires

Le diagnostic clinique d'une mammite ne présente pas de difficulté lorsque l'on observe des symptômes. Le plus ardu est la détection aussi précoce que possible des premières modifications physiologiques lors d'infections mammaires, afin de mettre en œuvre rapidement un traitement.

1. Recherche bactériologique

1.1. Examen clinique de la mamelle

L'examen de la mamelle et de sa sécrétion est le moyen le plus simple et le plus évident du diagnostic de mammite. Il consiste, en premier lieu, en un examen visuel :

En observant la symétrie, le volume, la couleur (hématome, congestion) des différents quartiers les uns par rapport aux autres.

En observant ensuite les trayons (présence de verrue, d'anneau, d'hyper-kératose, d'éversion au niveau du sphincter). Puis vient la palpation de l'ensemble de la mamelle et du quartier atteint, des ganglions rétro mammaires. On constate ainsi, une inflammation (chaleur), un œdème, des indurations (zones de fibrose dans le quartier), une douleur, adénite et éventuellement des indurations dans le canal du trayon ou une pyodermite d'échauffement entre l'intérieur de la cuisse et la mamelle (Durel *et al.*, 2004 ; Lepage, 2003).

1.2. Indice de propreté

L'indice de propreté des bovins permet d'évaluer l'état de propreté des vaches dans leur milieu. La propreté des différentes parties du corps de l'animal est un indicateur de l'hygiène aussi bien des locaux que de la litière (figure n°1) (Durel, 2004).

Chapitre V : Diagnostic des infections mammaires



Figure n° 1 : Indice de propreté chez la vache laitière.

Etat : 1 propre ; 2 relativement propre; 3 souillé; 4 très souillé

1.3. Examen par le California Mastitis Test (C.M.T) ou Teepol

D'autres méthodes de diagnostic ont été développées afin d'améliorer la détection des infections par les éleveurs ou le praticien en complément de l'examen de la mamelle, comme dans notre cas on a utilisé le California Mastitis Test (C.M.T). Ce test est connu aussi sous le nom de Leucocyttest. Il est basé sur l'utilisation d'un détergent (le Teepol à 10 %) et d'un colorant (le pourpre de bromocrésol) sur le lait. Il est facile rapide a utilisé (figure n°2).

Le tensio-actif du détergent provoque la lyse des cellules présentes dans le lait par destruction des parois. L'ADN, ainsi libéré forme un réseau qui enrobe les globules gras et les autres particules du lait, formant un gel plus ou moins dense en fonction de la quantité d'ADN présent. L'indicateur coloré apporte comme dans le test précédent, une valeur de pH. Plus le nombre de cellules lysées est important, plus la quantité de contenu cellulaire présente dans le lait est élevée, et plus le pH augmente. L'action du détergent amplifie l'alcalinisation du lait mammaireux.

Chapitre V : Diagnostic des infections mammaires

Différentes études ont été menées (Lepage, 2003), montrant la corrélation entre les résultats du test et le comptage cellulaire. Celle-ci semble meilleure avec un fort taux cellulaire. Des résultats douteux ou négatifs doivent être pris avec précaution. Un comptage cellulaire faible ne signifie pas forcément l'absence d'une infection. La réaction inflammatoire peut être différée ou de faible intensité. D'autre part, ce test est soumis à la subjectivité de l'opérateur. Son utilisation régulière permet de mieux apprécier les variations de consistance et de couleur. Les coupelles doivent être parfaitement propres, leur contamination peut fausser le résultat. Comme pour le papier pH, la couleur n'est qu'indicatrice. Elle peut devenir violacée normale en phase colostrale et en fin de lactation. De même le colostrum est naturellement plus riche en cellules que le lait et peut induire en erreur, et aussi ce test est facilement utilisable en élevage. Il permet de détecter des vaches à taux cellulaires élevés. La répétition de l'examen sur des vaches douteuses améliore le diagnostic d'infections mammaires (Lepage,2003), Il peut être aussi utilisable en contrôle de guérison, afin de vérifier que les taux cellulaires reviennent à des valeurs normales en un à trois mois après l'infection. Ce test ne permet pas de déduire la nature du germe en cause. Il peut être aussi utile, pour repérer le quartier atteint à la différence du C.C.S.I (comptage cellulaire somatique individuel) qui évalue l'état de santé des quatre quartiers (Ferrouiller *et al.*, 2004).



Figure n° 2 : Plateau Leucocyttest , CMT test (photo personnel)

1.4. Papier indicateur de pH

C'est un papier buvard présentant 4 zones pour les 4 quartiers. Chaque zone est traitée avec deux indicateurs colorés : le bleu de bromothymol et la nitrazine. Le premier vire du jaune au bleu dans une plage de pH de 6 à 7,6, et le second du jaune au vert de 6,4 à 6,8. Ce test consiste à déposer un peu de lait sur chaque zone et d'attendre deux minutes. La coloration

Chapitre V : Diagnostic des infections mammaires

normale des zones, lorsqu'elles sont imbibées de lait issu d'une mamelle saine, est jaune verdâtre, ce qui correspond au pH du lait entre 6,5 et 6,7. Lorsqu'on approche d'un pH 7, observé en cas de mammite, la zone du buvard imprégnée de lait mammitieux, prendra une coloration de vert franc à vert bleuté. Cette indication est peu précise : on observe des variations physiologiques du pH du lait qui peuvent induire en erreur. Le colostrum est plus acide, et en fin de lactation le pH peut prendre des valeurs avoisinant le 7 (Durel, 2006).

1.5. Concentrations cellulaires somatiques du lait

Les concentrations cellulaires somatiques individuelles (CCSI) de tank (CCST), sont disponibles dans beaucoup d'élevages par le contrôle laitier. Les éleveurs non adhérents à cet organisme, peuvent aussi demander cet examen auprès de leurs laiteries. Pour les adhérents du contrôle laitier, une mesure mensuelle des CCSI et CCST fait partie du compte-rendu des résultats laitiers, avec les taux protéiques, les taux butyreux, la quantité de lait. Un technicien prélève un échantillon de lait sur chaque vache (lait des quatre quartiers mélangés), celui-ci est analysé par un laboratoire spécialisé. Il mesure la concentration en cellules du lait (macrophages, leucocytes, cellules épithéliales). En cas d'infection, comme on l'a vu précédemment, le nombre de cellules augmente en fonction de la nature de l'infection. Les laiteries donnent des valeurs seuils de CCSI, pour le paiement du lait, plus ou moins en rapport avec des valeurs pathologiques. Ainsi, en général, on considère l'absence d'infection mammaire en dessous de 300 000 cellules, et sa présence si les CCSI sont supérieurs à 800 000 cellules. Entre ces deux valeurs, on considère qu'il y a infection par un pathogène mineur ou mammite à expression subclinique (Bosquet *et al.*, 2005). En pratique, ces valeurs sont sur-évaluées pour ne pas léser le producteur laitier, le paiement du lait étant indexé au taux cellulaire du tank. Des animaux en dessous de 300 000 cellules, peuvent être infectés avec *Staphylococcus aureus*, et ceux entre 300 000 et 800 000 cellules, sont considérés comme douteux mais ne sont pas forcément infectés (retour après infection à des valeurs normales de CCSI par exemple : le comptage cellulaire étant réalisé sur le mélange des quatre quartiers, on observe une dilution du taux cellulaire du quartier infecté, par les quartiers sains. Ainsi, sur une vache à faible taux cellulaire hors infection, la contamination d'un quartier par certains germes ne provoquant que très peu d'inflammation, peut passer comme une variation de CCSI non pathologique. Il est donc important pour établir un diagnostic de suivre les variations de CCSI, établie sur plusieurs mois afin de conclure à une probable infection. Le comptage cellulaire de tank indique dans une certaine mesure, le type d'infection dans l'élevage : ainsi un CCST élevé et peu de ces cliniques, est en faveur d'un nombre élevé de vaches atteintes avec des CCSI moyennement élevés. L'origine est probablement un germe

Chapitre V : Diagnostic des infections mammaires

contagieux, et à l'opposé, un CCST faible et beaucoup de cas cliniques sont en faveur d'infections mammaires aiguës sporadiques, de courtes durées par des germes d'environnement. L'analyse des comptages cellulaires permet de classer les infections mammaires des élevages, en type environnemental ou contagieux (tableaux 1, 2 et 3). Ceci autorise une prédiction de la nature du germe en cause et d'adapter des protocoles de traitement et de prophylaxie à mettre en œuvre. Ce n'est pas un diagnostic de certitude mais une aide précieuse dans l'étude globale des infections mammaires dans l'élevage (tableaux 3, 4 et 5), plusieurs mois afin de conclure à une probable infection (Durel *et al.*, 2004).

1.6. Examen bactériologique

Cet examen permet un diagnostic de certitude de l'infection mammaire. Il consiste en la mise en culture du lait afin de déterminer la nature du germe responsable de l'infection. Le praticien peut prescrire cet examen en réalisant un prélèvement de lait et en l'adressant rapidement, sous régime du froid au laboratoire. On obtient un résultat entre 5 et 8 jours, ce qui permet sur plusieurs prélèvements, d'orienter la nature du germe, les mesures médicales et prophylactiques à mettre en œuvre, en autorisant un résultat entre 24 et 48 h, pour les germes majeurs d'infections mammaires (Durel *et al.*, 2004 ; Durel et Poutrel, 2006 ; Durel et Schmitt-Van De Leemput, 2007).

Chapitre VI:
Etude
bactériologique

Chapitre VI: Etude bactériologique

1. Etude de la flore pathogène

Les espèces bactériennes impliquées dans les infections mammaires de la vache sont présentes sur l'animal lui-même ou dans son environnement. Par ailleurs, les bactéries responsables de mammites sont toutes capables de se multiplier dans le lait qui est un milieu nutritif suffisamment riche pour assurer leur développement. Il est courant de distinguer deux types d'agents pathogènes pour la mamelle de la vache, les germes majeurs et les germes mineurs. Le Tableau 6 présente les germes majeurs, mineurs, environnementaux et contagieux impliqués dans la mammite clinique et sub-clinique.

Tableau 6 : Germes pathogènes responsables des mammites

(Descoteaux et Roy, 2004 ; Gabli, 2005).

Type de mammite	Germes majeurs	Germes mineurs	Germes environnementaux
Clinique	<i>Staphylococcus aureus*</i>	<i>Staphylocoques à coagulase négative</i>	<i>Escherichia coli</i>
	Streptocoque		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella hemolytica</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
	<i>Mycoplasma bovis</i>		
Sub- clinique	<i>Staphylococcus aureus*</i>	<i>staphylocoques à coagulase négative</i>	<i>Escherichia-coli</i>
	Streptocoque	<i>Corynébactérium bovis</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
	<i>Escherichia coli</i>		
	<i>Bacillus cereus</i>		

*Les germes en gras sont contagieux

2. Examen macroscopique

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées : les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées. La colonie peut apparaître à la surface du milieu de culture pour les germes aérobies, ou être en profondeur pour les germes anaérobies (Devos, 2007).

Chapitre VI: Etude bactériologique

2.1. Aspect des colonies

Taille :

Elle peut être mesurée à l'aide d'une règle graduée pour les grandes colonies. Il est possible aussi d'utiliser le microscope au grossissement le plus faible pour mesurer la taille des petites colonies en utilisant des micromètres oculaires.

Forme :

La forme des bactéries est basée sur, l'allure des contours (lisses, dentelés, déchiquetés, irréguliers), le relief (surface bombée, demi- bombée, plate) et le centre (parfois surélevé, parfois ombiliqué (en creux)).

Aspect de la surface

La surface d'une colonie bactérienne peut être lisse, rugueuse, renvoyer la lumière de façon à leur donner un reflet métallique ou un aspect irisé

Opacité

Les colonies sont décrites comme opaques (ne laissent pas passer la lumière), translucides (laissent passer la lumière mais on ne voit pas les formes au travers, comme le verre dépoli), ou bien transparentes (laissent passer la lumière et voir les formes au travers, comme le verre, on parle alors de gouttes de rosée).

2.2. Consistance

Au moment du prélèvement, il est possible d'apprécier si les colonies sont grasses, crémeuses (on obtient facilement des suspensions homogènes), sèches ou encore muqueuses (on obtient difficilement des suspensions homogènes).

2.3. Couleur ou pigment

Plusieurs colonies n'ont pas une couleur bien définie (blanc, gris). Par contre, certaines bactéries produisent un pigment insoluble qui donne un aspect bien caractéristique à la colonie (rose, jaune, rouge...), tandis que d'autres produisent un pigment soluble qui diffuse et colore le milieu.

Chapitre VI: Etude bactériologique

3. Examen microscopique

3.1. Coloration de Gram

Permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour distinguer et classer les bactéries. Son avantage est de donner une information rapide, facile sur les bactéries présentes dans un produit ou un milieu, tant sur le type que sur la forme.

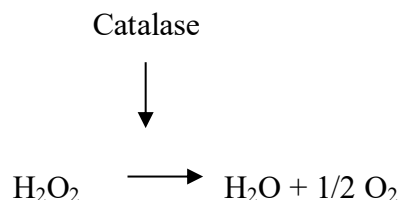
Ainsi, les scientifiques peuvent distinguer les bactéries à Gram positif on dit aussi « Gram positives » dotées d'une simple paroi avec une grande quantité de peptidoglycane, des bactéries à Gram négatif, composées de moins de peptidoglycane mais pourvues d'une membrane externe supplémentaire.

3.2. Aspect de la colonie

Dans ce cas on note la morphologie, les indications sur la taille qui peut être moyenne, petite ou de grande taille et le Gram. Les bactéries à Gram positif sont de couleur violette et ceux à Gram négatif sont de couleur rose. Le groupement est également étudié, soit en amas, chaînettes ainsi que la proportion de chaque type de bactéries (quand il y en a plusieurs...), il peut exister des situations intermédiaires en ce qui concerne la couleur des bactéries tels que le "Gram faible" pour les bactéries à Gram positif qui se décolorent très facilement et le "Gram variable" qui est présent dans une même souche de bactéries à Gram positif et de bactéries à Gram négatif, enfin, le "Gram hétérogène" ou l'on observe des différences d'intensité de coloration dans une même bactérie.

4. Recherche de la catalase

Pendant leur respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction (Gröhn *et al.*, 2004).



La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif, pratiquement toutes les bactéries à Gram négatif sont catalase positif (+).

L'identification des bactéries pathogènes est réalisée par des tests spécifiques selon la source.

Chapitre VI: Etude bactériologique

5. Test à l'hémolyse

Cette étape consiste à utiliser la gélose au sang frais la lecture de l'hémolyse est un critère d'orientation, en particulier pour les *Streptocoques*.

L'hémolyse se réfère à la répartition des érythrocytes ou globules rouges. En microbiologie, des bactéries peuvent être classées en fonction de leur capacité à induire une hémolyse sur un milieu de gélose au sang. Trois types d'hémolyse peuvent se produire et sont classés comme alpha, bêta et gamma hémolyse. Chaque type est caractérisé par les caractéristiques physiques et les différentiels des degrés variables de la lyse des cellules du sang du fait des hémolysines spécifiques, ou des produits chimiques qui provoquent une hémolyse, sécrétées par les bactéries particulières (Devos, 2007).

5.1. α -hémolyse

L'hémolyse alpha présente un changement de couleur dans la gélose d'abord rouge à une couleur verte très foncé. Ceci résulte de l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine par le peroxyde d'hydrogène sécrété par les bactéries. En outre, α -hémolyse n'entraîne pas de lyse complète des cellules sanguines et est donc souvent appelé hémolyse partielle ou incomplète.

5.2. β - hémolyse

L'hémolyse bêta se réfère à la lyse complète des cellules sanguines. Elle se présente comme une couleur jaune transparente sur le milieu de gélose au sang. Ce type d'hémolyse se produit en raison d'une enzyme produite par une bactérie appelée streptolysine. Cette enzyme interagit avec le cholestérol dans la membrane cellulaire et entraîne une détérioration de cette structure cellulaire protectrice.

5.3. γ -hémolyse

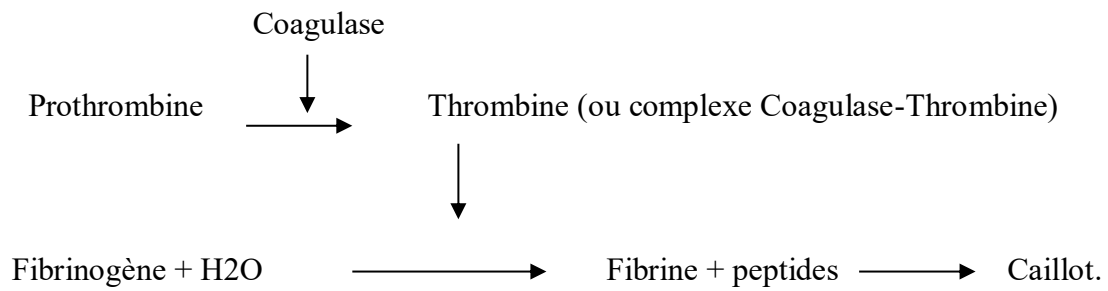
L'hémolyse Gamma est affichée par des bactéries qui n'induisent pas une hémolyse des cellules sanguines. Ces organismes sont appelés non hémolytiques et sont identifiables sur la base de l'absence de changement de couleur ou de transparence dans le milieu directement sous les colonies bactériennes.

6. Test à la Coagulase ou test au plasma de lapin

La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme thermostable : la staphylocoagulase ou Coagulase .La coagulase agit en liaison avec la prothrombine et en absence de calcium, le complexe libère de la thrombine, enzyme active

Chapitre VI: Etude bactériologique

sur le fibrinogène, qui provoque la coagulation du plasma de lapin. Les réactions se font selon le schéma suivant :



Deuxième Partie
Recherche
Expérimentale

Chapitre I :

Matériel et méthodes

Chapitre I : Matériel et méthodes

Objectif

L'objectif de ce travail est de rechercher les infections mammaires chez les bovins laitiers. L'étude bactériologique est réalisée sur le lait cru prélevé sur des vaches laitières de l'exploitation agricole de l'université de Mostaganem (figure n°3).



Figure n°3 : Vue par satellite montrant la situation de la ferme expérimentale et du laboratoire (Google earth,2020).

Chapitre I : Matériel et méthodes

1. Présentation de la zone d'étude

L'étude est réalisée sur les vaches laitières de la ferme expérimentale « élevage » qui est rattachée à l'université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem (figure n°3). Cette ferme s'étend sur une superficie de 60 hectares et se trouve à une altitude de 141m au-dessus du niveau de la mer, de Latitude 35°51'39'' Nord et de Longitude 0°4'30''Est. La région à un climat de type méditerranéen, doux pendant l'hiver et sec et chaud pendant l'été.

2. Matériel

Pour l'étude bactériologique, le matériel le plus important est constitué de :

- Etuve à 37C°,
- Bain marie,
- Vortex.

Pour les produits biologiques les milieux sélectifs suivants sont utilisés : les milieux de Chapman, de Mac Conkey, le bouillon Rothe, la gélose au sang, et le milieu d'Eva Litsky (annexe A).

Pour la coloration de Gram on a utilisé de la fucshine, du lugol, de violet de gentiane et de l'alcool.

Pour l'identification on a utilisé de l'eau oxygéné afin de faire le test de la catalase, et le plasma de lapin pour la Coagulase afin de savoir le type d'hémolyse.

Pour le CMT, une solution teusioactive au Teepol (RAIDEX).

3. Méthodes

3. 1. Prélèvement

On a réalisé le premier prélèvement le 1 mars 2020 à 7 h du matin par nos propres soins tout en respectant les conseils de notre directrice de mémoire sur les méthodes d'hygiène à suivre lors de la traite, et en sa présence. On a pris les précautions nécessaires pour approcher la vache et la tranquilliser avant de procéder à l'opération du prélèvement. Le lait récolté dans des tubes stérile pour chacun des 4 pis de la vache. Et concernant le test de CMT, on a réalisé l'essai sur place dans l'étable. Enfin on a transféré immédiatement les échantillons au laboratoire LSTPA, sur place, pour procéder aux différentes analyses bactériologiques (Remy, 2010).

Chapitre I : Matériel et méthodes

3.2. Préparation de la mamelle

Afin de bien caractériser le germe responsable de l'infection, il faut un prélèvement le plus stérile possible, cela pour éviter toute contamination par la flore du trayon par les mains du manipulateur. Le prélèvement de lait ne nécessite qu'un matériel de base comme le savon et une lavette, papier absorbant, gants d'examen, coton hydrophile ou compresses, alcool à 70°, pots de prélèvement stériles, et feutre indélébile pour les pots de prélèvement afin de noter les renseignements concernant l'animal prélevé.

Le prélèvement est relativement simple, mais il doit être précis et rapide afin de ne pas le contaminer. La première étape est le nettoyage correct du trayon avec de l'eau tiède et du savon et une lavette. On essuie ensuite avec du papier absorbant et on renouvelle l'opération jusqu'à ce que le papier soit propre. Après avoir revêtu des gants on procèdera à la désinfection du trayon, surtout le bout, avec un coton imbibé d'alcool à 70° (Remy, 2010).

3.3. Examen au CMT ou Teepol

Ce test est réalisé en premier lieu pour avoir un aperçu sur la qualité du lait, il s'agit d'un test préliminaire avant d'effectuer l'analyse bactériologique. Pour cela, il faut verser des gouttelettes de lait de chaque quartier de la mamelle dans les cupules correspondantes du plateau des leucocyttest, les cupules sont placées en face d'un éclairage frontal et sur fond sombre pour rechercher par transparence la présence et l'aspect d'un flocculat et noter la couleur du mélange, par comparaison avec une échelle de couleur et de viscosité. La relation entre le nombre de cellules (leucocytes) et le score du CMT. Ajouter 2 ml de réactif avec une seringue, laisser un peu afin de réagir puis s'il ya de grumeaux et le lait ai viré vers le violet donc c'est positif le lait est contaminé et s'il n'ya aucune réaction c'est négatif (figure n°4) (Remy, 2010).

Chapitre I : Matériel et méthodes



A : réactif



B: cupules du plateau

Figure n°4 : Technique de CMT et la réaction entre le réactif et le lait prélevé des 4quartiers (Photos personnelles).

3.4. Prélèvement à partir du pis

Prenez un flacon stérile entre le pouce et l'index et orienter le bouchon vers le bas, dévisser celui-ci avec la main droite. Le bouchon est placé immédiatement entre le pouce et l'index de la main gauche, protégeant l'ouverture du pot. Approcher le flacon à l'horizontale du trayon, éliminez les premiers jets dans un pot, puis diriger 3 à 4 jets de chaque quartier vers le récipient, reboucher celui-ci immédiatement (figure n°5 et n°6). Identifier le pot avec le numéro de la vache, le quartier et la date du prélèvement.

Chapitre I : Matériel et méthodes



Figure n° 5 : Technique et les étapes de prélèvement de lait (Photos personnelles)



Figure n°6 : Echantillons (E1, E2 et E3) prélevés sur les trois vaches de la ferme

4. Analyses bactériologiques

L'analyse bactériologique permet de déterminer la nature des germes, donc un diagnostic de certitude de l'infection mammaire. Avant de procéder à l'analyse bactériologique, il faut nettoyer la paillasse, puis allumer le bec bunsen pendant 15 minutes avant de commencer le travail qui doit être effectué durant toute l'opération dans la zone stérile et ce, pour éviter toute sorte de contamination. Après cela, on calcule le nombre de boîtes et de tubes à essai dont on a besoin pour la recherche de chaque bactérie. Ensuite, on prend les boîtes de Pétri et on coule 15 ml de chaque milieu sélectif défini pour chaque la nature de la bactérie à rechercher et on laisse solidifier la gélose avant l'ensemencement (Devos, 2007).

Chapitre I : Matériel et méthodes

4.1. Recherches des Entérobactéries

L'ensemencement des Entérobactéries est réalisé sur le milieu Mac Conkey. pour cela, on prélève à l'aide d'une micropipette un volume de 50µl du lait cru et on le dépose dans le milieu qui est déjà solide, de chacune des 3 boîtes de Pétri (pour chaque d'échantillon), et ceci pour augmenter la chance d'obtenir des bactéries. Ensuite, on effectue un ensemencement en surface avec un râteau. Enfin, on incube à 37C° pendant 24h.

4.2. Recherches des *Staphylocoques*

L'ensemencement est réalisé sur le milieu Chapman, en surface aussi par étalement du lait déposé à partir d'un bord jusqu'au centre de la gélose. En repartant du départ on fait naviguer tout le contenu du lait avec le râteau toujours sur la gélose de droite à gauche jusqu'en bas afin d'étaler sur l'ensemble de la gélose la « bande » de lait déposée, comme décrit sur la figure suivante (figure n°7). Enfin, on incube les boîtes à 37C° pendant 24h à 48h.

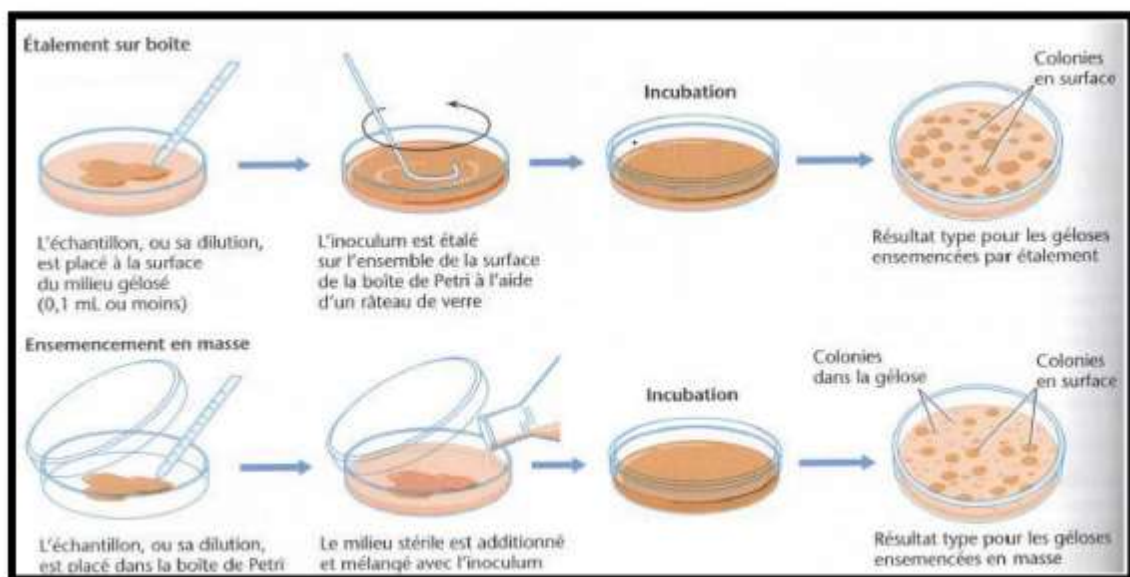


Figure n°7 : Technique montrant un étalement en surface et en profondeur

Chapitre I : Matériel et méthodes

4.3. Recherches des *Streptocoques* :

L'ensemencement été réalisé sur bouillon Rothe double concentré :

On dissout le milieu sélectif avec une seringue pour une prise de 100ml de l'eau distillée stérile et l'ajoute au bouillon, on l'autoclave pendant 15 min au 120C°. on prend 3 tubes 3 tubes à essai stérile et on partage 10 ml de bouillon dans chaque tube, et fur et à mesure on dépose un volume 50µl du lait cru de chaque échantillon prélevé, avec la micropipette dans le 10 ml de bouillon, puis on mélange à l'aide d'un vortex (le bouillon+échantillon) afin d'avoir un mélange bien homogène. Enfin, on incube les tubes à l'étuve à 37C° pendant 24 h à 48 h.

5. Technique d'identification

5.1. Coloration de Gram

Pour passer à la coloration de Gram il faut préparer le frotti fixé. On dépose sur une lame une gouttelette d'eau, ensuite à l'aide de l'anse de platine on prend une colonie et on la dépose sur la gouttelette on mélange de façon circulaire afin d'obtenir un mélange homogène, enfin on laisse sécher. Après cela passer à la coloration par placé le frotti fixé dans le flacon de violet de gentiane et le laisser agir pendant 1 minute, puis on passe au mordantage des frottis avec du lugol et on laisse agir pendant 1 minute, on élimine l'excès de lugol en rinçant avec de l'eau distillée. Ensuite, on décolore avec de l'alcool pendant 10 second, puis on lave avec de l'eau distillée. Après, on recolore le frotti fixé avec de la fuschine pendent 10 secondes. Enfin, on lave et on laisse la lame sécher, puis on examine le frotti à l'objectif x 100, à l'immersion (avec une goutte d'huile), avec un éclairage important. On note la morphologie, le groupement, et la coloration de la bactérie « Gram »

5.2. Test de catalase

On dépose une goutte de réactif, eau oxygénée (H₂O₂), sur une lame, à l'aide de l'anse de platine ou d'une pipette Pasteur boulée, une colonie isolée (ou plusieurs si petites colonies) de la souche à tester, et on observe l'apparition de bulles s'il y a.

6. Ensemencement des géloses et mise en culture « Purification »

6.1. Purification et repiquage des *Streptocoques*

La purification et le repiquage des streptocoques est réalisé avec un test présomptif sur bouillon Rothe suivi d'un test confirmatif sur bouillon d'Eva Litsky.

Chapitre I : Matériel et méthodes

Dans le cas où le test de présomption est positif (présence de trouble dans le tube), on repique la suspension, par une prise d'un volume de 1000 μ l du bouillon Rothe que l'on verse sur le milieu d'Eva Litsky, puis on l'incube à 37C° pendant 24 heures.

Dans le cas où le test de présomption est positif (présence de trouble dans le tube), on repique la suspension, par prendre un volume de 1000 μ l du bouillon Rothe par la micropipette et on le verse sur le milieu d'Eva Litsky, puis on l'incube à 37C° pendant 24 heures.

6.2. Purification et repiquage des *Staphylocoques*

On repique quelques colonies par une anse bien flambée de l'ancienne boîte et on les dépose dans une nouvelle boîte qui contient Chapman solide en effectuant un étalement très léger avec des stries un peu serrées sans endommager la gélose. Enfin, on l'incube à 37C° pendant 24h à 48h.

7. Identification du germe

Après la partie de la purification, on passe à caractériser et à identifier le germe définitivement.

7.1. Identification par hémolyse

A partir d'une gélose pure Chapman pour les Staphylocoques on repique des colonies pures avec l'anse de platine et on les dépose dans la gélose au sang humain, en effectuant un ensemencement en surface par la méthode des stries. Enfin on l'incube à 37C° pendant 24h.

7.2. Test à la Coagulase ou au plasma de lapin

D'une part, on prépare dans un tube à essai stérile 1 ml de bouillon nutritif, on rajoute un volume de 300 μ l de plasma de lapin c'est le témoin. D'autre part, de la même façon on rajoute des colonies pures de Staphylocoques, on mélange le tout avec le vortex. Enfin, on observe dans ½ heure la coagulation, puis après 3 heures s'il y a aucune coagulation on laisse les tubes pendant 24 h à 37C° pour obtenir de bons résultats.

Chapitre II : Résultats

Chapitre II : Résultats

1. Indice de propreté et hygiène au niveau de la ferme :

Dans la ferme où on a travaillé on a pu récolter quelques informations qui contiennent l'état d'hygiène et le degré de propreté en contactant le responsable de l'étable.

Tableau7 : Propreté et hygiène, la ferme d'Hassi-Mamèche

Locaux	Bien entretenus (nettoyage et chaulage)
Litières	Absence de paille dans l'étable
Abreuvement (eau)	Automatique
Matériel de traite	Nettoyé, entretien est moyen
Tenues de travail	bottes utilisées, tenues négligées
Vaches	Relativement propres

1.1. Indices de propreté :

Les indices de propreté des vaches de l'exploitation sont les suivants :

Indice « 1 », pour un état des vaches « propre » (figure 2 et 3) car ces animaux ne présentent aucune souillure au niveau de la mamelle et des pattes.

Indice « 2 », pour la vache n° 1 car son état est considéré comme « relativement propre ». En effet, on observe des souillures au niveau des pattes et au niveau des cuisses.

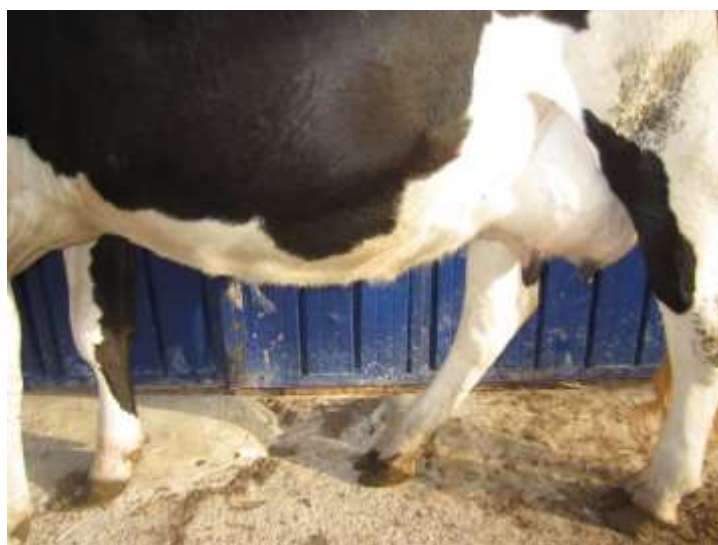


Figure n° 8 : Etat de propreté de la vache 1.

Chapitre II : Résultats



Figure n° 9 : Etat de propreté de la vache 2: propre.



Figure n° 10 : Etat de propreté de la vache3 : moyenne.

2. Test au Teepol (CMT)

La réaction au test Teepol a été légèrement positive pour le lait de vache n°1(échantillon1). En effet nous avons observé une floculation mais très faible, ce qui indique la présence d'une mammite subclinique. Pour les deux autres échantillons nous n'avons pas observé de floculation, la réaction au test CMT a été négative.

Chapitre II : Résultats

3. Bactériologie

Résultat global

Les résultats des analyses bactériologiques des échantillons de laits analysés sont représentés dans les tableaux 8 ; 9 et 10 suivants.

- On note l'absence des entérocoques et des streptocoques dans les trois échantillons de lait (tableaux 8 ; 9 et 10).

- Concernant les staphylocoques, on note leur présence dans les échantillons E1 et E3 (tableaux 8 et 10).

Tableau 8. Résultats des analyses bactériologiques pour les échantillons (E1).

Bactéries / Tests	Examen macroscopique	Examen microscopique	Test de la Catalase	Coloration de Gram
Entérobactéries	Absences des colonies.	Absences des colonies	Absence de catalase	Absence de Gram
Streptocoques	Absences d'un trouble	Absences des colonies	Absence de catalase	Absence de Gram
Staphylocoques	-Changement du milieu vers le doré rouge -Absence de fermentation du manitol -Colonies blanchâtre opaque et lisse	En amas cocci: grappe raisin petite taille	Catalase positif (+)	Gram positif (+)

Tableau 9. Résultats des analyses bactériologiques pour le deuxième échantillon (E2).

Bactéries / Tests	Examen macroscopique	Examen microscopique	Test Catalase	Coloration de Gram
Entérobactéries	Absences des colonies	Absences des colonies	Absence de catalase	Absence de Gram
Streptocoques	Absences d'un trouble	Absences des colonies	Absence de catalase	Absence de Gram
Staphylocoques	Absences des colonies	Absences des colonies	Absence de catalase	Absence de Gram

Chapitre II : Résultats

Tableau 10. Résultats des analyses bactériologiques pour le troisième échantillon (E3).

Bactéries / Tests	Examen macroscopique :	Examen microscopique	Test Catalase	Coloration de Gram
Entérobactéries	Absences des colonies	Absences des colonies	Absence de catalase	Absence de Gram
Streptocoques	Absences d'un trouble	Absences des colonies	Absence de catalase	Absence de Gram
Staphylocoques	Changement du milieu vers le doré Fermentation du manitol -Colonies blanchâtres et jaunes opaque lisse	En chainettes cocci: grappe raisin de taille petites	Catalase positif(+)	Gram positif(+)

Les résultats sont négatifs pour tous les tests dans la culture de Mac Conkey, lors de la recherche des entérobactéries, la même chose pour streptocoques dans le bouillon Rothe et, pour le test confirmatif avec Eva Litsky (figures 11 et 12).



Figure n°11: Résultats négatifs sur bouillon de Rothe.
A gauche : le témoin, à droite E1, E2, E3 : absence de trouble.

Chapitre II : Résultats



Figure n°12: Résultats négatifs sur le milieu Mac Conkey E1.

Staphylocoques

Les résultats obtenus pour les différents examens, réalisés lors de l'isolement et l'identification des staphylocoques sont représentés dans les figures suivantes.

- Les résultats sur le milieu Chapman sont positifs avec un changement de milieu vers le doré rouge cela est dû, à l'absence de fermentation du mannitol, les colonies sont d'aspect blanchâtre, opaque et lisse (figure n°13).



Figure n°13: Résultats sur le milieu Chapman : à gauche : E1 : colonies blanchâtres et le milieu doré rouge, à droite : E3 : colonies blanchâtres et jaunes, le milieu doré.

Les colonies observées à l'objectif x 100 sont de petites tailles Cocci en amas, chaînettes ou en grappes de raisin et à Gram positif (+) (figure n° 14 et 15).

Chapitre II : Résultats

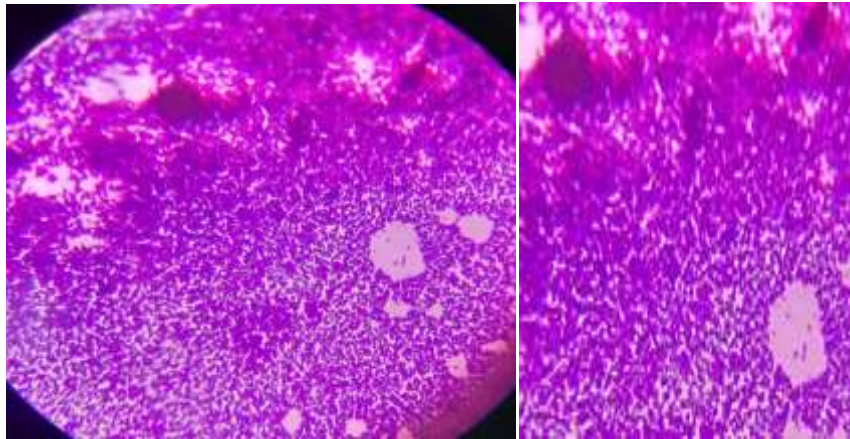


Figure n° 14 : Coloration de Gram de l'échantillon E1 (gr x100): Gram (+) , en amas.

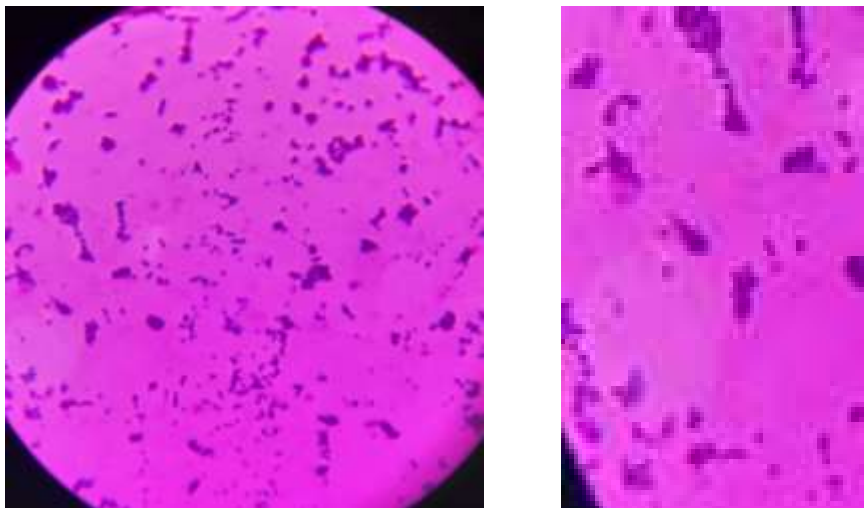


Figure n°15: Coloration de Gram de l'échantillon E3 (gr x100) : Gram (+), en amas et chainettes.

La réaction à la catalase est positive (+) (figure 16). On observe la présence d'un dégagement de gaz sur les échantillons E1 et E3.

Chapitre II : Résultats



Figure n°16 : Test à Catalase :E1 :Catalase(+), E3 :Catalase (+)

On note la présence d'une hémolyse béta (β) et d'une coagulase négatif (-). Les mêmes résultats pour l'échantillon 3 sauf que le changement du milieu est vers le doré cela due à la fermentation du mannitol, les colonies sont d'un aspect blanchâtre et jaune opaque, lisse et d'une hémolyse alpha (α) (figure n°17 ;18 et 19).



Figure n°17 : Test d'hémolyse sur gélose au sang ;
à gauche E3 :hémolyse α , à droite E1 : hémolyse β .



Figure n° 18 : E1 : hémolyse β (béta).

Chapitre II : Résultats



Figure n° 19: E3 : hémolyse α (alpha).

Pour le test de la Coagulase, la figure n°20, montre un résultat négatif (pas de coagulation) ce qui confirme, que le staphylocoque n'est pas de type *aureus*, mais de type Coagulase négative.



Figure n° 20 : Test de la Coagulase : à gauche E3.
Coagulase (-), à droite E1 : coagulase(-)

Chapitre III :

Discussion

Chapitre III : Discussion

Les résultats de notre étude, et à partir des tests d'orientation et d'identification, on a pu isoler un seul germe majeur c'est Staphylocoque à Coagulase négative. Sa présence dans le lait indique la présence de mammites subcliniques dans le cheptel de la ferme expérimentale. Ces germes qui doivent être totalement absents dans un lait sain, sont responsables d'environ un tiers des mammites cliniques et une grande majorité des mammites chroniques chez la vache laitière (IDE, 2008).

De même que, ces résultats montrent que les échantillons de lait cru de vache ne répondent pas aux normes recommandées par le JORA, (2017). Ils sont de qualité médiocre en raison de la présence de germes qui représentent un indice de contamination fécale représenté par la présence des staphylocoques, germes capables de produire une entérotoxine responsable d'intoxication alimentaire d'où, un danger potentiel pour la santé humaine (IDE, 2008),.

D'après le tableau sur les caractères microbiologiques des germes responsables des mammites chez les bovins élaborés par Geurra, 2004 (Annexe B), nos résultats d'identification paraissent corrects, et d'après le tableau n°2 des différentes études bactériologiques, selon Bosquet *et al.*, (2005), les mammites représentent 14 % des isolats de l'étude précédemment citée, et donc seraient responsables de 20 % des mammites bovines en France. Ils sont prédominants dans les isolats réalisés au sein de la clinique vétérinaire de Gavray dans la Manche, de mai 2007 à janvier 2008, représentant 32 % des 118 bactériologies réalisées et 33% dans l'étude de Durel *et al.*, (2004).

Dans la deuxième étude de la zone pastorale de Niger la fréquence de *S. aureus* est légèrement supérieure à celle rapportée au niveau des élevages urbains et périurbains, la fréquence de *S. aureus* a été respectivement de 36% en 2005, et 32% en 2009 (Abdoulkarim, 2014). Des fréquences supérieures ou encore inférieures à celles que nous avons obtenu ont été rapportées dans différents pays en Afrique. Ainsi, la fréquence des mammites à *S. aureus* est de 43% au Sénégal, 30% en Algérie, 28% en Ethiopie (Abdoulkarim, 2014).

Les staphylocoques coagulase négatifs sont des germes de la flore cutanée normale. La source d'infection est en général un défaut d'hygiène au moment de la traite, où ils colonisent le canal du trayon à la faveur d'une blessure. La pathogénie est encore mal connue (Durel *et al.*, 2004). Ces germes sont en général plus prévalus sur les primipares (Bosquet *et al.*, 2005). La colonisation de la mamelle des primipares s'est réalisée bien avant le vêlage (Bravard *et al.*, 2006), (Bradley *et al.*, 2007). Lors d'infections mammaires, les vétérinaires sont surtout confrontés à quelques espèces bactériennes qui sont surtout présentes sur la peau des trayons des vaches ou au niveau de l'environnement du bâtiment d'élevage.

Conclusion

Conclusion

Certaines méthodes de dépistage préalable des mammites sont réalisables sur le terrain telle que la méthode CMT qui est la plus utilisée donne une réponse qualitative sur l'état sanitaire de chaque quartier de la mamelle (sain ou infecté) et permettent de sélectionner les vaches sur lesquelles seront effectués des prélèvements de lait pour l'analyser.

L'analyse bactériologique est une méthode relativement simple à mettre en œuvre par les praticiens de formation mais nécessite des produits et du matériel spécialisé. Elle est assez coûteuse mais rentable pour l'éleveur. Elle permet d'effectuer un diagnostic précis et rapide du germe pathogène responsable de mammite au sein d'un élevage de vaches laitières. A la suite des résultats de cette analyse, les éleveurs et les vétérinaires seront capables de procéder aux traitements des infections mammaires.

Le traitement des mammites doit passer avant tout par la prévention. Les visites de traite doivent être privilégiées par les vétérinaires, ainsi que les appréciations des conditions d'hébergement et d'alimentation de l'élevage bovin.

Les résultats obtenus à l'issue de notre recherche convergent que l'apparition des mammites est liée à un manque d'hygiène des lieux d'hébergement des vaches et à un environnement insalubre

Ce travail de recherche nous a permis d'avoir une idée claire sur le comportement à prendre sur le terrain et sur les méthodes à appliquer lors des opérations d'analyses microbiologiques au laboratoire. En respectant les consignes des enseignants nous avons pu mener à terme et de manière correcte l'isolement et la caractérisation d'une bactérie pathogène responsable de mammites subcliniques. Les mammites subcliniques comme *S. aureus* sont une préoccupation mondiale de nos jours. En effet, à travers le monde, ce germe pathogène continue à induire des pertes au niveau des producteurs laitiers notamment liées à la baisse du niveau de production de lait, aux frais de pénalité à l'achat du lait (dans les pays où des normes sont appliquées) et aux coûts du traitement. Les infections subcliniques entraînent des pertes de production aussi.

Selon la fédération internationale du lait (International Dairy Federation IDF, dernier bulletin de l'année 2019), les mammites subcliniques entraînent des pertes économiques considérables. Elles représentent 95% des mammites et touchent 40% des vaches laitières. Les mammites subcliniques sont à évolution insidieuse, entraînent une diminution importante de la production laitière, souvent plus de 375 kg de lait par lactation (5% de pertes par lactation).

Annexes

Annexe A

Milieux préparé pour les analyses bactériologiques (Wikipédia 2020).

Milieu Chapman :

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Tryptone	5
Peptone bactériologique	10
Chlorure de sodium	70
Mannitol	10
Rouge de phénol	0,05
Agar	18
Dissoudre 119 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,4±0,1	

Milieu Rothe :

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	20,0
Glucose	5,0
Azide	0,2
NaCl	5,0
Hydrogénophosphate de potassium	2,7
Dihydrogénophosphate de potassium	2,7
Dissoudre 36,2 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 121°C ; Ph=6,8±0,1	

Milieu Mac Conkey :

Constituant	Quantité en g/l
peptone	20,0 g
sucre	10,0 g
sels biliaires	1,5 g
cristal violet	0,001 g
rouge neutre	0,05 g
chlorure de sodium	5,0 g
Agar-agar	15,0 g
Dissoudre 51 ,5g pour 1 litre d'eau distillé, autoclaver pendant 15 min à 120c° ph= 7	

Annexe B

Caractères microbiologiques des germes responsables des mammites chez les bovins (Guerra, 2004).

Germes de mammites	Aspect colonie sur gélose au sang	Catalase	Gram	Forme microscopique	Mobilité	Oxydase	Hémolyse	Rapidité de culture
<i>Staph.aureus</i>	Grosse colonie gris blanc ou jaune, odeur de pied	+ Forte	+	Coque en grappe de taille moyenne	Non	-	Souvent double avec α et β	24 à 48 h
Autres <i>Staph.</i>	Gosse colonie blanche crème	+	+	Coque en grappe de taille moyenne	Non	-	Pas d'hémolyse	24 h coagulation +
<i>S.agalactiae</i>	Petite colonie translucide	-	+	Coque en courte chainette	Non	-	β hémolyse	24 à 48 h
<i>E.coli</i>	Blanche brillante large odeur de litier humide et sale	Légèrement + ou -	-	Bâtonnets bien rangés	Oui ou non	-	Parfois	6 à 12 h

Annexe C

Tableau Récapitulatif des règles pratiques d'hygiène de traite (Geurra, 2004).

	Recommandé	Acceptable	A éviter
Lavage des mamelles	Lavette individuelle pour le lavage et l'essuyage	Douchette et essuyage avec des serviettes individuelles de papier	Une même lavette pour plusieurs vaches Mamelles dégoulinantes à la pose des gobelets Suppression du lavage
Elimination des premiers jets	Dans un récipient	Au sol en salle de traite	Sur les mains Au sol en étable entravée
Pose des gobelets	Immédiatement après le lavage Pas d'entrée d'air	Attente prolongée après le lavage Entrée d'air importante	
Ordre de traite	Traite en dernier des vaches infectées (cas clinique, CMT ou taux cellulaires élevés)	Un ou deux faisceaux supplémentaires en salle de traite pour les vaches infectées	
Fin de traite	Egouttage bref sans entrée d'air Dépose des gobelets par gravité après coupure du vide	Suppression complète de l'égouttage Utilisation de systèmes de décrochage automatique fonctionnant bien	Egouttage long, avec entrée d'air Dépose par arrachage avec entrée d'air Longue surtraite
Désinfection des trayons	Systématiquement après chaque traite après trempage	Utilisation de certains systèmes de pulvérisation	Pas de désinfection ou désinfection mal faite et intermittente
Autres	Traite en douceur Pas de modifications brutales de la routine	Coups, bruits, chocs élec. Modifications brutales de la routine	

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1) **Abdoukarim. I. 2014.** 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 de doctorat, université de liège (France). Consulté 21 mars 2020 sur :

<https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/183544/1/these%20abdoukarim%20issa%20ibrahim.pdf>

2) **Bendiab. N. 2012.** Analyse de la conduite d'élevage bovin laitier dans la région de Sétif. Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas, Sétif (Algérie). Consulté 12 mars 2020 sur :

<https://www.univ-setif.dz/mmagister/images/facultes/snv/2012/bendiabnesrine.pdf>

3) **Ben Hassen. S, Messadi. I, Ben Hassen. A. 2003.** Identification et caractérisation des espèces de *staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammites.

<http://facmu.ulg.ac.be/amv/articles/2003-147-1-04.pdf> Consulté 24 mars 2020 sur:

5) **Bidaud. O, Houffschmitt. P, Viguerie. Y. 2007.** Etiologie des mammites bovines en France. Consulté 6 Avril 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1096>

6) **Bosquet. G. 2004.** L'analyse lors d'une flambée de mammites cliniques: une étape indispensable riche d'enseignement. Consulté 14 Avril 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1096>

7) **Bosquet. G, Ennuyer. M, Goby. L, Leiseing. E, Martin.S, Salat. O, Sanders. P, Seegers. H, Serieys. F. 2005.** Le praticien face au ciblage du traitement en lactation des mammites. P: 45. Consulté 6 avril 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1096>

8) **Bouaziz. O. 2005.** Contribution à l'étude des infections intra mammaires de la vache laitière dans l'est algérien, thèse doctorat, université Mentouri, Constantine (Algérie). Consulté 28 mars 2020 sur :

<https://bu.umc.edu.dz/theses/veterinaire/bou4260.pdf>

8) **Bradley. AJ, Leach. KA, Breen. JE, Green. LE, Green. MJ. 2007.** Survey of incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in england and wales. Consulté 30 mars 2020 sur :

Références bibliographiques

<http://e-biblio.univmosta.dz/bitstream/handle/123456789/3894/untitled.pdf?Sequence=1&isallowed=y>

9) **Bravard. M, Schmitt-Van de Leemput. E. 2006.** Infection à *Staphylocoques* coagulase négatif. Consulté 27 mars 2020 :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?Id=1245>

10) **Dahou.A.E.A., 2017.** Étude de l'évolution de la flore microbienne indigène d'un fromage industriel pâte molle type camembert au cours de son affinage et évaluation de ces aptitudes technologiques. Thèse de doctorat, université Abdelhamid Ibn Badis .Mostaganem (Algérie). P : 139.

<https://www.univ-mosta.dz/catalogue-en-ligne-des-bibliotheques/>

11) **Descotaux .K, Roy. M .2004.** Germes pathogène responsable des mammites. Consulté 16 avril 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1096>

12) **Devos. N. 2007.** Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires et des produits de Santé animale commercialisés en France en 2007. Ed. Du Point Vétérinaire, 14ème édition : 1807 p

13) **Durel. L, Faroult. B, Lepoutre. D, Brouillet. P. 2004.** Mammites des bovins (cliniques et subcliniques). P: 98. Consulté 6 avril 2020

<http://www.beep.ird.fr/collect/eismv/index/assoc/td07-53.dir/td07-53.pdf>

14) **Durel. L, Poutrel. B. 2006.** Diagnostic bactériologique des mammites pour le vétérinaire praticien, solutions pratiques et limites. Consulté 22 mars 2020 sur :

<https://prodinra.inra.fr/?locale=en#!ConsultNotice:145903>

15) **Durel. L, Schmitt-Van de Leemput. E. 2007.** Examen bactériologique du lait de mammité au cabinet. Consulté 28 mars 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1096>

16) **Eicher. R, Sutter-lutz. B, Berger. L. 2003.** Contrôler les mammites à *staphylococcus aureus*. Consulté 1 avril 2020 sur :

<https://www.lepointveterinaire.fr/publications/le-point-veterinaire/article/n-228/controler-les-mammites-a-staphylococcus-aureus.html>

Références bibliographiques

17) **Faroult. B, Lepage. P. 2002.** Quels prélèvements de lait pour le diagnosti bactériologique des mammites bovines. Consulté 2 avril 2020 sur :

http://www2.vetagrosup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2006lyon099.pdf

18) **Federici. C. 2004.** Logement et flambée de mammites cliniques.P:781.Consulté 27 avril 2020 sur : http://www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2014lyon059.pdf

20) **Ferrouiller. C, Bouchard. E, Carrier. J. 2004.** Diagnostic indirect des mammites subcliniques.P:42. Consulté 20 avril 2020 sur :

<https://www.lepointveterinaire.fr/publications/le-point-veterinaire/article/n-248/diagnostic-indirect-des-mammites-subcliniques.html>

21) **Gabli.L 2005.** Germes pathogène responsable des mammites.Consulté 16 avril 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?Id=1096>

23) **Gehring. R, smith. GW. 2006.** An overview of factors affecting, the disposition of intramammary preparation used to treat bovine mastitis. P: 29. Consulté 1 mai 2020 sur :

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2885.2006.00750.x>

24) **Gröhn.YT, Wilson. DJ, Gonzalez. RN, Hertl. JA, Schulte. H, Bennett. G, Schukken.YH. 2004.** Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yields in dairy cows. P: 87 .Consulté 6 juin 2020 sur :

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15377615>

25) **Guerra. L. 2008.** Contribution à la connaissance des systèmes d'élevage bovin dans la région semi aride de Sétif. Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Université Ferhat Abbés, Sétif (Algérie). Consulté 25 mars 2020 sur :

<http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/1082>

24) **Houffschmitt. P. 2004.** Lait de mammite : recul sur les analyses bactériologiques après congélation en élevage. P: 823-825. Consulté 5 avril 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?Id=1096>

Références bibliographiques

25) **IDE (Institut de l'élevage), 2008.** *Maladies des bovins*. Manuel pratique. Éditions France Agricole, 4^{ème} édition. ISBN 13 : 978-2-85557-149-2.

26) **Jean. B, Claude, Robert. G. 2010.** Comparaison entre la méthode épidémiologique de diagnostic lors d'une épizootie de mammites en élevage bovin. Thèse de doctorat, faculté de médecine de Créteil, Paris (France). Consulté 24 avril 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1245>

27) **J.O.R.A (Journal officiel de la république algérienne), 2017.** Arrêté du 04 Octobre 2016. Hygiène de la production et de la collecte du lait. Publié le 02 Juillet 2017 pp : 22.

<http://www.joradp.dz/hfr/>

28) **Labbé. JF. 2007.** Fonctionnement et dysfonctionnement de la machine à traire. Consulté le 2 avril 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?Id=1096>

29) **Lafont. JP, Martel. JL, Maillard. R, Chalus-dancla. E, Puyt. JD, Laval. A. 2002.** Antibiothérapie bovine. P: 318. Consulté 8 avril 2020 sur :

<https://www.anses.fr/fr/system/files/sant-ra-abr.pdf>

30) **Le Grand. D, Arcangioli. MA, Giraud. N, Poumarat. F, Bezille, Bergonier. D. 2004.** Conduite à tenir face à des mammites. Consulté 10 avril 2020 sur :

http://www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?File=2015lyon003.pdf

31) **Lemercier. G, Etesse. E. 2007.** Frais vétérinaires et bilan global de l'exploitation laitière. Nantes (France). Consulté 14 avril 2020 sur :

http://www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?File=2014lyon059.pdf

32) **Lepage. P. 2003.** Les moyens de diagnostic des infections mammaires en exploitation. P: 319. Consulté 27 mars 2020 sur :

<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?Id=1096>

33) **Manner. Y, Pellerin. L, Papiero .1999.** L'analyse bactériologique des laits de mammites clinique. P: 181. Consulté le 22 mars 2020 sur :

<http://theses.vetalfort.fr/telecharger.php?Id=1096>

Références bibliographiques

- 34) **Nadjraoui. D. 2001.** Fao country pasture / forage resource profiles: Algeria. Consulté 15 avril sur: https://ees.kuleuven.be/klimos/toolkit/documents/648_algeria.pdf
- 35) **Rechidi-Sidhoum.N., Niar .A., Nemmiche.S et Homrani .A. 2018.** Serological diagnosis of brucellosis at the ruminants in Mostaganem (Algeria). *Int.J.of Biosciences*. Vol. 12, No. 5, p. 271-278. <http://www.innspub.net>
- 36) **Rechidi-Sidhoum.N. 2019.** Enquête épidémiologique de la brucellose animal et humaines cas de la Wilaya de Mostaganem. Thèse de doctorat, université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem (algerie) , 175p.
<https://www.univ-mosta.dz/catalogue-en-ligne-des-bibliotheques/>
- 37) **Remy. D. 2010.** Les mammites. France Agricole Éditions, Paris, France, 259p.
<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?Id=1096>
- 38) **Salat. O, Lhermie. G, Bastien. J. 2007.** Démarches pratique de traitement des infections mammaires à *Staphylocoques aureus*. P: 783. Consulté le 26 mars 2020 sur :
<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1096>
- 39) **Schmitt-Van de Leemput. E. 2007.** Analyse bactériologique du lait. Consulté 26 avril 2020 sur :<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1096>
- 40) **Serieys. F. 2007.** Localisation des bactéries et traitements des mammites en lactation. P: 63. Consulté 10 juin 2020 sur :
https://www.researchgate.net/profile/Christian_Hanzen/publication/215649775_Enzootic_of_bovine_clinical_mastitis_with_the_accidental_presence_of_an_unusual_pathogen/links/56ebee7708ae24f050990bf0/Enzootic-of-bovine-clinical-mastitis-with-the-accidental-presence-of-an-unusual-pathogen.pdf
- 41) **Tahlaiti.H, 2018.** Étude des propriétés technologiques et inhibitrices de bactéries lactiques isolées à partir de blé fermenté. Thèse de doctorat, université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, 180p. <https://www.univ-mosta.dz/catalogue-en-ligne-des-bibliotheques/>
- 42) **Taponen. S, Pyörälä. S. 2007.** « c.n.s. Emerging pathogen ». P: 18-20. Consulté 26 avril 2020 sur : <https://biblio.ugent.be/publication/3007531/file/4335740.pdf>

Références bibliographiques

- 43) **Wenz. JR, Barrington. GM, Garry. FB, Ellis. RP, Magnuson. RJ.2006.** *Escherichia coli* isolated serotypes, genotype and virulence genes and clinical coliform mastitis severity. P: 89. Consulté 3 avril 2020 sur :<http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1096>
- 44) **Yakhlef. H. 1989.** La production extensive de lait en Algérie. P: 135-139. Consulté 20 avril 2020 sur :<https://om.ciheam.org/article.php?Idpdf=ci000475>

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	2
ملخص	3
Summary	4
Sommaire	5
Liste des tableaux	6
Liste des figures	7
Liste des annexes	8
Introduction	9
Première Partie : Etude Bibliographique	12
Chapitre I : Généralités sur les bovins	13
1. Races bovines en Algérie	14
1.1. Races exploitées	14
1.1.1. Races locales	14
2. Alimentation (nature, quantité et qualité)	14
Chapitre II : Infections mammaires chez les bovins	16
1. Différents types de mammites	17
1.1. Définition	17
2. Mammites cliniques	17
2.1. Mammites suraiguës	17
2.1.2. Mammites gangreneuses	18
2.3. Mammites chroniques	18
3. Mammites subcliniques	19
4. Importances des mammites bovines	19
4.1. Importance médicale	19
4.2. Importance sanitaire	19
4.3. Importance économique en Algérie	20
Chapitre III : Epidémiologie des infections mammaires	21
1.1. Par le phénomène de traite humide ou Reverse Flow	22
1.2. Par l'introduction de germes par l'être humain	22
2. Infection du quartier mammaire	22
3. Guérison ou persistance de l'infection	23
4. Étiologie des mammites bovines	24
5. Bactéries mammopathogènes	24

5.1. Pathogènes majeures	24
5.2. Pathogènes mineurs.....	27
Chapitre IV : Recherche bactériologique.....	30
1. Modèle environnemental.....	31
2. Modèle contagieux	31
3. Modèle d'association	31
Chapitre V : Diagnostic des infections mammaires	34
1.1. Examen clinique de la mamelle.....	35
1.3. Examen par le California Mastitis Test (C.M.T) ou Teepol.....	36
1.4. Papier indicateur de pH	37
1.5. Concentrations cellulaires somatiques du lait	38
1.6. Examen bactériologique	39
Chapitre VI: Etude bactériologique	40
1. Etude de la flore pathogène	41
2. Examen macroscopique	41
3. Examen microscopique	43
4. Recherche de la catalase	43
5. Test à l'hémolyse	44
6. Test à la Coagulase ou test au plasma de lapin	44
Deuxième Partie Recherche Expérimentale	46
Chapitre I : Matériel et méthodes	47
Objectif.....	48
1. Présentation de la zone d'étude	49
2. Matériel	49
3. Méthodes	49
3. 1. Prélèvement	49
3.2. Préparation de la mamelle	50
3.3. Examen au CMT ou Teepol	50
3.4. Prélèvement à partir du pis.....	51
4. Analyses bactériologiques	52
4.1. Recherches des Entérobactéries.....	53
4.2. Recherches des <i>Staphylocoques</i>	53
4.3. Recherches des <i>Streptocoques</i> :	54
5. Technique d'identification	54
5.1. Coloration de Gram	54
5.2. Test de catalase.....	54
6. Ensemencement des géloses et mise en culture « Purification »	54

6.1. Purification et repiquage des <i>Streptocoques</i>	54
6.2. Purification et repiquage des <i>Staphylocoques</i>	55
7. Identification du germe	55
7.1. Identification par l'hémolyse	55
7.2. Test à la Coagulase ou au plasma de lapin	55
Chapitre II : Résultats	56
1. Indice de propreté et hygiène au niveau de la ferme :	57
1.1. Indices de propreté :	57
2. Le test au Teepol (CMT)	58
3. Bactériologie	59
Chapitre III : Discussion	65
Conclusion	67
Annexes	69
Références Bibliographiques	74
Table des matières	81