

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 و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

BEKKAYE Ferial

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : Production et transformation laitières

THÈME

**Méthodes de détection des mammites
pour limiter leur influence sur
la production laitière**

Soutenu publiquement le 28/09/2020

Devant les membres du jury

Président	TAHLAITI.H	Maitre de conférences B	U. Mostaganem
Examineur	DAHOU.A.E.A	Maitre de conférences B	U. Mostaganem
Encadreur	RECHIDI-SIDHOUM.N	Maitre de conférences B	U. Mostaganem

Travail réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales
Année universitaire 2019-2020

Remerciements

Nous formulons notre profonde gratitude à « ALLAH » le tout puissant qui nous a donné de la volonté et du courage pour la concrétisation de ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer mes profondes reconnaissances et témoigner notre gratitude pour remercier tous ceux qui nous ont aidé à réaliser ce travail, chose qui n'est jamais inoubliable, nous le devons à la volonté qu'avait déployé Dr RECHIDI-SIDHOUM Nadra, notre directrice de mémoire, pour ses conseils et c'est grâce à ses orientations qu'on a pu redoubler de vigilance pour arriver à ce stade.

Mes sincères remerciements iront également au Dr TAHLAITI Hafida, présidente de ce mémoire et Dr DAHOU Abdelkader El Amine pour avoir accepté de juger ce travail.

Nous remercions vivement et sincèrement, Mme BEKKAYE Imene Ikram, Doctorante à l'université d'Oran.

Ma profonde gratitude, mes sentiments les plus amicaux et mes infinis remerciements vont à tous et toutes mes collègues et ami(e)s pour l'ambiance amicale et conviviale qu'ils ont su tisser au sein du laboratoire

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail avec toute la profondeur de mes sentiments:

A l'être le plus cher dans le monde, ma douce et ma tendre mère pour ses souffrances endurées, et sa jeunesse sacrifiée pour me permettre d'être parmi les meilleurs ;

A mon très cher père qui m'a donné la confiance et le courage pour arriver à ce stade ;

A mes frères que j'adore Rafik et Zakarya ;

A toute ma famille sans exception ;

A tous mes collègues de la promotion de master production et transformation laitières
2019 – 2020.

Bekkaye Ferial

Résumé

Les infections intra-mammaires ou mammites sont des maladies multifactorielles majeures des élevages bovins laitiers en Algérie et dans le monde. Les mammites constituent la première dominante pathologique de ces élevages, avant les troubles de la reproduction et les boiteries. La maîtrise des infections intra-mammaires représente un enjeu primordial pour les éleveurs. Lutter contre cette pathologie passe ainsi par une connaissance des bactéries en cause et de leur épidémiologie. La présente étude a porté sur la détermination des méthodes de détection des mammites pour limiter leur influence sur la production laitière. Les résultats obtenus montrent la présence de *Staphylococcus à coagulase négative* qui apparaît comme l'agent étiologique majeur des mammites cliniques et subcliniques ce qui montre la prédominance du réservoir mammaire. Pour prévenir ces infections, les éleveurs doivent contrôler et prévenir, surtout les mammites subcliniques. Pour cela, la détecter précocement des mammites subcliniques est obligatoire par le CMT ou par l'isolement et la caractérisation des germes pathogènes.

Mots clés : Vache laitière , mammite, germes pathogènes , production laitière.

ملخص

تعد العدوى داخل الثدي أو التهاب الضرع من الأمراض الرئيسية متعددة العوامل التي تصيب مزارع الأبقار الحلوب في الجزائر والعالم. التهاب الضرع هو المرض السائد في هذه المزارع ، بإضافة لاضطرابات التناسلية والعرج. السيطرة على العدوى داخل الثدي هي مسألة رئيسية بالنسبة للمربين. وبالتالي يتطلب مكافحة هذا المرض معرفة البكتيريا المعنية ووبانياتها. ركزت الدراسة الحالية على تحديد طرق الكشف عن التهاب الضرع للحد من تأثيرها على إنتاج الحليب. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود المكورات العنقودية السلبية المخثرة ، والتي يبدو أنها العامل المسبب الرئيسي لالتهاب الضرع السريري وتحت السريري ، مما يدل على غلبة خزان الثدي. لمنع هذه العدوى ، يجب على المربين السيطرة والوقاية ، وخاصة التهاب الضرع تحت الإكلينيكي. للقيام بذلك ، يبدأ الكشف المبكر عن التهاب الضرع تحت الإكلينيكي بواسطة CMT أو عن طريق عزل وتوصيف مسببات الأمراض

الكلمات المفتاحية: بقرة حلوب ، التهاب الضرع ، مسببات الأمراض ، إنتاج الحليب.

Abstract

Intra-mammary infections or mastitis are major multifactorial diseases of dairy cattle farms in Algeria and in the world. Mastitis is the first dominant pathological in these farms, before reproductive disorders and lameness. Controlling intramammary infections is a key issue for breeders. Fighting against this pathology thus requires knowledge of the bacteria in question and their epidemiology. The present study focused on determining methods for detecting mastitis to limit their influence on milk production. The results obtained show the presence of coagulase negative Staphylococcus, which appears to be the major etiological agent of clinical and subclinical mastitis, which shows the predominance of the mammary reservoir. To prevent these infections, breeders must control and prevent, especially subclinical mastitis. To do this, the early detection of subclinical mastitis is initiated by the CMT or by the isolation and characterization of pathogens.

Keywords : Dairy cow, mastitis, pathogens, milk production.

Sommaire

	Page
Abréviations, sigles, acronymes et symboles	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des annexes	
Introduction	15
Première partie. Étude bibliographique	
Chapitre I. Mammites chez les bovins	17
Chapitre II. Diagnostic des infection mammaires	37
Deuxième Partie. Recherche Expérimentale	
Chapitre I. Matériel et méthodes	59
Chapitre II. Résultats	76
Chapitre III . Discussion.....	84
Conclusion	87
Annexes	89
Liste des références	93
Table des matières	99

Liste des abréviations, sigles, acronymes et symboles

ADN : Acide Désoxyribonucléique

CCSI : Concentration Cellulaire Somatique Individuelle

CCST : Concentration Cellulaire Somatique de Tank

CMT : California Mastitis Test

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

PCR : Polymerase Chain Reaction

E coli : *Escherichia coli*

SCN : *Staphylocoques à coagulase négative*

TKT : Cristal violet et thallium

BCP : Pourpre de bromocrésol

EMB : Eosine et bleu de méthylène

ANC : Acide nalidixique et colistine)

ARN: Acide Ribonucléique

ATB : Antibiotique

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractéristiques des différents types de mammites (Duval.J, 2008).....	22
Tableau 02 : Palpation de la mamelle et affection correspondante (Taponen S, Pyorala S, 2007).....	38
Tableau 03 ; Grille d'interprétation de CMT (Lepage, 2003).....	43
Tableau 04 : Critères d'alerte pour les mammites cliniques d'après (Ruegg.P,2011).....	55
Tableau 05 : Critères d'alerte pour les mammites subcliniques d'après (Ruegg.P,2011).....	55
Tableau 06 : Evaluation de la qualité du prélèvement	56
Tableau 07 : Résultats d'isollements des biotes pétris sur des milieux.....	76
Tableau 08 : Les caractère macroscopique des échantillons v1, v3.....	80

Liste des figures

Figure 01 : Représente l'anatomie de la glande mammaire de vache (Charton , 2017).....	17
Figure 02 : Les différents structures du canal du trayon (Smith, 2008).....	18.
Figure 03 : Proportion de chaque groupe d'agents pathogènes isolés lors de mammites sub cliniques (Bendiab .N , 2012).....	25
Figure 04 : Germes responsables de la mammites clinique (Bendiab. N , 2012).....	25
Figure 05 : Différent espèces des staphylococcus (Joël Bockaert , 2017).....	27
Figure 06 : Dynamique de la infection contagiosité (Didier Fontenille Christophe Lagneau Sylvie Lecollinet <i>et al.</i> 2009).....	31
Figure 07 : Réservoirs et transmission des S. aureus (Renée 2012.....	32
Figure 08 : Méthodes de CMT pour détecté la infection mammaire dans un quartier . (Anses. 2017).....	42
Figure 09 : Interprétation de test CMT (Remy, 2010).....	43
Figure 10 : Tests d'identification sur gélose (Ruegg P. 2011).....	50
Figure 11 : « Méthode simplifié » d'identification des germes responsables de mammites d'après (Addis M.F. et al.2016).....	52
Figure 12 : Exemple d'antibiogramme (Madec J-Y. 2011).....	53
Figure 13 : Schéma ALARME appliqué aux mammites (Bourachot Mathilde 2017).....	54

Figure 14 : Vue par satellite montrant la situation de la ferme expérimentale et du laboratoire LSTPA. (google earth,2020).....	59
Figure 15 : Les vaches laitières de race Pie noire.....	60
Figure 16 : Technique de isolement sur un boîte pétri https://www.magazinescience.com/biologie/milieux-de-culture-techniques-de-ensemencement/	62
Figure 17 : Milieu cultures utilisable dans analyses	64
Figure 18 : Isolement sur bouillon Rothe.....	65
Figure 19 : Réensemencement sur milieu Eva Lits Ky.....	66
Figure 20 : Principales formes des bactéries (Leyral J, 2001)	67
Figure 21 : Conteur des colonies à bords réguliers , irréguliers https://www.etudier.com/dissertations/Identification-Macroscopiques-Des-Colonies-De-Bacterie/492881.html	68
Figure 22: couleur de E coli dans un milieu mac conkey (Leyral J, 2001)	69
Figure 23 : Equipement pour la coloration de gram des colonies	71
Figure 24 : Absence des colonies sur milieu Macconkey à trios vaches	76
Figure 25 : Colonies bactériennes dorées (E1, E2).....	77
Figure 26 : Absence des colonies dans bouillon Rothe.....	78
Figure 27 : Des colonies doré sur milieu Chapman.....	78
Figure 28 : Résultats de confirmation sur bouillon Eva lisky	79
Figure 29 : Observation microscopique grossissement 100 d'un échantillons V3	80
Figure 30 : Test de catalase(-), pour les bactéries	81
Figure 31: Test de catalase(-), catalase (+) pour les deux vaches.....	81
Figure 32: Résultat négatif de test coagulase.....	82

Listes des annexes

ANNEXE A : Formules des milieux de culture89

ANNEXE B : Les différents milieux de culture et technique utilisé pour l'isolement et l'identification des prélèvements91

Introduction

Les mammites restent un des fléaux majeurs de l'élevage laitier et constituent une pathologie des plus importante de l'élevage laitier de par leur fréquence, du point de vue sanitaire et économique puisqu'elles entraînent de lourdes pertes (Niar *et al*, 2000).

En Algérie, comme dans la plupart des pays, les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers. Cependant malgré la fréquence des mammites subcliniques et cliniques dans les élevages bovins laitiers dans les élevages algériens il faut signaler le manque d'études approfondies, indispensables pour cerner les facteurs de risque associés à ces infections mammaires ainsi que la connaissance des bactéries responsables. La connaissance précise de la fréquence des germes responsables de mammites chez la vache est indispensable pour la définition et l'adaptation des programmes de maîtrise des mammites aux différentes situations épidémiologiques. De ce fait, il devient nécessaire de mettre en place des enquêtes épidémiologiques (Niar *et al*, 2000) .

Le traitement des mammites est la principale utilisation des antibiotiques en production laitière. Renforcer l'efficacité, la sécurité et la traçabilité des traitements à base d'antibiotique constitue un enjeu essentiel pour l'économie de l'élevage, la santé publique et l'image du lait auprès des consommateurs. En parallèle, les mesures de lutte contre la diffusion et l'émergence de résistances ont été mises en place. Néanmoins, la réalité des modalités d'utilisation des antibiotiques sur le terrain est assez peu connue (Niar *et al*, 2000) .

La première partie de ce travail est consacré à une étude bibliographique sur les mammites bovines et leur influence sur la production laitière. La seconde partie pratique nous exposons les méthodes de diagnostic des mammites pour limiter leur influence sur la production laitière.

Chapitre I
Mammites chez les
bovins

1. Rappels anatomique de la glande mammaire

La glande mammaire pèse 50 kg en moyenne, en fonction de l'âge et de sa conformation (figure 01). Elle est constituée de 4 quartiers anatomiquement séparés par des ligaments, ce qui ne permet pas le passage direct du lait d'un quartier à l'autre. La synthèse du lait s'effectue dans les alvéoles (vésicules de 100 à 300 microns) et la capacité de la citerne est en moyenne de 1 litre. La distribution du lait dans la mamelle avant la traite est de 60% dans les alvéoles, 20% dans les canaux et 20% dans la citerne. La mamelle est constituée de leucocytes internes, de cellules myoépithéliales externes, d'un réseau artérioveineux périphérique (500 litres de sang /l de lait) et d'un système excréteur (canaux galactophores, citerne du pis, sinus et canal du trayon) (figure 01) (Remy , 2010).

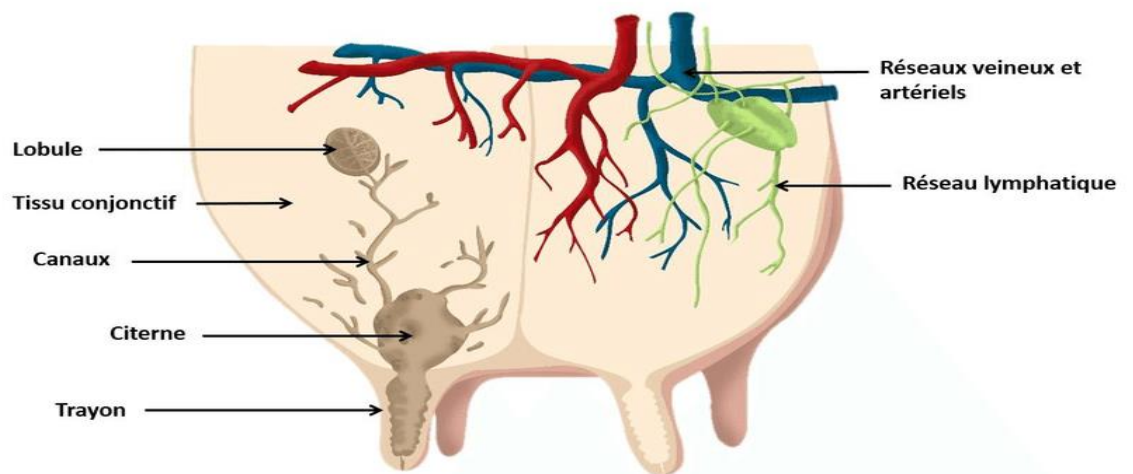


Figure 01 : Représente l'anatomie de la glande mammaire de vache (Charton, 2017) .

Le trayon est une creuse, longue de 5 à 7cm il contient une citerne généralement remplie de lait. Sa paroi est constituée d'une épaisse couche fibro-élastique métée de faisceaux de fibre musculaires lisses, sa souplesse lui permet de s'adapter et de se modifier en fonction des pressions exercées par le

vide dans le manchon trayeur il est entouré d'une peau fine et glabre (sans poil) ; ce qui facilite son nettoyage mais la rend relativement fragile.

Cette zone glabre est un élément important de la peau du trayon et constitue sa première défense. La partie la plus importante est le canal du trayon d'une longueur de 1 centimètre, lequel est généralement fermé. Pendant la traite son diamètre peut atteindre 2 millimètres et il ne se referme qu'au bout de deux heures. de même en début de période sèche un bouchon de kératine se forme lequel permet une étanchéité totale, en moyenne au bout d'une semaine (figure 02) (Remy, 2010).

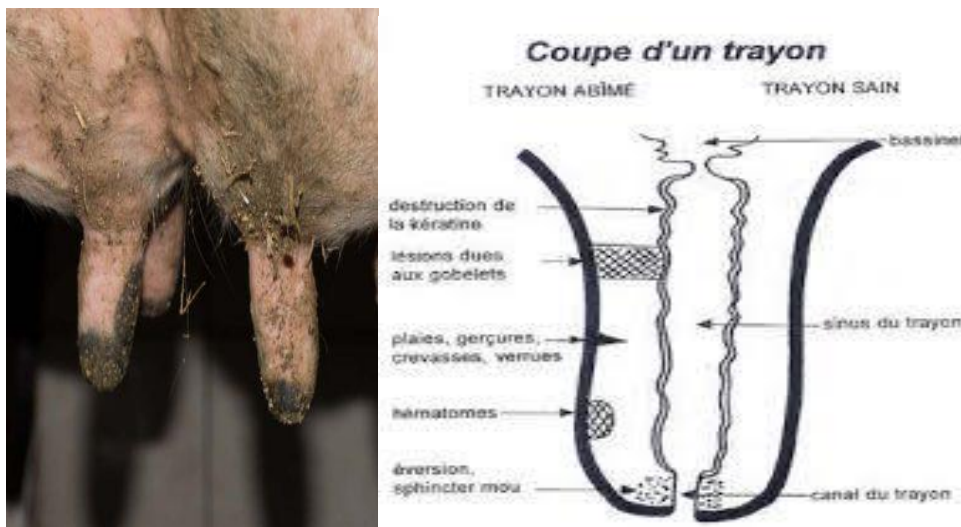


Figure 02 : Les différents structures du canal du trayon (Smith, 2008).

2. Définition d'une mammite

Une mammite est une inflammation qui touche un ou plusieurs quartiers de la mamelle de la vache, elle est provoquée généralement par une infection bactérienne. Les mammites peuvent aussi être causées par des levures comme le *Candida*, des algues microscopiques, elles peuvent aussi apparaître suite à un traumatisme de la mamelle, ou encore suite à des désordres physiologiques, mais ces derniers cas sont beaucoup plus rares. 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 les infections sub-cliniques pour lesquelles les symptômes n'apparaissent pas (Gedilaghine,2005).

3. Différents types de mammites

3.1. Mammites cliniques

Ce sont des infections mammaires avec la présence de symptômes fonctionnels et locaux : on observe une modification du lait dans son aspect, sa texture et dans la quantité produite, ainsi qu'une inflammation du ou des quartiers atteints avec rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur (François et Debreil, 2008) .

3 .1.1. Mammites suraiguës

Elles apparaissent brutalement et évoluent rapidement vers des symptômes de gravité majeures. Pour ce genre de mammites on récupère, lors des traites, un lait généralement aqueux de couleur jaunâtre à rouge foncé, voire purulent et très diminué en quantité (François et Debreil, 2008) .

On remarque que le quartier infecté est souvent congestionné et chaud mais parfois c'est l'inverse, il est totalement flasque et froid. L'état général du bovin est fortement altéré.

avec état de choc, polypnée, hyperthermie ou hypothermie, déshydratation, in rumination évoluant couramment vers le décubitus et la mort de l'animal (François et Debreil, 2008) .

On distingue deux formes de mammites suraiguës :

3.1.1.1. Mammites dites colibacillaires

Ce sont les mammites suraiguës les plus observées. Elles sont dites colibacillaires car souvent causées par une infection à entérobactéries.

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 (François et Debreil, 2008) .

3.1.1.2. Mammites gangréneuses

Ce sont des mammites avec une très forte inflammation du quartier, suivie d'une nécrose (dégât cellulaire) de celui-ci. Le trayon et le quartier deviennent bleutés, noirâtres et froids. Le lait est en faible quantité de couleur rouge foncé à café et contient des gaz d'odeur nauséabonde. Sans traitement, l'évolution vers la mort de l'animal est inévitable. Dans tous les cas, le quartier atteint part en lambeaux durant plusieurs semaines et ne produira plus de lait. *Staphylococcus aureus* et les germes anaérobies (*Clostridium spp*) sont à l'origine de ce type d'infection (François et Debreil, 2008) .

3.1.2. Les mammites aiguës

Ce sont les mammites les plus courantes, elles sont caractérisées par une inflammation du quartier plus ou moins marquée, et une sécrétion de lait modifiée avec présence de petites portions durcies ou caillées de sang ou de lait, les grumeaux. Une hyperthermie (élévation locale ou générale de la température du corps au-dessus de la valeur normale) n'est pas systématique. L'évolution est plus lente, et en l'absence de traitement, une chronicité apparaît avec enkystement des bactéries dans le parenchyme mammaire. On rencontre toutes les espèces bactériennes responsables d'infections mammaires lors d'isolement (François et Debreil, 2008) .

3.1.3. Les mammites chroniques

Elles sont secondaires à une mammite aiguë. La mamelle est modérément enflammée et évolue vers la fibrose (la fibrose survient à la suite d'une destruction substantielle des tissus ou lorsqu'une inflammation a lieu à un endroit où les tissus ne se régénèrent pas, la fibrose est la transformation fibreuse de certains tissus à l'origine d'une augmentation du tissu conjonctif (tissu de soutien et de remplissage).

Tous les germes responsables de mammites peuvent être rencontrés avec une prédominance des Gram positifs (François et Debreil, 2008).

3.2. Les mammites subcliniques

Ce sont des infections mammaires sans symptômes apparents. Le lait n'est pas modifié mais on peut observer toutefois la présence de quelques grumeaux en début de traite, lors des premiers jets.

On n'observe aucune inflammation du quartier. Les germes responsables sont essentiellement Gram positifs, mais on peut aussi rencontrer des mammites subcliniques à entérobactéries.

Ces mammites sont détectées par les examens complémentaires, et surtout par les résultats des comptages cellulaires individuels fournis par la laiterie ou le contrôle laitier.

Elles peuvent résulter d'une infection primaire ou être secondaires à une mammite aigue non totalement guérie d'un point de vue bactériologique. Elles sont beaucoup plus fréquentes que les infections cliniques, plus graves car difficilement détectables (François et Debreil, 2008).

3.3. Mammites d'été

Ces mammites surviennent le plus souvent de juin à septembre au pâturage. Elles touchent fréquemment les vaches tarées et les génisses, même si le terme de leur gestation est éloigné.

Les vaches allaitantes sont également concernées. Les animaux atteints présentent un trayon gonflé et le quartier devient rapidement dur et douloureux. Les sécrétions lactées prennent une consistance épaisse, purulente et dégagent une odeur nauséabonde. Des abcès se développent dans les quartiers atteints et peuvent percer à travers la peau ou vers d'autres quartiers.

Il est possible que la mammite ne devienne apparente qu'après la mise-bas suivante. Dans les cas les plus graves, un avortement peut accompagner le tableau clinique (François et Debreil, 2008).

Le plus souvent, la mammite est due à une bactérie appelée *Arcanobacterium pyogenes*. L'infection est véhiculée par des mouches qui se posent sur les trayons et transmettent le germe aux quartiers. Les plaies sur les quartiers ou les trayons constituent un facteur favorisant (François et Debreil, 2008).

Tableau 01 : Caractéristiques des différents types de mammites (Duval, 2008)

Type de mammite	Symptômes caractéristiques
Clinique aiguë	Inflammation de la mamelle, fièvre de plus de 39 C°, sujet faible et déprimé, manque d'appétit. Rendement laitier baisse drastiquement. Suit souvent le vêlage et, de façon moins grave, le tarissement
Clinique suraiguë	Quartier enflé, chaud, rouge, douloureux. Le lait passe difficilement Fièvre de plus de 41C°, la vache n'a pas d'appétit, frissonne et perd du poids rapidement La lactation est souvent interrompue
Clinique subaiguë	Aucun changement apparent du pis, présence de caillots dans le lait, surtout dans les premiers jets. Sujet bien portant
Infra clinique	Aucun symptôme. 15 à 40 cas pour un cas clinique. Le lait est d'apparence normale. Le seul changement est la détection de l'agent pathogène à l'analyse et l'accroissement du compte somatique. Surtout causée par <i>Staphylococcus aureus</i>
Chronique	Attaques cliniques répétées mais peu fortes, généralement sans fièvre. Lait grumeleux, quartiers enflés parfois. Le quartier peut devenir dur (indurations fibreuses). Les traitements antibiotiques ne fonctionnent souvent pas
Gangréneuse	Le quartier affecté est bleu et froid au toucher. La décoloration progresse du bas vers le haut. Les parties nécrotiques tombent du corps. La vache en meurt souvent
Contagieuse	Mammite provoquée par des bactéries comme <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus agalactiae</i> , dont les vaches infectées sont la source principale.
Environnementale	Mammite provoquée par des bactéries comme les coliformes (<i>E. coli</i> , etc.), dont la source principale est un environnement contaminé le plus souvent par du fumier

4. Origine des mammites

Les mammites sont presque exclusivement d'origine infectieuse exceptionnellement, elles peuvent être dues à des champignons ou à des parasites. Les mammites d'origine chimique ou traumatique sont rares et se compliquent le plus souvent d'une infection mammaire, la dernière cause des mammites est le traumatisme : un choc violent peut entraîner un hématome intra-mammaire mais, le plus souvent, ce sont des traumatismes ou des agressions de la peau du quartier ou du trayon qui sont à l'origine des mammites (Dominique, 2010) .

4.1. Le modèle hexagonal

On définit le modèle hexagonal des acteurs de la maladie : microbisme, éleveur, conduit d'élevage, bâtiment, aliment, animal .

4.1.1. Animal

La sensibilité de la maladie est variable selon les individus et le niveau de production, plus il est élevé, plus, l'animal est sensible. La structure d'une population est également importante , les animaux les plus âgés étant porteurs de plus de germes que les jeunes .il faut donc éviter de loger les veaux à proximité immédiate des stabulations des vaches laitières (Serieys F , Gicquel-Bruneau M , 2005) .

- La propreté du pis (arrière et côtés) Est un indicateur de l'hygiène des logettes et de la litière.
- La propreté des pattes arrière Est un indicateur de l'hygiène des couloirs.
- La propreté des flancs et des cuisses Est un indicateur de l'hygiène des logettes et de la litière.

4.1.2. Les Microbismes

Les germes bactéries et virus et les parasites font partie de l'environnement. Chaque élevage possède sa propre flore, constituée de germes pathogènes ou non .il existe un équilibre entre la flore et les animaux présents. Les effectifs importants et les densités élevées en

bâtiment tendent à concentrer le microbe (Serieys F, Gicquel-Bruneau M, 2005) .

4.1.3. L'alimentation

Des matières premières de mauvaise qualité peuvent contenir des substances toxiques. Une ration déséquilibrée peut provoquer, au mieux un état général insatisfaisant (Animal trop gras trop maigre, fatigué de l'organisme lié à un excès d'azote et ou pire maladies métaboliques et des effets de carence) (Serieys F, Gicquel-Bruneau M, 2005) .

4.1.4. Logement

Le milieu ambiant conditionne le confort des animaux. L'inconfort et la malpropreté sont susceptibles de compromettre leur bon état de santé (Serieys F, Gicquel-Bruneau M, 2005) .

4.1.5. Eleveur et conduite d'élevage

Les compétences de l'éleveur et le sérieux de sa conduite technique jouent un rôle prépondérant dans le maintien d'un bon niveau sanitaire (Levesque, 2004).

La contamination du lait se fait au cours de la traite, par les manchons trayeurs, et les lavettes utilisées pour plusieurs vaches (Institut de l'élevage, 2009).

4.2. Bactéries impliquées dans les mammites

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 (Baudet et Chieze, 1994) .

4.2.1. Agents pathogènes majeurs

Ils sont responsables aussi bien des mammites subcliniques que des mammites cliniques plus moins graves. Par la fréquence, la persistance ou la sévérité des infections qu'ils provoquent, trois espèces bactériennes ont une importance capitale : *Staphylococcus aureus*, des espèces de *Streptococcus* (*agalacties*, *dysgalactiae*, *uberis*) et des

entérobactéries notamment *E. coli*, *Klebsiella sp.* On leur adjoint parfois des agents plus rares comme *Actinomyces pyogènes*, *Bacillus cereus*, *Mycoplasma bovis*, *Nocardia asteroides* (Baudet et Chieze, 1994).

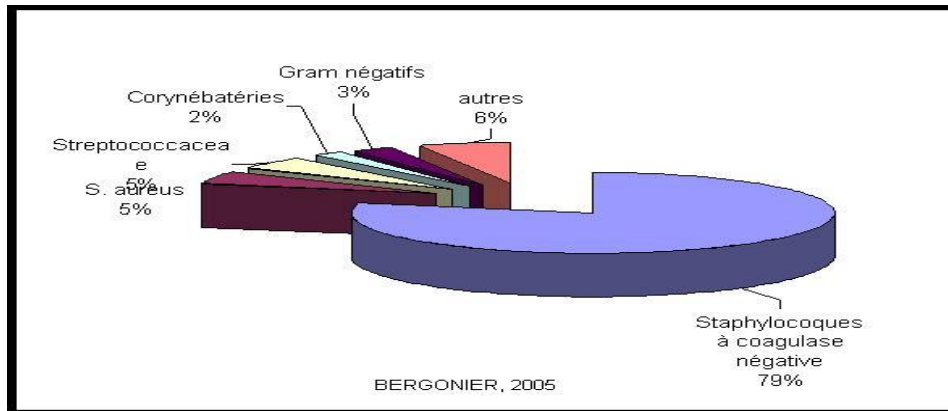


Figure 03 : Proportion de chaque groupe d'agents pathogènes isolés lors de mammites sub cliniques (Bendiab .N , 2012).

4.2.2. Agents pathogènes mineurs

Ils entraînent le plus souvent une réaction modérée de la mamelle, se comportant à la limite entre les agents saprophytes et les agents pathogènes. Cependant ,ils peuvent être parfois à l'origine de mammites cliniques aiguës; il s'agit, en particulier, parmi les plus fréquents, des staphylocoques à coagulase négative, *Micrococcus varians*, *Actinomyces pyogènes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella hemolytica*, *Corynébactérium bovis*, divers *Bacillus*, *Cryptococcus neoformans* et des levures (Bouchot *et al* 1985).

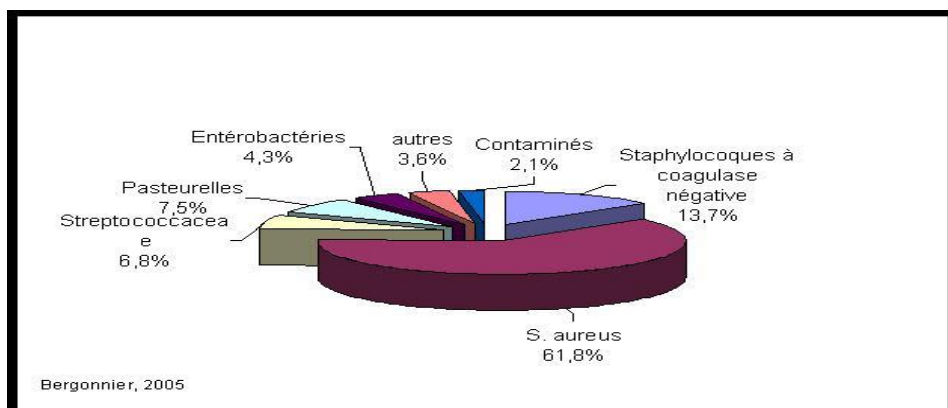


Figure 04 : Germes responsables de la mammites clinique(Bendiab. N , 2012) .

5. Principaux germes responsables de l'infection inframammaire

Comme de nombreuses autres maladies des animaux agricoles, les mammites sont ce qu'on appelle des maladies multifactorielles car elles sont toujours déclenchées par plusieurs facteurs. Chez la vache laitière, on sait d'expérience que les conditions d'élevage, l'alimentation, la technique de traite, la technologie de traite et les relations avec les personnes qui s'en occupent sont les facteurs qui exercent la plus grande influence (Steeneveld W, *et al*, 2011) .

La formation des mammites est généralement due à l'entrée de bactéries dans la mamelle. Il est cependant rare qu'il n'y ait qu'un seul agent pathogène dans une ferme. Il y a souvent des germes principaux que les vaches attrapent fréquemment et qui peuvent fournir des informations précieuses sur les causes. On distingue fondamentalement entre les microbes qui se transmettent d'une bête à l'autre (microbes associés aux vaches; transmission surtout par les griffes des machines à traire) et ceux qui passent dans la mamelle depuis l'environnement (microbes environnementaux; transmission via la paille) (Steeneveld W. *et al*, 2011) .

5.1 . Bactéries

La majorité des mammites sont d'origine bactérienne. Il est décrit plus de 200 espèces bactériennes différentes provoquant des mammites chez les bovins. Elles sont classées dans les catégories poly- ou monoclonale suivant le nombre de souches d'une même espèce présente dans l'élevage (Roy J-P, Schmitt E. 2014) .

5.1.1. Germes environnementaux

Ces germes proviennent de l'environnement des animaux (étable, prés, fourrage, paille, fumier, etc.). Dans certaines circonstances et notamment durant l'intervalle entre les traites, ils peuvent s'introduire dans le pis, s'y multiplier et causer une mammite (Poutrel B, 1985) .

Font partie des germes environnementaux : *Staphylococcus sp.* (sans *Staph.aureus* , *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes* et *Peptostreptococcus indolicus*, *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium bovis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Enterococcus*, *Klebsiella sp.* et *Serratia marcescens*

5.1.1.1. *Staphylocoque*

Les *staphylocoques* comprennent plusieurs espèces différenciables suivant la coloration à laquelle elles répondent dans leur milieu de culture sur agar (figure 05) (Djelouat , 2009).

Ce sont : Les *staphylocoque aureus* , les *staphylocoques épidermidis* (*staphylocoque blanc*) et les *staphylocoque saprophyticus* .

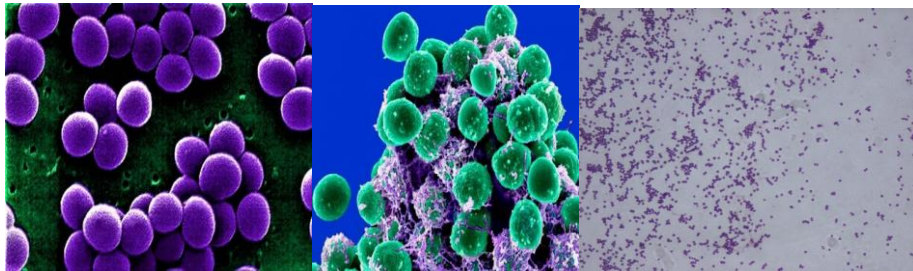


Figure 05: Différentes espèces de *staphylococcus* (Bockaert , 2017).

C'est un germe environnemental présent sur la peau du pis, la peau et la muqueuse saines ainsi qu'aux alentours des étables. Le *Staphylococcus sp.* (groupe comprenant tous les staphylocoques à l'exception de *S.aureus*) sont les bactéries le plus fréquemment détectés dans les échantillons de lait. Ils ne peuvent causer une mammite qu'en moyenne ou grande quantité (++ ou +++) mais cause la plus fréquente de mammites chez les primipares au début de la lactation (Van L, 2007).

5.1.1.2. *Escherichia coli*

Bactérie communément appelée colibacille. C'est une bactérie fécale très commune chez l'être humain et généralement commensal. Certaines souches peuvent être ou devenir pathogènes et vont alors

entraîner des gastro-entérites, des infections urinaires, des méningites et même des septicémies (Djelouat , 2009) .

E coli habitat est constitué par le logement des animaux , c'est une espèce peu contagieuse de risque de contaminer un animal sain a partir d'un animal infecté est exceptionnel. Il existe deux catégories de souches (Djelouat 2009) .

- Des souches environnementales qui s'installent pendant la lactation elle se traduisent 9fois sur 10 par des mammites cliniques.
- Des souches « mammaires » qui s'implantent pendant la période sèche avec une expression clinique peu sévère(mammite clinique subaiguë) , voire nulle (subclinique) .

5.1.1.3. *Streptococcus uberis*

Il s'agit d'un germe ubiquitaire . il est présent sur la peau et les trayon de la mamelle ,le pelage les naseaux ,la cavité buccale et l'intestin ainsi que dans que dans les vois génitales . ce germe peut mémé contaminer des prairies à forte densité et « surpâturées » comme par exemple ,les parcs réservés aux vaches tarées dans les élevages hors-sol.il est responsable de la majorité des mammites dans les pays ou l'élevage extensif domine.

Lorsque les animaux se contaminent au contact de l'environnement en particulier de la laitière . au contraire ,lorsque les mamelle d'autre vache se contaminent a partir d'un animal infecté ,li s'agit de souches Oligo-clonales cas ce sont des souches de la même espèces qui vont se transmettre de vache à vache (Djabri *et al* , 2002).

5.1.1.4 .*Corynebacterium bovis* (C. bovis)

Ce germe environnemental est présent dans le sol et constituant un élément de la flore du canal du trayon. Son évolution est généralement subclinique caractérisée par une augmentation le plus souvent modérée du nombre de cellules, mais pouvant exceptionnellement être forte. Les guérisons spontanées fréquentes (Serieys F 2008)

5.1.1.5. *Streptococcus dysgalactiae* (*Str. dysgalactiae*)

Germe environnemental parfois considéré comme contagieux, présent sur la peau et le pis, où il peut manifestement survivre relativement longtemps. Il est susceptible de se transmettre également pendant la traite. Il est responsable de mammite généralement chronique et subclinique, il est facile à traiter (peu de résistance à la pénicilline) (Djabri *et al.* 2002).

5.1.1.6. *Enterococcus sp. (incl. faecalis et faecium)*

Germe environnemental, présent dans l'ensilage et le fourrage frais ainsi que dans le fumier. Entraîne des mammites souvent subcliniques caractérisées par une augmentation marquée du nombre de cellules (>500 000/ml) et une évolution chronique. Il est le plus souvent lié à une hygiène insuffisante de l'étable, il est généralement difficile à soigner (Smith B, 2008).

5.1.1.7. *Klebsiella sp. (incl. oxytoca et pneumonia)*

Germe environnemental, il est présent habituellement dans le sol. Il entraîne des mammites cliniques aiguës et subcliniques chroniques. Les vaches atteintes de *Klebsiella* propagent les bactéries dans leur environnement par le lait qui s'écoule et le fumier. Le risque de production, par les bactéries, de toxines pouvant se traduire par les symptômes classiques d'un quartier en cas de mammite aiguë (Billon P, *et al.*, 2004).

5.1.1.8. *Serratia marcescens* (*S. marcescens*)

Germe environnemental, généralement subclinique à évolution chronique. La présence fréquente de *Serratia marcescens* dans le sol, les plantes et le fourrage (Djabri *et al.* 2002).

5.1.1.9. *Arcanobacterium pyogenes* et *Peptostreptococcus indolicus* (*A. pyogenes* et *P. indolicus*)

Germe environnemental, présent dans les plaies infectées, les abcès, les pis infectés et l'environnement, de prédominance de mammites chroniques caractérisées par une tendance à la formation d'abcès.

Egalement appelée mammite estivale, transmise directement d'un animal à l'autre par des mouches (Remy D , 2007 et Smith B ,2008)

5.1.1.10. Facteurs favorisant une mammite d'origine environnementale

Hygiène insuffisante dans l'étable, ce qui augmente la charge bactérienne et donc le risque d'infection du pis :

- Les dimensions des litières ou des boxes ne sont pas adaptées aux animaux dont les pis se salissent davantage, d'où un risque accru de blessures aux trayons .

- Le manque d'espace et le surpeuplement augmentent la charge bactérienne et affaiblissent le système immunitaire des animaux.

- En raison d'une mauvaise aération, le climat chaud et humide favorise la croissance des germes et augmente la charge bactérienne

- Dysfonctionnement des installations de traite : les variations du vide

de traite notamment, un vide de traite excessif et une cadence incorrecte des impulsions font souffrir les extrémités des trayons et entravent la fonction de barrière naturelle du sphincter.

- Exécution déficiente de la traite :

- Elimination du premier lait après amouillage : le lait riche en germes

n'est pas éliminé correctement et peut se répandre par contact risquant ainsi de contaminer le pis.

- Le nettoyage insuffisant du trayon augmente la charge bactérienne dans les outils de traite, d'où un risque accru d'infection.

- Un temps d'amouillage insuffisant augmente le risque de traite à vide en absence de descente du lait, ceci entravant la fonction canal du trayon.

L'irruption d'air lors de l'application des manchons trayeurs peut induire une fluctuation du vide de traite et donc avoir un effet spray sur le trayon. Le décrochage tardif des gobelets entraîner une traite à vide et entrave la fonction du canal du trayon. (Remy D, 2007, Smith B, 2008) .

5.1.2 .Germes contagieux

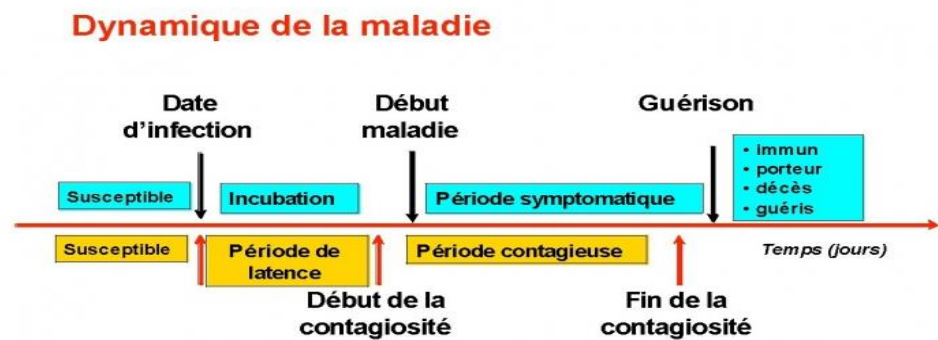
Ces germes proviennent des pis d'animaux infectés.

Parfaitement adaptées à la vache, ces bactéries peuvent se propager très rapidement dans le pis alors même qu'un petit nombre suffit à provoquer une mammite.

Les germes contagieux peuvent aussi infecter des animaux jouissant d'un système immunitaire intact dans un environnement sain.

Ces germes présentent un fort risque de propagation. Le cas échéant, il convient de prendre contact au plus vite avec le vétérinaire.

Font partie des germes contagieux : *Staphylococcus aureus*, • *Streptococcus agalactiae* et *Mycoplasma bovis*.



Dynamique de la contagiosité

Figure 06: Dynamique de la infection contagiosité (Didier Fontenille Christophe Lagneau Sylvie Lecollinet *et al.*2009).

5.1.2.1. *Staphylococcus aureus* (*Staph.aureus*)

Germe contagieux, présent sur le pis, la peau et les muqueuses, il a un fort risque de propagation par la voie de la trayeuse et les mains du trayeur et par l'introduction dans le troupeau par des animaux infectés .

Sécrétion irrégulière des germes : Pas toujours identifiable dans le cadre de l'analyse de routine de la culture microbienne. L'analyse PCR présente un taux très élevé d'identification dans l'échantillon..

L'efficacité du traitement sera d'autant plus grande que la vache est jeune, que la détection du germe est précoce (au début de la lactation) et que l'animal est traité rapidement.

Elle diminue donc avec l'âge de l'animal. Résistance possible à la pénicilline (environ 20%) (Remy 2010) .

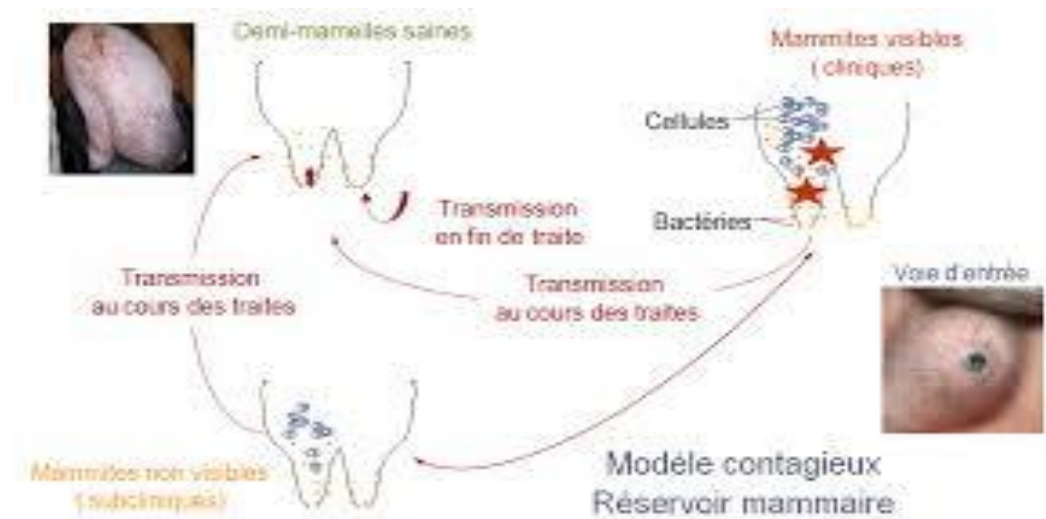


Figure 07 : Réservoirs et transmission des *S. aureus* (Renée 2012).

5.1.2.2 . *Streptococcus agalactiae* (*Str. agalactiae*)

- Germe contagieux ,très forte capacité de transmission du germe
- Survie brève en dehors de la glande mammaire
- Transmission via la trayeuse, les mains du trayeur, les veaux qui têtent, etc.
- Généralement infections subcliniques présentant des épisodes aigus.
- Simple à diagnostiquer à l'aide d'un échantillon
- Facile à traiter , Devenu rare en Suisse (O'halloran F. *et al.* 2016) .

5.1.2.3. Autres bactéri

D'autres bactéries peuvent être responsable de mammites : les mycoplasmes (*Mycoplasma bovis*), les brucelles (*Brucella bovis*) et les mycobactéries (*Mycobacterium bovis*) .

Les principales sources de contamination sont les sécrétions des animaux

porteurs (nasales, vaginales, lait, ...) (Rechidi-Sidhoum *et al.*, 2018) et peuvent responsables également d'autres maladies chez l'animal (Remy, 2010).

La transmission se fait pendant la traite, entre les animaux du troupeau qui peuvent être infecté en quelques semaines .

Ces germes contagieux peuvent se propager par les voies suivantes : la trayeuse, les mains du trayeur, la vaporisation de lait contre le trayon par les gobelets trayeurs et la concentration insuffisante de la solution de trempage des trayons(Remy, 2010).

5.2. Levures, champignons et algues

Les levures (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*), champignons (*Aspergillus fumigatus*) et algues (*Prototheca zopfii*) responsables de mammites sont des agents pathogènes mineurs. Ils représentaient moins de 2% des isolats dans l'étude de (Bidaud *et al.*, 2010) .

Ce sont des agents naturellement présents dans l'environnement, ils sont présents sur les plantes, dans la terre et l'eau. L'humidité est un facteur favorisant leur développement et entraînent des mammites cliniques de sévérité moyenne . Les sources de contamination sont souvent des litières humides et/ou moisies (Bidaud *et al.* , 2010).

Les algues (*Prototheca zopfii*) provoquent des mammites subcliniques ou cliniques aiguës avec une forte augmentation des taux cellulaires et une importante baisse de la production laitière (Remy, 2010).

6. Influence de la mammite

6.1. Sur la morphologie de la glande mammaire et du trayon

Les examens échographiques nous permettent de mettre en évidence l'inflammation de la glande mammaire et du trayon au cours d'une mammite. En effet au niveau de la glande mammaire, on observe l'apparition d'une zone d'inflammation, faiblement échogène, entre la peau et la glande. Dans certains cas, cette zone sombre est aussi accompagnée d'une zone liquidienne noire, représentant un œdème.

Ici, le parenchyme de la glande a retrouvé son aspect initial normal après le traitement antibiotique et la fin de l'épisode mammite). Au niveau du trayon, la mammite se traduit ici par un épaissement de la paroi donc une réduction du volume de la citerne .Il est fréquent que la citerne soit remplie de cailles, qui ont ici formé un bouchon obstruant l'extrémité du canal du trayon. Après la mammite, le trayon a récupéré une citerne d'un

volume équivalent à celui d'avant l'épisode pathologique ce qui n'est pas toujours le cas (Renc Rech, R, 2013).

6.2. Sur la Composition du lait

La composition du lait normal subit de nombreuses influences telles que celles de la saison, de la race, de facteurs héréditaires et individuels, de l'alimentation, des soins, etc., mais la fraction la plus variable serait la teneur en matières grasses, puis viendraient la fraction de caséine et les autres protéines du lait. Le lactose et les sels figurent à l'extrémité de la série. Selon le degré de gravité de la mammite, on obtient un lait plus ou moins modifié. Le changement de composition peut varier d'une modification à peine perceptible à une modification aisément visible, avec toute une échelle de possibilités intermédiaires. Les modifications de la composition du lait seraient la conséquence du fait que la transformation d'éléments du sang en éléments normaux du lait est troublée (Schott G , 1966).

6.3. Sur la qualité des produits laitiers

La fabrication de produits laitiers de qualité exige un lait de qualité. On peut supposer que la sécrétion produite par les animaux atteints de mammite aiguë n'est pas livrée à la laiterie, mais tous les autres laits de mammite le sont.

a. Lait de consommation

Le lait contenant des flocons, du pus ou du sang est impropre à la consommation, tout comme le lait colostrale, le lait anormal peut causer des difficultés lors de la pasteurisation. Dans les cas d'inflammation catarrhale du pis, le lait manifeste des modifications de composition fort comparables à celles du lait de vaches en fin de lactation. Le lait a un goût amer lorsqu'on ne met en consommation que du lait de mammite ou un lait de mélange qui en contient une part considérable. Lors de pasteurisation, de stérilisation ou d'upérisation il n'y a pas de danger que lors du traitement de lait de mammite, il se produise une coagulation du fait de la plus faible stabilité à la chaleur.

b. Fromage

Les publications traitant du problème de l'influence du lait de mammite sur la qualité du fromage ont été relativement peu nombreuses ces dernières années . on sait tout de même le lait de mammite subclinique est à l'origine d'altérations en industrie fromagère (Dahou 2017).

7. Importance des mammites bovines

7.1. Importance médicale

Les mammites suraigües peuvent causer la perte de l'animal ou tout du moins du quartier atteint. Les mammites subcliniques sont souvent difficilement curables et entraînent la réforme de l'animal et son abattage précoce. Les mammites aiguës et suraigües altèrent. L'état général de l'animal, peuvent intervenir comme facteurs prédisposant à d'autres maladies de la vache laitière, secondaires au passage du germe dans la voie sanguine. 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) (Debreil, 2008).

7.2. Importance sanitaire

Le lait de mammite clinique n'est pas commercialisé mais celui des infections subcliniques peut entrer dans la production de fromage, lait et autres produits laitiers .

La contamination de ceux-ci par certains germes (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* , *brucella* et *Salmonella*) peut être responsable de toxi-infections alimentaires en l'absence de pasteurisation (Debreil, 2008 ; Rechidi-Sidhoum.N. 2019).

7.3. Importance économique

Les infections mammaires en élevage bovin laitier sont la principale cause, loin devant la reproduction, de pertes économiques pour des raisons sanitaires : lait non produit non commercialisé, moindre paiement, du lait pour qualité cellulaire insuffisante, réforme des vaches non soignables, coûts des traitements et temps passé à les exécuter (Debreil, 2008) .

Chapitre II
Diagnostic des
Infections mammaires

1. Méthodes de Diagnostic

1.1. Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique des mammites est certes important au niveau individuel, mais encore plus au niveau du troupeau afin d'établir le modèle épidémiologique de mammites de l'élevage. L'examen de la mamelle et du lait doit permettre un dépistage simple et efficace des mammites cliniques. Une détection précoce améliore les chances de guérison par la mise en place d'un traitement précoce adapté. Les mammites subcliniques ne peuvent pas être détectées par la clinique puisqu'elles n'entraînent des modifications ni du lait ni de la mamelle et que les animaux atteints ne présentent pas de signes généraux associés (Durel *et al.*, 2004).

1.1.1. Examen clinique de la mamelle

Cet examen de la mamelle peut se faire lors de la traite quotidiennement ou mieux à chaque traite mais également dans d'autres occasions (au tarissement, après le vêlage, etc.). C'est évidemment moins simple à préconiser dans les élevages disposant de robots de traite. Il s'agit d'évaluer la mamelle et ses annexes (nœuds lymphatiques rétro mammaires, vaisseaux) (Durel *et al.*, 2004).

Il faut observer les différents quartiers les uns par rapport aux autres afin de déceler une anomalie de symétrie (atrophie, hypertrophie), de volume, de couleur (congestion, un hématome) ou des excroissances cutanées (verrues)

L'examen des trayons permet de voir les éventuels effets délétères induits par la méthode de traite ou la machine à traire. Le type de lésion renseigne sur la durée de la contrainte. (Durel *et al.*, 2004).

Après un examen visuel approfondi, vient la palpation intégrale de la mamelle puis la palpation individuelle de chaque quartier. Le but est d'identifier une zone de chaleur signalant une inflammation, un œdème, une induration marquant une fibrose du parenchyme mammaire, la présence de nodules, une douleur, etc. Les nœuds lymphatiques rétromammaires doivent aussi être palpés, leur augmentation de taille révèle une adénite et donc une atteinte de la mamelle du côté concerné par cette adénite (Durel *et al.*, 2004).

Tableau 02 : Palpation de la mamelle et affection correspondante (Taponen S, Pyorala S, 2007)

Signes cliniques	Affection
Mobilité de la peau diminuée	OEdème, mammite aiguë, tissu cicatriciel
Empreinte persistante sur la peau	OEdème, mammite aiguë
Canal du trayon épaissi, dur	Hyperkératose, tissu cicatriciel, inflammation du trayon
Excroissance tissulaire dans le trayon ou dans la citerne	Inflammation du trayon, hyperplasie, inflammation chronique
Asymétrie des quartiers	Atrophie, mammite aiguë, hématome
Nodules dans le tissu glandulaire	Anciens processus inflammatoires, abcès, hématomes
Indurations, cordes dans le tissu glandulaire	Mammite chronique
Adénomégalie	Mammite grave, abcès d'enkystement, leucose, tuberculose

1.1.2. Examen de la sécrétion lactée

Cet examen consiste à évaluer la qualité (couleur, odeur, consistance, viscosité et homogénéité) et la quantité de la sécrétion de la mamelle : le lait. Le lait sain est blanc et homogène. Il peut se colorer en jaune durant la phase colostrale ou en fin de lactation lorsqu'il est riche en matières grasses ou que la production est faible (Durel *et al.*, 2004).

Une teinte rosée à rouge vif est présente en cas d'hémolactation ou d'hématome. Les mammites induisent une modification de la couleur du lait allant du jaune (associé à la présence aussi de bulles d'où un aspect de « bière » ou de « cidre » (pour les mammites à entérobactéries) au rouge sombre (pour les mammites gangréneuses). L'odeur caractéristique du lait frais est altérée lors de mammite. Elle devient aigre-douce lorsqu'elle est due à des bactéries anaérobies, acidulée et fruitée pour des mammites à entérobactéries, d'« œuf pourri » (nauséabond) en cas de mammites due à des bactéries pyogènes. L'homogénéité disparaît en cas de mammite. Du pus ou des grumeaux (caillots, ...) sont observés dans le lait, ils sont surtout visibles en début de traite. L'observation de ces grumeaux est facilitée sur un fond sombre d'où l'utilisation d'un bol à fond noir pour l'examen des premiers jets. La quantité de lait produite est en rapport avec la santé de la mamelle mais aussi de l'état général de l'animal. La baisse de production laitière est

observable aussi bien dans les mammites subcliniques que dans les mammites cliniques, l'ampleur de la baisse dépendant de l'agent pathogène. La chute de production est plus importante lors d'infections aiguës que lors d'infections subcliniques. La reprise de la production laitière est un signe important de la guérison clinique (Durel *et al* , 2004) .

1.1.3. L'examen clinique général

Un examen clinique général complet de l'animal est nécessaire à chaque découverte de mammite clinique .

Cela permet d'évaluer l'animal, de préciser le diagnostic, et d'envisager un pronostic. La prise de température est le premier geste à faire. Il faut en parallèle estimer la déshydratation de l'animal et vérifier l'absence d'un état de choc en recherchant notamment les éléments suivants : hypothermie, abattement, augmentation du temps de recoloration capillaire, etc (Fogsgaard KK, 2015) .

1.1.4. Gradation des mammites

Une gradation des mammites fondée sur un certain nombre de critères cliniques objectifs permet d'appréhender la sévérité de celles-ci et d'envisager un pronostic . Une mammite clinique comprenant seulement une augmentation de la concentration en cellules somatiques individuelle et des modifications du lait est considérée comme faiblement sévère et de grade 1. Le grade 2 correspond aux mammites cliniques modérément sévères dans lesquelles le quartier apparaît modifié. Le dernier grade est attribué aux mammites sévères avec une atteinte de l'état général (Fogsgaard *et al.*, 2015).

1.2. Comptage cellulaire

Le comptage cellulaire est un outil diagnostique à la fois individuel et de troupeau. Il permet de mettre en évidence les mammites subcliniques et cliniques. En étudiant les résultats de ces comptages, le vétérinaire peut définir le modèle épidémiologique principal auquel il est confronté. Le comptage cellulaire peut être réalisé par un organisme indépendant de l'élevage (contrôle laitier) ou par le robot de traite (Fogsgaard *et al* , 2015).

1.2.1. Concentration cellulaire somatique individuelle (CCSI) et concentration cellulaire somatique de tank (CCST) Les concentrations cellulaires somatiques individuelles (CCSI.) et de tank (CCST)

Sont mesurées dans la majorité des élevages par le Contrôle Laitier. Elles peuvent également être mesurées sur demande par la laiterie pour les éleveurs non adhérents au contrôle laitier. Chaque mois, le technicien du Contrôle laitier prélève le lait des quatre

quartiers de chaque vache en lactation et l'envoi au laboratoire pour analyse afin de déterminer la qualité du lait et son prix.

Il évalue à l'occasion de son contrôle la qualité du lait (taux butyreux, taux protéique), la quantité de lait produite, et la CCSI. Le lait de tank est analysé au minimum deux fois par mois.

Les cellules dont la présence est ainsi évaluée dans le lait sont les macrophages, les leucocytes, et les cellules épithéliales. Seuls les leucocytes font varier significativement la concentration et sont le signe d'une infection. Entre deux traites et au cours de la lactation, la CCSI varie. Deux résultats de CCSI éloignés de plusieurs mois ne sont pas interprétables. La CCSI est réalisée sur le mélange de lait des quatre quartiers, le taux cellulaire du quartier infecté est donc dilué par les quartiers sains. De même, une CCSI élevée peut persister après la guérison bactériologique. (Bosquet *et al.*, 2004).

Les CCSI doivent être réalisés tous les mois car leur interprétation se fait par comparaison aux mois précédents afin de noter les augmentations importantes signalant une infection et de positionner les résultats de la vache par rapport à des valeurs seuils. L'analyse mensuelle des CCSI ne permet pas de détecter les augmentations dues à des infections de courte durée inférieures à un mois. (Bosquet *et al.*, 2004).

Une vache ayant un ou plusieurs résultats mensuels de CCSI supérieurs à 800 000 cell/mL est considérée comme « infectée ». En dessous de 300 000 cell/mL, la vache est considérée comme « non infectée ». Il est possible de considérer une vache comme saine avec une CCSI inférieure à 100 000 cell/mL voire à 25 000 cell/mL (Durel *et al.*, 2004).

Les résultats de CCSI compris entre 300 000 et 800 000 cell/mL sont considérés comme douteux. Lorsqu'un quartier est infecté subcliniquement par une bactérie de type contagieux, le résultat du CCSI est compris entre 200 000 et plus de 10 000 000 cell/mL (Lepage P, 2003).

En conclusion, si une CCSI élevée permet de suspecter une infection, une CCSI basse ne permet pas de conclure à une absence d'infection.

Les résultats des CCSI permettent d'identifier les vaches qui sont infectées durablement par des agents pathogènes majeurs (Bosquet *et al.*, 2005).

Les autres vaches, celles qui ne sont pas infectées par des agents pathogènes majeurs, soit sont non infectées, soit sont infectées par un pathogène mineur, soit sont infectées par un pathogène majeur pendant une courte période. (Bosquet *et al.*, 2005).

Les résultats des CCSI sont souvent un moyen de sélection des animaux à surveiller et à examiner pour l'éleveur et le vétérinaire. Ils interviennent dans le diagnostic individuel des mammites subcliniques et cliniques, à condition de les interpréter par rapport aux résultats précédents. C'est un des critères d'alerte signalant un problème de mammites dans l'élevage (Bosquet *et al.*, 2005).

Les résultats des CCSI sont un des critères orientant vers un des modèles épidémiologiques : contagieux, environnemental, mixte Les seuils présentés dans le tableau 8 servent à la fois d'objectifs à atteindre pour l'éleveur mais aussi de seuils Les seuils présentés dans le tableau 8 servent à la fois d'objectifs à atteindre pour l'éleveur mais aussi de seuils d'alerte pour identifier les animaux à examiner et/ou surveille (Bosquet *et al.*, 2005).

1.2.2. California mastitis test (CMT)

1.2.2.1. Définition

Dans plusieurs pays (24), reste le meilleur test réalisable chez les femelles laitières pour détecter les mammites. est un simple indicateur côté vache du nombre de cellules somatiques du lait . Il fonctionne en perturbant la membrane cellulaire de toutes les cellules présentes dans l'échantillon de lait, permettant à l' ADN de ces cellules de réagir avec le réactif de test, formant un gel Il fournit une technique utile pour détecter les cas subcliniques de mammite .

Le California Mastitis Test (CMT), utilisé depuis plus de 40 ans dans plusieurs pays (24), reste le meilleur femelles laitières pour le mammites être réalisé par l'éleveur et de fournir une. En effet, le CMT constitue une méthode de choix les éleveurs et les vétérinaires pour préciser le statut des vaches vis-à- cet n'est pratiqué systématiquement dans les élevages, vraisemblablement par méconnaissance de la valeur du tes. (Fogsgaard K.K. *et al.* 2012).

1.2.2.2 Utilisation

Une palette en plastique à quatre puits est utilisée, un puits étant utilisé pour chaque quart de la vache à tester. Le lait maternel est jeté, puis un peu de lait aspiré dans chaque puits. Un volume égal de réactif de test est ajouté puis l'échantillon est agité doucement.

La réaction est notée sur une échelle de 0 (le mélange restant inchangé) à 3 (formation d'un gel presque solide), un score de 2 ou 3 étant considéré comme un résultat positif. Ce résultat n'est pas un résultat numérique mais indique si le nombre de cellules est

élevé ou faible; le CMT ne montrera que les changements dans le nombre de cellules au-dessus de 300 000.

L'avantage de la CMT par rapport aux résultats du comptage individuel des cellules de vache est qu'elle évalue le niveau d'infection des quartiers individuels plutôt que de fournir un résultat global de la mamelle, permettant d'identifier le ou les quartiers problématiques. Il fournit également un résultat «en temps réel»; les tests en laboratoire fournissent un résultat historique, car le retour des résultats de laboratoire peut prendre des jours.

Un réactif spécial pour le test est vendu sous le nom de «test CMT», mais les détergents domestiques («liquide vaisselle») peuvent généralement être remplacés, étant moins chers et plus facilement disponibles. (Ferrouiller et *al.*, 2004).



Figure 08 : Méthodes de CMT pour détecter la infection mammaire dans un quartier
(Anses. 2017)

1.2.2.3. Interprétation des résultats

Le réactif CMT réagit avec les globules blancs et le mélange s'épaissit ou se gélifie proportionnellement à la quantité d'infection présente. Pour devenir précis et cohérent, pratiquez ce test sur des vaches avec un SCC connu .

Tableau 03. Grille d'interprétation de CMT (Lepage, 2003),

Score CMT	Compte somatique moyen (cellules/ml)	Description de la réaction
N (négatif)	100 000	Pas d'épaississement, homogène.
T (trace)	300 000	Léger épaississement. La réaction disparaît en 10 secondes.
1	900 000	Épaississement distinct, pas de formation de gel.
2	2 700 000	Épaissit immédiatement, commence à gélifier, nivelle au fond de la tasse.
3	8 100 000	Le gel se forme, la surface s'élève, avec un pic central au-dessus de la masse.



Figure 09 : Interprétation de test CMT (Remy, 2010).

Le CMT est basé sur l'action d'un détergent (solution de Teepol à 10%) et d'un colorant (poupre de bromocrésol). Le détergent provoque la lyse des cellules du lait par la destruction de leur paroi. L'ADN est libéré, il forme un réseau de très longs filaments qui s'opposent aux écoulements hydrodynamiques et qui piègent les globules gras. Ce réseau augmente la viscosité du lait jusqu'à flocculer. Plus la concentration cellulaire est élevée, plus la quantité d'ADN libéré est élevée et plus le flocculat sera important.

Le colorant change de couleur en fonction du pH. Le lait sain a un pH compris entre 6,5 et 6,7.

En cas de mammite, le pH devient plus alcalin et s'approche de 7. Le colorant est incolore à gris pour des pH allant de 5,2 à 6,8 et devient violet quand le pH est supérieur à 6,8 donc en cas de mammite (Durel *et al.*, 2004).

La corrélation entre les résultats du test CMT et le comptage cellulaire est meilleur pour de fort taux cellulaires Il convient d'interpréter avec précaution des résultats douteux ou négatifs. Un test CMT négatif ne permet pas de conclure à une absence d'infection. L'interprétation du test dépend de la subjectivité de l'opérateur et de son expérience. Des variations physiologiques du lait peuvent fausser le test surtout en début et en fin de lactation où des colorations violacées sont normales. Le test CMT est facile et simple d'utilisation en routine. Il permet de détecter les mammites subcliniques et d'identifier le(s) quartier(s) atteint(s) lors d'une augmentation de la concentration en cellules somatiques. En cas de doute, la répétition du test améliore l'interprétation (Durel *et al.*, 2004).

1.2.3. Mesure de conductivité du lait

La conductivité du lait est basée sur la capacité du lait à conduire le courant électrique. Le lait contient plusieurs ions (ou électrolytes) : du chlore, du sodium et du potassium responsables de cette conductivité du courant électrique. Au cours de la lactation, la concentration en ions et le taux butyreux évoluent de manière physiologique. La conductivité est élevée dans le colostrum puis elle diminue pour ré-augmenter en fin de lactation suivant la concentration en ions et le taux butyreux.

Lors d'une infection, la perméabilité des capillaires sanguins est augmentée, les jonctions serrées entre les lactocytes disparaissent de manière plus ou moins importante et les systèmes de pompage des ions sont donc altérés. L'ensemble de ces modifications va conduire à une baisse du lactose et du potassium dans le lait et à l'augmentation compensatoire du chlore et du sodium pour assurer un équilibre osmotique. La teneur en chlorures du lait est ainsi proportionnelle au degré d'infection (Durel *et al.*, 2004).

Pour interpréter ces résultats de conductivité, il faut prendre en compte les nombreuses sources de variations : la race de l'animal, le stade de lactation, l'alimentation et la technique de traite. Les agents pathogènes responsables d'une inflammation importante provoquent des augmentations importantes de conductivité, supérieures à 50 %

pour les mammites cliniques et à 20 % pour les mammites subcliniques (Durel *et al.*, 2004).

Une bonne connaissance du système de mesure est nécessaire pour interpréter les résultats face à la diversité de systèmes existants, et face à leurs qualités (sensibilité et spécificité) très différentes. L'augmentation de la conductivité est mesurable avant l'apparition des premiers signes cliniques. Elle apparaît en même temps que l'augmentation des CCSI (Durel *et al.*, 2004).

D'autres méthodes peuvent mettre en évidence une inflammation mammaire au niveau d'un robot de traite (Bosquet et al, 2013) :

– la colorimétrie : elle se base sur la variation colorimétrique du lait lors d'inflammation induite par le passage de pigments provenant du sang.

– la concentration en enzymes : l'inflammation provoque l'augmentation de la concentration en enzymes, lactate déshydrogénase (ldh) ou n-acétyl-glucose-aminidase (NAGase), produites par les polynucléaires neutrophiles et les cellules épithéliales endommagées.

– la concentration en lactose mesurée par spectrophotométrie infrarouge : sa diminution indique une augmentation de la perméabilité de l'épithélium sécrétoire

. – une mesure directe de la CCSI. Pour toutes ces méthodes, il faut être vigilant quant à l'interprétation des résultats. Les paramètres d'analyses doivent être correctement réglés et les seuils judicieusement choisis afin d'éviter les fausses alertes.

1.3. Modèle épidémiologique

L'identification du modèle épidémiologique des mammites d'un troupeau permet de s'adapter à la situation de l'élevage et d'orienter les mesures préventives et curatives vers les agents pathogènes identifiés. Dans cette approche, il existe trois modèles : le modèle contagieux où la transmission se fait de vache à vache, le modèle environnemental où la transmission se fait entre l'environnement et la vache, et le modèle mixte qui comprend les deux modes de transmission (Durel *et al*, 2004 , Ferrouiller *et al.*, 2004).

Ces modèles épidémiologiques orientent le diagnostic vers une suspicion d'un type de bactéries probablement impliquées, alors que la bactérie réellement en cause n'a pas encore été et ou ne sera pas identifiée. Ils se basent sur la prévalence, l'incidence, les CCSI, etc. habituellement rencontrés lors de mammites déclenchées par des agents pathogènes « répondant » à ces modèles Ils nécessitent donc une étude des documents d'élevage afin de

déterminer le contexte épidémiologique dominant de l'élevage. Le but est d'adapter les traitements et les mesures préventives à la situation vécue par le troupeau concerné (Durel *et al*, 2004 , Ferrouiller *et al*, 2004).

1.3.1. Modèle environnemental

Le modèle environnemental est caractérisé le plus souvent par la survenue de mammites de courte durée d'évolution aiguë à suraiguë avec des signes cliniques plus sévères et une atteinte de l'état général (Bosquet *et al*, 2013).

Les mammites rencontrées dans ce modèle s'installent au cours de la lactation et / ou pendant le tarissement. D'autres profils sont toutefois possibles, notamment une flambée de mammites avec forte atteinte de l'état général.

Les agents pathogènes responsables dans ce modèle sont issus de l'environnement des bovins et surtout de la litière. D'autres sources existent telles que l'aire de déplacement, les aérosols et les biofilms sur les différentes surfaces du logement des vaches. Les bactéries concernées proviennent du tube digestif des vaches et contaminent la litière via les bouses de celles-ci. La chaleur et l'humidité de la litière en font un milieu très favorable à leur développement. La contamination du trayon se fait par contact lors du couchage des animaux.

Dans ce modèle épidémiologique, on peut retrouver des mammites provoqués par des entérobactéries, par *Streptococcus uberis*, et par des entérocoques. Le modèle environnemental est subdivisé en deux sous-modèles orientant la suspicion vers un type de bactérie ou un autre en fonction des caractéristiques des mammites et de leur prévalence (Bosquet G, *et al*, 2005).

1.3.2. Modèle contagieux

Dans le modèle contagieux, les mammites sont majoritairement subcliniques et chroniques. Les agents pathogènes responsables retrouvés dans ce modèle sont les staphylocoques à coagulase positive dont *Staphylococcus aureus*, les staphylocoques à coagulase négative, les streptocoques (*Streptococcus dysgalactiae* et *Streptococcus agalactiae*), et des pathogènes mineurs comme *Corynebacterium bovis*.

Le réservoir de ces bactéries est constitué par le lait des quartiers infectés et la peau des trayons, surtout si ces derniers sont lésés (crevasses). La transmission se fait lors de la traite par contagion quand la peau des trayons sains est contaminée par le lait et/ou du matériel contaminé.

Le modèle contagieux est subdivisé lui aussi en deux sous-modèles permettant d'orienter la suspicion vers un type de bactérie ou un autre en fonction des caractéristiques des mammites et de leur prévalence (Bosquet *et al.*, 2004).

1.3.3. Modèle mixte

Ce modèle regroupe en fait deux situations : soit coexistent dans le même élevage les deux modèles, environnemental et contagieux avec des agents pathogènes différents, soit l'agent pathogène responsable de mammites dans l'élevage peut être rattaché aux deux modèles. Par exemple, *Streptococcus uberis* est une bactérie d'origine environnementale pour les mammites qui s'installent pendant le tarissement. Il peut également se transmettre par contagion pendant la lactation quand sa prévalence est élevée, en cas de mammites subcliniques persistantes et quand les autres bactéries identifiées dans le troupeau sont du type contagieux (Bosquet *et al.*, 2013).

1.4. Facteurs de risques

L'identification des facteurs de risque présents dans l'élevage et concourant à la présence de mammites permet de conforter ou de remettre en cause le modèle épidémiologique supposé de l'élevage. L'objectif est de mettre en place les mesures préventives les plus adaptées pour diminuer l'impact des facteurs de risques majeurs. Afin d'identifier ces facteurs de risque de mammites, il est recommandé d'effectuer une visite de l'élevage (bâtiments) et une visite de traite. Les conditions de logement inadéquates pendant la lactation et/ou le tarissement et/ou le péri partum orientent vers un modèle environnemental, tout comme un défaut de lavage et essuyage des trayons. Le réservoir des bactéries dans le modèle de type environnemental est le plus souvent la litière. Tout élément qui favorise la multiplication des bactéries dans la litière augmente ainsi le risque de contamination : les défauts d'hygiène du logement (surface, ventilation, pentes, ...), une durée de stabulation longue, une densité trop importante d'animaux, des aires de couchages contaminées (température, humidité, circulation, ...). Une période sèche longue et des traitements préventifs au tarissement insuffisants favorisent les mammites dans ce modèle épidémiologique (Bosquet *et al.*, 2013).

Avant la traite, un défaut de lavage et essuyage des trayons favorise la pénétration des bactéries restées sur la peau des trayons. Après la traite, il est recommandé de ne pas laisser les vaches se coucher. Un défaut d'hygiène autour du vêlage oriente vers un sous-modèle à entérobactéries (Bosquet *et al.*, 2013).

Des défauts d'hygiène lors de la traite et/ou des défauts de machine à traire orientent vers un modèle contagieux. La contamination est favorisée par des défauts d'hygiène pendant la traite par des mains, lavettes et/ou matériel contaminés par une vache infectée, et après la traite par un défaut de trempage des trayons. Le défaut de dépistage des mammites cliniques, des traitements curatifs (en lactation et/ou au tarissement) mal conduits et une réforme insuffisante des vaches à infection persistante favorisent les mammites à bactéries de type contagieux (Bosquet *et al*, 2013).

Les lésions de la peau (crevasse) permettent la multiplication des bactéries et augmentent le risque de contamination de la mamelle. Les lésions de la peau du trayon et du quartier dues à des traumatismes chimiques ou physiques (froid, humidité, machine à traire, etc) entraînent également une douleur qui induit la libération d'adrénaline donc inhibe l'ocytocine et conduit à une rétention lactée. Cette rétention lactée empêche l'évacuation des bactéries et favorise le développement des mammites (Remy, 2010).

1.5. Examens complémentaires

Les examens complémentaires sont utiles pour confirmer ou infirmer la suspicion épidémiologique et ainsi poursuivre la démarche diagnostique. L'objectif est d'identifier concrètement les agents pathogènes responsables de mammites au sein du troupeau afin de mettre en place des mesures de lutte adaptées (Blind JL *et al*, 2004).

1.5.1. Examen bactériologique du lait

C'est un examen complémentaire utile dans le diagnostic individuel au cas par cas et dans le diagnostic collectif lors de la réalisation d'un sondage bactériologique visant à identifier les bactéries responsables de mammites dans le troupeau.

La bactériologie est la méthode de référence pour déterminer l'étiologie d'une mammite. La mamelle saine ne possède pas de flore commensale. L'identification d'une bactérie signe une infection ou une contamination lors du prélèvement (Bosquet *et al*, 2013).

Le prélèvement de lait doit être réalisé de manière aseptique (Bouchot ,M.C, et al ,1985). Le prélèvement est acheminé au laboratoire sous couvert du froid ou congelé pour une analyse plus tardive. La congélation pour une durée de 16 semaines à -20°C n'altère pas les résultats qualitatifs concernant les streptocoques et *S. aureus*. Par contre, plus la durée de congélation est longue, plus les chances d'identification d'*E. coli* ou de *C. bovis* diminuent et celles des SCN augmentent (Schukken YN *et al* ,1989).

La méthode de référence en France est réalisée par les laboratoires d'analyses nécessite plusieurs étapes pour la détermination de la présence ou non d'agents bactériens et, s'il y a présence bactérienne, à la détermination du genre et de l'espèce.

Mais cette méthode est encore peu appliquée pour l'identification des germes issus de mammites. A la clinique, la bactériologie est réalisable. Les étapes d'ensemencement et d'isolement sont identiques à la méthode de référence. L'identification quant à elle est plus sommaire.

Tout d'abord, il est possible de réaliser une association de différentes boîtes pétri contenant des milieux de cultures particuliers (figure 10) (Durel L, Poutrel B, 2006).

- Pour une croissance sélective des streptocoques : gélose au sang avec de l'esculine (non sélectif) ou le milieu TKT (cristal violet et thallium) .
- Pour les entérobactéries : le milieu de MacConkey ou le milieu BCP (pourpre de bromocrésol) ou le milieu EMB (éosine et bleu de méthylène) .
- Pour une croissance sélective des Gram + : gélose ANC (acide nalidixique et colistine) ou gélose Factor .

Il est également possible d'utiliser des boîtes divisées en 2, 3 ou 4 compartiments contenant chacun un milieu particulier (figure 10).

A : Croissance de *S . aureus* sur gélose au sang et sur gélose Factor dans une boîte quadripartite contenant aussi les milieux de MacConkey et MTKT.

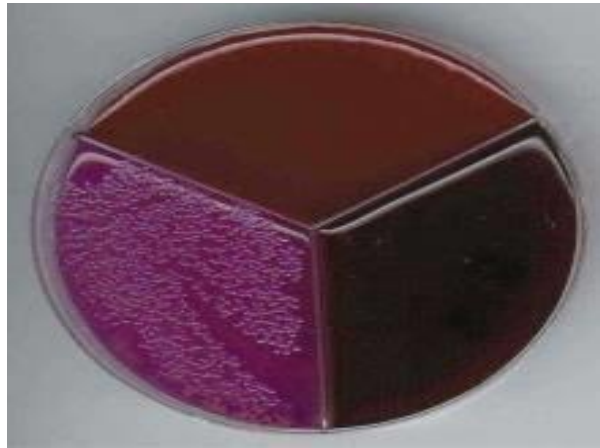
B : Croissance de *Klebsiella spp* sur les deux parties de la boîte contenant une gélose au sang et le milieu de MacConkey.

C : Croissance d'*E. coli* sur le milieu de MacConkey dans une boîte tripartite contenant aussi les géloses Factor et TKT. B) A C) .



(A)

(B)



(C)

Figure 10 : Tests d'identification sur gélose (Rüegg P. 2011).

Outre les géloses sélectives, il est également possible d'utiliser quatre tests simples pour orienter avec satisfaction le diagnostic étiologique : la coloration de Gram, le test catalase, le test coagulase et le test à l'esculine. Les trois derniers tests seront développés plus loin. Le test oxydase est également possible. Il permet d'identifier les *Pseudomonas*, seules espèces bactériennes oxydase positive dans les germes classiquement responsables de mammites (Levesque P, 2004) .

A partir des considérations précédentes, des géloses et des tests disponibles et réalisables en clinique, une méthode dite « méthode simplifiée » (Figure 15) a été mise au point avec un protocole simple associant gélose au sang de mouton, géloses sélectives et tests complémentaires (Harlet M, 2012) .

La première étape est l'ensemencement sur 3 géloses différentes : une gélose au sang de mouton à 5% non sélective, une gélose ANC (acide nalidixique et colistine) sélective des Gram+, et une gélose BCP (pourpre de Bromocrésol) permettant la croissance des entérobactéries.

La vérification de la qualité de l'échantillon s'effectue sur la gélose au sang de mouton. Ainsi un seul type morphologique de colonie doit être observé. L'incubation est de 12 à 24 heures.

L'identification des bactéries Gram négative comme *E. coli* et *Klebsiella spp.* s'effectue sur le milieu BCP.

Pour les bactéries Gram positive plusieurs tests successifs sont nécessaires pour une identification plus précise.

- **Le test catalase** : de l'eau oxygénée est déposée sur une colonie préalablement disposée sur une lame de verre. Si l'on observe une effervescence, c'est que l'eau oxygénée est dégradée en dioxygène. Le test est donc positif. Les staphylocoques sont catalase positive et les streptocoques sont catalase négative. Ce test permet donc de différencier ces 2 espèces.

- Le test coagulase : dépôt d'une ou deux colonies dans une goutte de suspension d'hématies sensibilisées. Après une légère rotation de la lame, si une agglutination massive a lieu en 15 secondes, le test est positif. *S. aureus* est coagulase positif. Les autres staphylocoques sont qualifiés de coagulase négative. Ce test permet donc principalement de différencier *S. aureus* des autres *staphylocoques*.

- Le type d'hémolyse se détermine sur la gélose au sang

- Si un halo vert diffus est présent autour des colonies, on parle d'hémolyse α (due à *Str. uberis* ou *dysgalactiae*)

- Si un halo clair est présent autour des colonies, on parle d'hémolyse β (due à *Str. agalactiae*) .

- Il est également possible de n'observer aucune hémolyse (*Str. uberis* ou *dysgalactiae*).

A noter que pour les bactéries *Str. uberis* et *Str. dysgalactiae*, il peut avoir une hémolyse de type α ou aucune hémolyse. Les tests suivants permettent donc de distinguer ces bactéries.

- Test à l'esculine : Il faut injecter des colonies dans la gélose à l'esculine et réaliser une incubation à 37°C pendant 30 minutes à 2 heures. S'il y a hémolyse, les composés libérés réagissent avec les sels de fer et donnent une coloration noire à la gélose initialement beige. Le test est positif pour *Str. uberis*.

- Test de Lancefield : il permet la distinction de *Str. agalactiae* (groupe B) et de *Str. dysgalactiae* (Groupe C) par une réaction avec leurs antigènes de surface. Deux ou trois

colonies sont incubées 15 minutes dans une solution d'extraction pour libérer les antigènes. Puis quelques gouttes de la solution d'extraction sont mélangées avec les différentes solutions d'anticorps. Si une agglutination franche apparaît en moins de deux minutes le test est positif. Le test est toujours négatif pour *Str Uberis*.

La « Méthode simplifiée » est utile dans les infections chroniques, à répétition ou subcliniques de la mamelle, car les prélèvements de lait de ce type d'affections contiennent de faible quantité de bactéries. Les boîtes pluripartites ou les géloses sélectives sont à privilégier pour les cas de mammites aiguës, car la quantité de bactéries dans le prélèvement est très élevée. Ces deux techniques sont suffisantes pour la détection et l'identification des principaux germes pathogènes majeurs responsables des mammites (Schmitt E, *et al* , 2007).

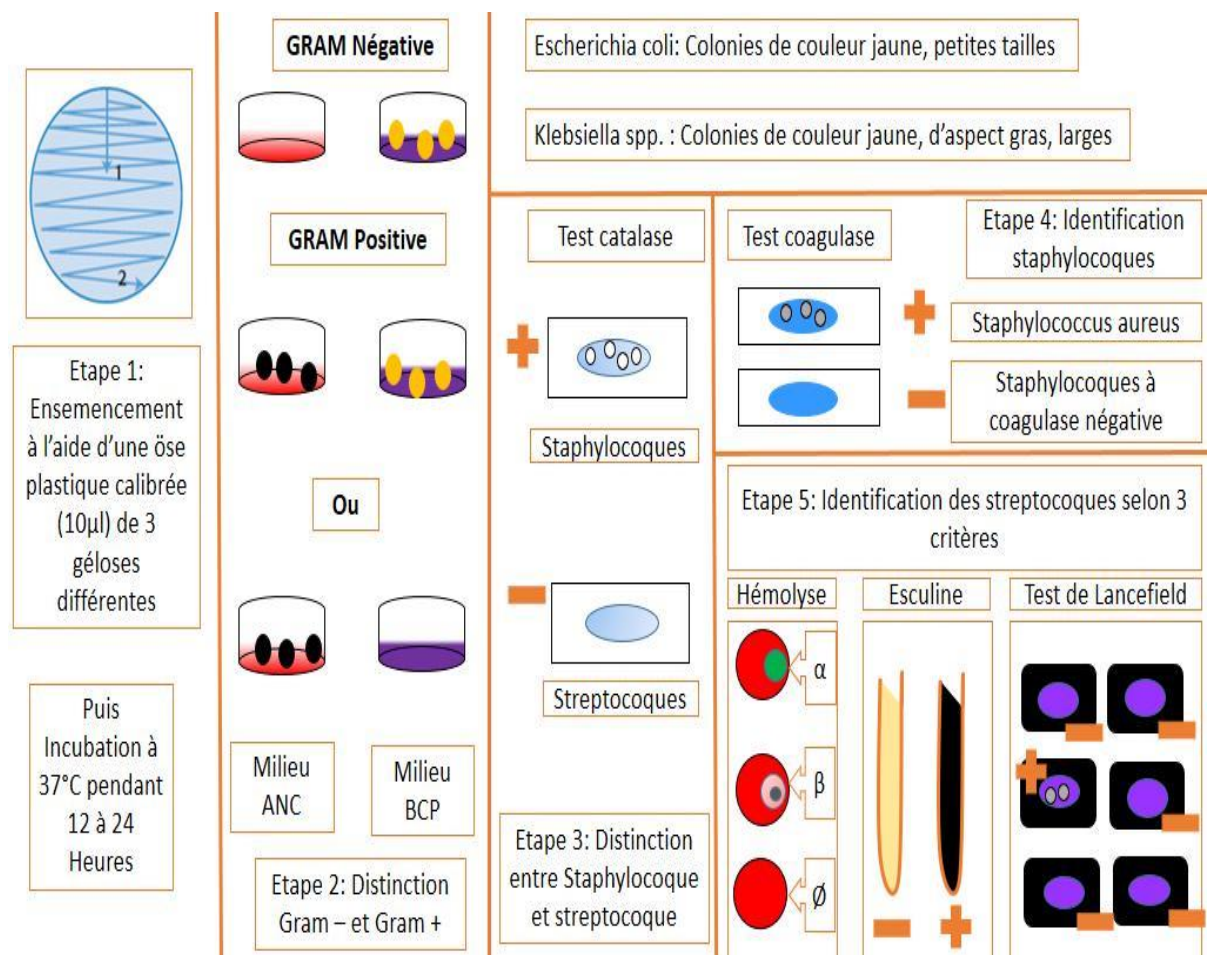


Figure 11 : « Méthode simplifié » d'identification des germes responsables de mammites d'après (Addis M.F. *et al.*2016).

L'antibiogramme est la suite classique de la culture bactérienne (Figure 17). Il permet d'évaluer le diamètre d'inhibition autour de disques imprégnés d'antibiotiques. Les germes sont ensuite classés en trois catégories : sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R). Il est principalement réalisé lors d'échecs thérapeutiques (Hertel M. et *al.*, 2012).



Figure 12 : Exemple d'antibiogramme (Madec JY, 2011).

In vitro, l'activité des antibiotiques est estimée par leur CMI (Concentration minimale inhibitrice). Elle est déterminée par méthode de dilution en gélose ou en milieu liquide. (Bouchot MC, *et al* ,1985).

1.5.2.Méthode de PCR (Polymerase Chain Reaction)

Est une amplification génique de l'ADN. Dans le cadre des mammites, elle est utilisée pour la recherche des acides nucléiques de bactéries, de levures et d'algues dans le lait. L'analyse PCR est une alternative à la bactériologie. L'analyse nécessite la même qualité de prélèvement stérile que la bactériologie. L'ADN contenu dans les bactéries est extrait et amplifié grâce à des amorces qui correspondent aux séquences recherchées. Les résultats sont présentés de manière semi-quantitative et indiquent si l'agent pathogène est présent dans l'échantillon en plus ou moins grande quantité. L'analyse entière prend quatre heures dont deux nécessitant des manipulations (Schmitt V, Schmitt BA, 2013).

Les résultats d'une analyse PCR et de la bactériologie sont identiques dans une majorité de cas concernant les mammites cliniques comme subcliniques. L'analyse PCR, plus sensible au niveau de la détection, décèle cependant la présence de bactéries qui ne sont pas détectées en bactériologie classique (Schmitt V, Schmitt BA , 2013).

2. Prévention des mammites

L'apparition d'une mammite est la résultante d'un déséquilibre complexe entre les trois facteurs suivants : la résistance de l'animal, les bactéries responsables de mammites et l'environnement. Les populations de vaches les plus sensibles au développement de mammites cliniques sont les vaches hautes productrices et les vaches en péri-partum .

Le contrôle des mammites passe par la prévention des nouvelles infections et l'élimination des infections existantes. Il faut bien garder en tête que les mammites ne pourront jamais complètement disparaître d'un élevage. Les vaches laitières ayant été sélectionnées depuis de nombreuses décennies pour la production laitière, il est en effet connu que la corrélation génétique entre les mammites et l'augmentation de la production laitière est positive (Poitras F, Houde A , 2002).

Avant de mettre en place un plan mammite, il faut connaître les facteurs de risques principaux cités non exhaustivement dans la Figure 18 ci-dessus et les critères d'alertes détaillés ci-dessous pour les mammites cliniques et les mammites subcliniques.

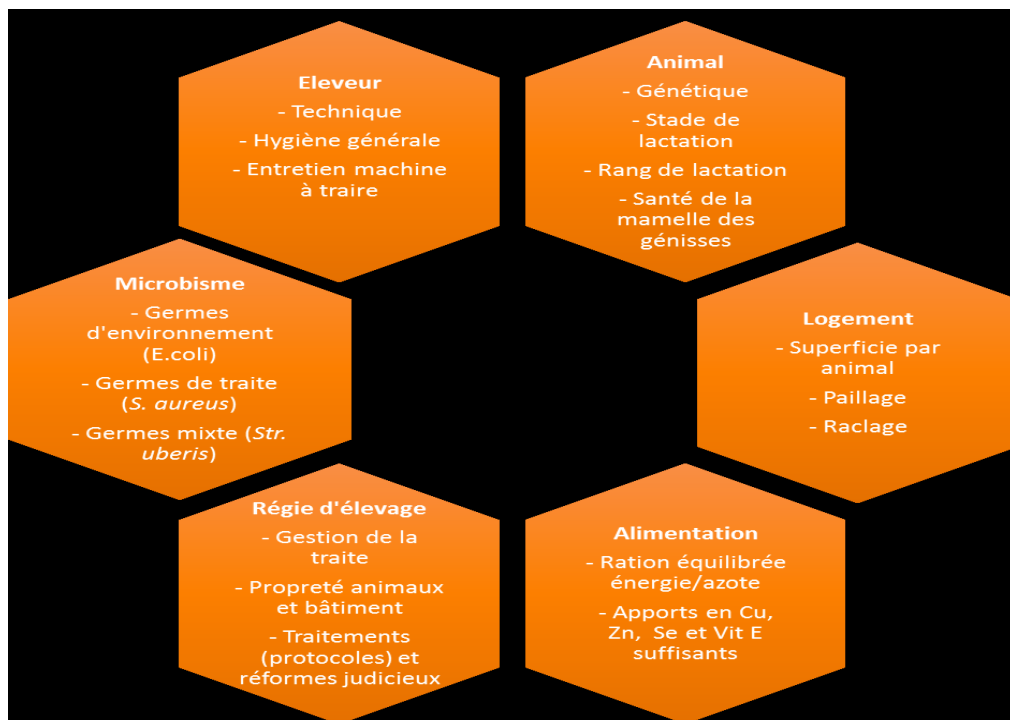


Figure 13 : Schéma alarme appliqué aux mammites (Fratini Fet *al*, 2017).

Tableau 04 : Critères d’alerte pour les mammites cliniques d’après (Ruegg P,2011).

Indicateurs	Calculs	Critères d’alerte
Taux d’incidence	Nombre de nouveau cas/Nombre de vaches en lactation sur la même période	> 25 % par an > 3% par mois
% de cas sévère (Score 3)	Nombre de score 3/Nombre total de cas de mammite	> 5-20% des cas
% de mortalité	Nombre de vaches mortes suite à une mammite/Nombre total de cas de mammite	> 2%
% échec thérapeutique	Nombre de cas ayant nécessité un changement de traitement ou supplémentation/ Nombre total de cas de mammite	> 20%
% de cas récurrents	Nombre de vaches avec au moins 2 cas* /Nombre total de cas de mammite * un cas est considéré comme nouveau s’il survient plus de 14 jours après le traitement initial	> 30%
% de vaches avec plus d’un quartier atteint	Nombre de vaches avec plus d’un quartier atteint/Nombre total de cas de mammite	> 20%
% de vaches traitées avec moins de 4 quartiers	Nombre de vaches traitées avec moins de 4 quartiers/Nombre total de vaches en lactation	> 5%

Tableau 05 : Critères d’alerte pour les mammites subcliniques d’après (Ruegg.P,2011)

Indicateurs	Calculs	Critères d’alerte
Prévalence	Nombre de vaches avec un CCSI>200 000 cellules/mL / Nombre de vaches	< 15% du troupeau
Incidence	Nombre de nouveaux cas de vaches avec un CCSI>200 000 cellules/mL / Nombre de vaches avec un CCSI plus faible sur la période précédente	< 8% si le calcul est basé sur les CCSI mensuels
Prévalence au premier CCSI après vêlage	Nombre de vaches avec un premier CCSI>200 000 cellules/mL au vêlage / Nombre de vaches avec premier CCSI	< 5% pour L1 < 10 % pour L2 et +
Prévalence au dernier CCSI	Nombre de vaches avec un dernier CCSI>200 000 cellules/mL / Nombre de vaches avec un dernier CCSI	< 30% des vaches avant tarissement

Si un problème collectif de mammites est objectivé suite à l'analyse des facteurs de risque présents dans l'élevage et des critères d'alerte, un plan mammitaire divisé en plusieurs points peut être mis en place. L'application et la vérification de ces différents points va permettre de remettre les pratiques zootechniques sur de bonnes bases (Rüegg P, 2011).

On peut citer par exemple :

- L'application d'un post-trempeage
- L'utilisation pertinente des antibiotiques au tarissement
- La réforme des vaches infectées chroniques
- La maintenance régulière de la machine à traire

Bien d'autres mesures peuvent être mise en place. Elles ne seront pas détaillées ici.

Les facteurs de risques font partie intégrante de la prévention contre les mammites. Il est connu que la parité, le stade de lactation, les CCS et les antécédents de cas de mammitaire favorisent l'apparition d'une infection (CHA E *et al*, 2011).

Les caractéristiques des trayons et de la mamelle, les vaches dites « facile à traire », une parité supérieure à 2 prédisposent les animaux à des cas de mammites successifs. Les vaches ayant été sélectionnées sur leur production laitière, des trayons courts et une vitesse de traite importante, leur sensibilité par rapport aux mammites a donc été augmentée et continue à l'être. Dans un futur proche, pour lutter contre les mammites, d'autres éléments devront être pris en considération. L'amélioration de la conduite d'élevage (alimentation, logement) ainsi que la sélection d'animaux plus résistants (meilleure immunité naturelle) sont les pistes à approfondir (Schukken Y, 2013).

Les mesures prophylactiques jouent un rôle primordial dans le contrôle des mammites. La vaccination a été une des premières pistes dans la lutte contre les mammites. La difficulté réside dans le nombre important d'agents pathogènes responsables de mammites et leur hétérogénéité.

Recherche Expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

1. Objectif

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de recherche de sciences et technique de production animales situé dans la daïra de Hassi Mamèche et affilié à université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem.

Notre objectif est de déterminer les méthodes de détection des mammites pour limiter leur influence sur la production laitière, particulièrement, prévenir les mammites.

2. Présentation de la zone d'étude

2.1. Exploitation

L'exploitation est située dans la daïra de Hassi-Mamèche. Il s'agit de la ferme expérimentale « élevage », rattachée à l'université Abdelhamid Ben Badis de Mostaganem. 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°04'30'' Est. Son climat est de type méditerranéen, doux pendant l'hiver et sec et chaud pendant l'été.

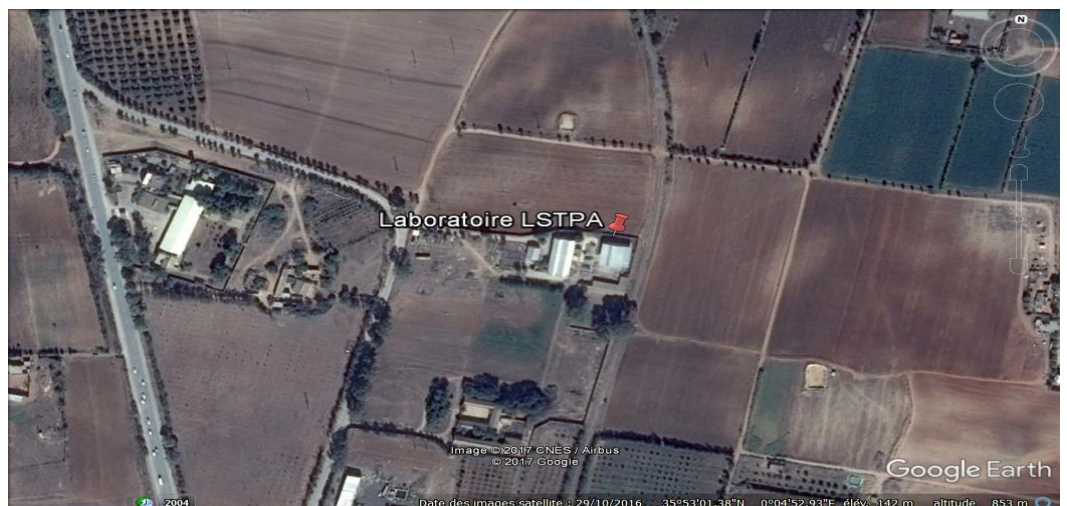


Figure 14: Vue par satellite montrant la situation de la ferme expérimentale et du laboratoire. LSTPA (google earth,2020).

2.2. Animaux

Le troupeau est constitué de 3 vaches laitières et de 3 veaux (Les bovins sont issus de la race Holstein pie noire, importés de France et sont identifiés par des boucles d'oreilles portant leurs numéros d'identification



Figure 15 : Vaches laitières de race Pie noire

3. Méthode

3.1. Prélèvement (ferme expérimentale)

Le prélèvement se réalise tôt, le matin tout en respectant les conseils de notre directrice de mémoire sur les méthodes d'hygiène à suivre lors de la traite.

Le lait est prélevé sur chacun des 4 pis de la vache puis transféré immédiatement au laboratoire LSTPA, sur place, pour procéder aux différentes analyses bactériologique .

3.2. Technique de prélèvement

Un prélèvement de lait pour bactériologie nécessite de suivre scrupuleusement des règles rigoureuses pour éviter d'obtenir un prélèvement contaminé, synonyme de pertes d'argent et de temps (Remy . 2010).

Règle à respecter pour effectuer un prélèvement interprétable

- Identification des échantillons : date, vache, élevage, quartier,
- Nettoyer soigneusement des trayons (lavette avec eau et savon) .
- Sécher complètement avec une feuille de papier .
- Pré-trempe l'extrémité du trayon dans un produit détergent (alcool) , moussant et désinfectant , attente de 30 secondes ou plus pour séché .
- Extraire le premiers jet, puis recueille 1 à 2 jets de lait dans un flacon stérile , en prenant soin de le garder le plus horizontal possible .

3.3. Conservation du prélèvement

Les prélèvements ont été conservés par congélation à -18°C jusqu'au moment de l'analyse , ou par réfrigérateur (ne dépasse pas 60 h) . Un prélèvement de lait destiné à un examen bactériologique est utilisable pendant plusieurs semaines s'il est maintenu à -18°C .

4. Analyses bactériologique

Le diagnostic des infections mammaires à l'aide de la bactériologie est considéré comme étant la meilleure mesure de détection des mammites, s'il est réalisé régulièrement et sur toutes les mamelles . Il permet d'identifier les mammites cliniques, les mammites subcliniques mais aussi de connaître l'agent pathogène impliqué, grâce à quoi, le vétérinaire peut mettre en place le traitement et les mesures de gestion les plus adaptés (Miller, R.H. 1984).

Ces examen bactériologique est basé sur trois étapes :

Etape 01

4.1. Isolement et ensemencement Bactérienne

4.1.1. Isolement sur la boîte Pétri

- Mettre les flacons de géloses dans un bain marie , bouillant (100°C) jusqu'à fusion complaire. On laisse refroidir les flacons a l'air libre ou eau , froide au moment de 10 m et on coule dans des biotes .
- Ecrire son numéro des vaches , la date , sur couvercle des boîte pétris
- Remplir les boites par les milieu de culture

- Prélever 50 μL de lait (lait mélange de 04 quartier). Des trios vaches à l'aide d'une micropipette stérilisée
- Ouvrir les boîtes et déposer la pointe de micropipette au point initial.
- Faire des stries serrées sans Royer la gélose sur partie 01
- Tourner la biote d'un quart de tour et faire des stries serrées sur toute la surface des boîtes pétris .
- Stériliser l'anse refermer la boîte et déposer dans étuve couvercle vers le bas à 37°C pendant 24 h .

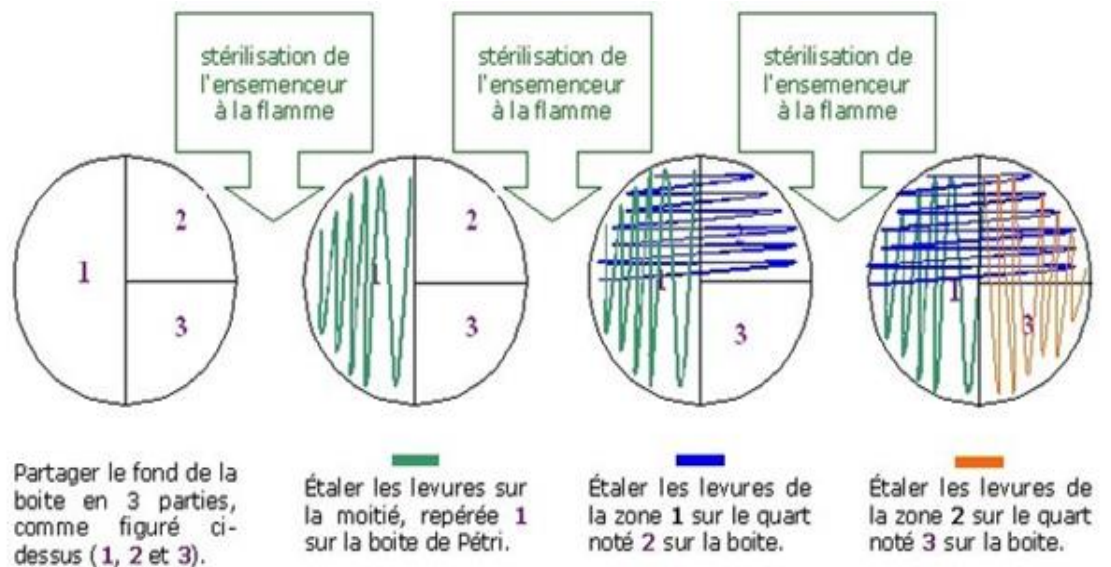


Figure 16: Technique de isolement sur un boîte Pétri

<https://www.magazinescience.com/biologie/milieux-de-culture-techniques-densemencement/>

Milieu de culture

Un milieu de culture, constitué à partir de substances biologiques ou chimiques, reproduit un environnement favorable à la culture d'un certain type de micro-organismes.

- **Gélose Chapman**

La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries halophiles et plus particulièrement fermentant le mannitol

. Une base nutritive ordinaire, une teneur élevée en NaCl qui permet la sélection des bactéries halophiles (comme les Staphylococcus) et inhibe la grande majorité des autres bactéries. un critère de différenciation : la fermentation du mannitol révélé grâce au virage de l'indicateur coloré de pH : le rouge de phénol qui permet une orientation vers certaines espèces (comme l'espèce Staphylococcus aureus).

- Pas de virage (le milieu reste rouge) : les colonies sont mannitol - car elles ne fermentent pas le mannitol, légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique.
- Virage au jaune du milieu : les colonies sont mannitol + car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu.

- **Gélose Mac Conkey**

La gélose Mac Conkey est un milieu d'isolement ordinaire, lactosé et sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeants.

Le désoxycholate de sodium et le cristal violet inhibe la croissance des bactéries à Gram positif.

Comme la base nutritive est ordinaire, seule les bactéries non exigeantes y cultivent. Les coques à Gram négatifs ont des exigences nutritives qui ne leur permettent pas de cultiver sur ce milieu. Ainsi, ce milieu est sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeants.

La présence de lactose et de rouge neutre permet de connaître le caractère lactose des bactéries.

colonies roses/rouges : acidification du milieu par fermentation du lactose = lactose +

colonies incolores ou jaunes : pas d'acidification du milieu = lactose -

- **Bouillon de Rothe**

Le Bouillon de Rothe est utilisé pour la confirmation lors des recherches et dénombrements des Streptocoques fécaux dans les eaux d'alimentation et résiduaires, les produits surgelés et les autres denrées alimentaires par la méthode du nombre le plus probable. La recherche s'effectue en 2 étapes, un test présomptif en bouillon de Rothe et transfert des

cultures positives pour confirmation sur milieu de Litsky (Eaton, A.D, Clesceri, LS , et Greenberg ED. 2010).



Figure 17: Milieu cultures utilisable dans les analyses.

4.1.2. Isolement sur Bouillon

- Noter son numéro des vaches, la date du prélèvement sur chacun des trois tubes. Les noter 1, 2 et 3.
- Ebloquer les bouchons des tubes 1 et 2 et 3 .
- Casser l'extrémité d'une pipette Pasteur et la passer rapidement à la flamme.
- Déboucher le tube 1 et prélever stérilement une goutte de liquide (lait) avec la pipette Pasteur.
- Passer rapidement l'ouverture du tube 1 à la flamme avant de le refermer.
- Introduire l'anse ou la pipette chargée jusqu'à la base de la gélose pour déposer cette culture au fond. Remonter en faisant glisser la pointe de l'instrument à la surface de la gélose.
- Veiller à ne pas rayer la gélose. Faire des stries serrées.
- Sortir l'instrument du tube 1. Stériliser le col du tube et refermer.
- Ouvrir le tube 2 et réaliser l'isolement sans stériliser ni recharger l'instrument.

- Procéder de même avec le tube 3.
- Stériliser l'anse ou jeter la pipette Pasteur. Mettre les tubes à l'étuve à 37°C. pendant 24 h .



.Figure 18 : Isolement sur bouillon Rothe.

Tableau 06 : Evaluation de la qualité du prélèvement

Nombre de types de colonies isolées	Conclusion
0	Prélèvement stérile
1	Prélèvement correct
2	Contamination ou infection bi-microbienne
> 2	Contamination du prélèvement

4.2. Purification

A partir de plusieurs colonies cultivés, on prend chaque colonie à part et on la repique à nouveau dans un milieu (milieu de Chapman), jusqu'à ce qu'on obtient à la fin une souche pure (on s'assure par le microscope). Incuber tous les biotes 24 et 48 heures .

Si la culture positive provoque un trouble dans les tubes. Ceux-ci seront obligatoirement soumis à confirmation aux protocoles en vigueur

- ensemencer le milieu de Litsky avec une anse de culture positive prélevée sur milieu de Rothe.
- Incuber 24 et 48 heures à 37°C.

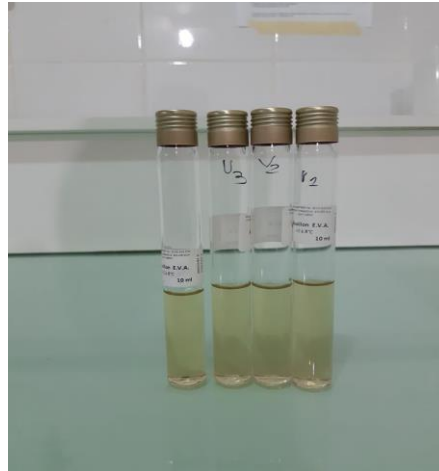


Figure 19 : Réensemencement sur milieu Eva litsky

- **Milieu Eva litsky**

Le Milieu de Litsky est utilisé pour la confirmation lors des recherches et dénombrements des Streptocoques fécaux dans les eaux d'alimentation et résiduaires, les produits surgelés et les autres denrées alimentaires par la méthode du nombre le plus probable. Après une culture positive sur milieu de Rothe, la présence d'éthyl violet et d'azide de sodium du milieu de Litsky inhibe la croissance des tous les micro-organismes autres que les Streptocoques fécaux (Downes, F.C. and K. Ito. 2001).

4.3. Identification bactérienne

Le processus d'identification consiste à reconnaître une bactérie inconnue en définissant son appartenance à une espèce. Il repose sur le choix d'un ensemble de tests biochimiques réalisé par un logiciel spécifique. Cet ensemble constitue un kit d'identification. En fonction du profil de réponses observé, on calcule une probabilité d'appartenance à chaque espèce.

L'identification bactérienne est essentielle dans le processus d'un examen bactériologique en donnant au clinicien des informations importantes sur la gravité, l'origine ou le traitement d'une infection. Pour cela, elle doit être à la

fois fiable et rapide, certaines circonstances l'exigeant. L'automatisation de l'identification bactérienne a concerné d'abord l'inclusion de tests.

4.3.1. Examen macroscopique

La première étape du diagnostic bactérien et du biotypage d'une souche est la description macroscopique des colonies isolées ; parfois cette seule étude permet de connaître le germe qu'on a en présence car les colonies sont typiques.

Aspect des colonies

a- La forme

Le premier caractère important dans la description des colonies est sa forme générale. De nombreuses espèces bactériennes forment des colonies rondes. Cependant d'autres donnent des colonies aux formes plus ou moins variées.

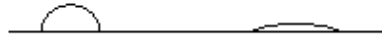
Les quatre types de colonies que vous allez rencontrer en général, sont :
Ronde , Irrégulière, en Etoile , Envahissante (Leyral, J, 2001).



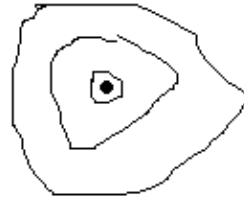
Figure 20 : Principales formes des bactéries (Leyral, J, 2001)

b- Le relief

Après la forme générale, il est important de regarder le relief de la colonie (un peu comme si on en faisait une coupe). Il existe plusieurs types de reliefs chez les colonies bactériennes mais 3 types sont plus souvent observés :
Très fréquemment observé : Bombée et plate
Couramment observé : en vague concentrique (souvent le cas des colonies envahissantes genre *Proteus*)
(Leyral, Joffin, 2001)



Bombée et plate



vague concentrique

c- Le contour

Le contour d'une colonie, c'est le bord de celle-ci... Encore une fois, il existe de nombreux termes plus ou moins précis pour le qualifier. Cependant, par souci de clarté et de simplicité nous allons ramener leur nombre à 2 types : Les colonies à bords réguliers (= nets) et celles à bords irréguliers (Leyral, J, 2001).

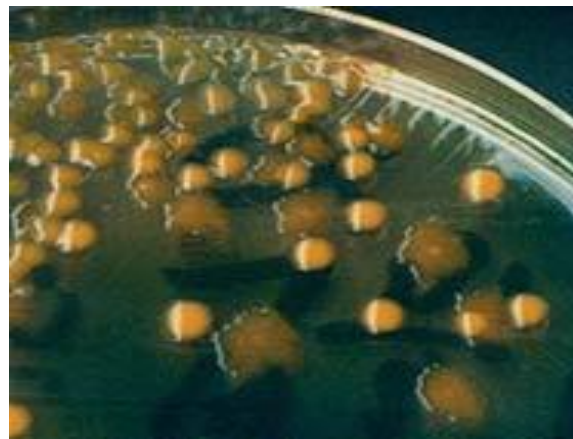


Figure 21: Contour des colonies à bords réguliers , irréguliers (Leyral, J, 2001).

d- La taille

La taille d'une colonie bactérienne est une donnée qui est parfois difficile à apprécier. En effet sur un même isolement la même espèce peut avoir différentes tailles... Pour ne pas qu'il y ait de quiproquos, il est « conventionnel » de mesurer les colonies les plus grosses qui sont parfaitement isolées.

La taille d'une colonie bactérienne, si elle est mesurable, s'exprime en mm et est souvent qualifiée par un adjectif. Les termes les plus couramment utilisés sont :

Colonies ponctiformes : Colonies à peine visibles, dont la taille est inférieure au millimètre.

Petites colonies : Colonies dont le diamètre est compris entre 1 et 2 mm

Colonies moyennes : Colonies dont le diamètre est compris entre 3 et 5 mm

Grosses colonies : Colonies dont le diamètre est supérieur à 5 mm.

Les colonies de type « envahissantes » (*Proteus*, *Pseudomonas*...) ne peuvent pas être mesurées véritablement. En effet, leurs contours ont souvent atteint les bords de la gélose ou, les colonies se superposent. Donc, on ne donne aucune taille (Leyral, J, 2001).

e- La surface

La surface d'une colonie bactérienne peut changer d'un repiquage à l'autre. Cependant c'est un critère important car relié à d'autres caractères dont parfois la pathogénicité.

On distingue les colonies lisses et les colonies rugueuses (Leyral, J, 2001).

f- La couleur

Un des derniers points important est la couleur de la colonie. Celle-ci peut être naturelle (pigments) ou due à un colorant ou un indicateur de pH présent dans le milieu.

Exemple de colonies colorées d' *E.coli* sur différents milieux :

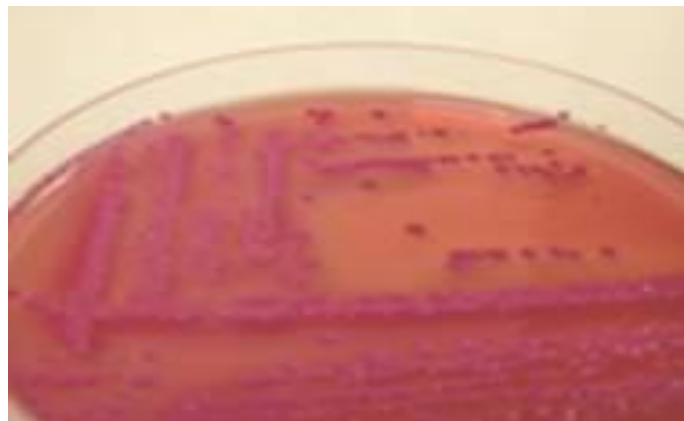


Figure 22 : couleur de *E coli* dans un milieu mac conkey (Leyral, J, 2001).

La pigmentation d'une colonie est due à la production d'un ou plusieurs pigments par la bactérie. On peut différencier les pigments non diffusibles (seule la colonie est colorée) des pigments diffusibles (qui colorent également le milieu de culture).

Le genre permettant d'illustrer les pigments diffusibles est *Pseudomonas* et particulièrement les espèces *P. aeruginosa* et *P. fluorescens*. En effet ces espèces produisent la pyoverdine (peptide complexe de couleur jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau et insoluble dans le chloroforme) et/ou la pyocyanine (de couleur bleue, soluble dans l'eau et les solvants organiques). (Leyral, J, 2001).

g- Autres caractères

De nombreux autres caractères pourraient être décrits. En effet, il arrive que l'opacité, la consistance, l'odeur soient significatives de l'espèce bactérienne en présence.

Par exemple une colonie sentant l'eau de Javel nous oriente vers l'espèce *Pasteurella multocida* ou bien encore une consistance muqueuse vers les bactéries encapsulées (Leyral, J, 2001).

4.3.2. Examen microscopique

4.3.2.1. Le frottis (coloration de Gram)

Sa réalisation nous indique la présence des espèces morphologiquement différentes ainsi que leur Gram.

• Les étapes de la coloration de Gram :

- La stérilisation de la lame par l'alcool.
- Etaler une goutte de la suspension bactérienne sur la lame.
- La lame est séchée à la flamme du bec Bunsen.
- Verser quelques gouttes de violet de gentiane sur le frottis et laisser colorer pendant 1 min. Puis rinçage à l'eau du robinet
- L'addition du lugol pendant 1 min.
- La lame est rincée à l'eau distillée ensuite décolorée à l'alcool.
- Coloration par la fuschine pendant 1 min.
- Lavage par l'eau distillée puis un séchage.



Figure 23 : Equipement pour la coloration de gram des colonies

4.3.2.2. Test oxydase

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

Une oxydase est une enzyme catalysant une réaction d'oxydo-réduction impliquant une molécule de dioxygène (O_2) comme accepteur d'électron. Dans ces réactions, l'oxygène est réduit en eau (H_2O) ou en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

Les oxydases sont une sous-classe des oxydo-réductases.

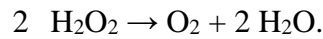
Technique :

- Placer un disque non imprégné sur une lame à l'aide d'une pince flambée,
- Déposer une goutte de réactif sur le disque non imprégné,
- avec une pipette Pasteur prélever une colonie sur milieu solide (GO) et la déposer doucement sur le disque.

4.3.2.3. Test catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène. Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulle.

est une oxydoréductase héminique qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène :



Technique

- Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur .
- Prélever une colonie à l'aide de l'anse.
- Dissocier la colonie dans la goutte.

4.3.2.4. Test coagulase

Staphylocoagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une souche de *Staphylococcus* est un des critères d'identification de *Staphylococcus aureus* en médecine humaine. D'autres germes, moins courant en pathologie humaine, peuvent avoir une réaction positive, notamment *Staphylococcus intermediés* et *Staphylococcus hyicus*.

On distingue deux types de coagulase :

- La coagulase liée ou « clumping factor » adhérant au corps microbien
- La coagulase libre ou staphylocoagulase, une exoenzyme, propre à certaines espèces du genre *Staphylococcus*, et qui est recherché pour l'identification de *Staphylococcus aureus* .

Technique

Dans un tube à hémolyse stérile, on introduit 0,5 ml de plasma oxalaté et 0,5 ml d'une culture de 24 h en bouillon coeur cervelle de la souche à étudier. On place le mélange à 37°C.

On effectue ensuite des lectures toutes les heures au moins pendant les cinq premières heures .

4.3.2.5. . Recherche d'hémolyse par plasma

La lecture de l'hémolyse est un critère d'orientation, en particulier pour les streptocoques (Leyral et J, 2001).

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 plasma . 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 (Santé et maladie, 2015).

α -hémolyse

L'hémolyse alpha présente un changement de couleur dans la gélose d'abord rouge à une couleur vert 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 (Santé et maladie, 2015).

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 (Santé et maladie, 2015).

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 (Santé et maladie, 2015).

Technique

A partir d'une gélose de base au sang, à laquelle on a ajouté sur le champ 12,5 ml de sang frais prélevé sur un mouton de la ferme (pour éviter la coagulation), on a obtenu notre propre gélose au sang frais.

On a coulé par précaution une dizaine de boîtes que l'on a conservées au réfrigérateur pour éviter toute contamination.

Après avoir prélevé une colonie de l'ensemencement sur milieu Slanetz précédemment obtenu, on l'a ensemencée en surface de la gélose au sang par la méthode des stries dans une des boîtes préparées et on a incubé pendant 24 heures à 37C.

Chapitre II

Résultats

5. Résultats de l'analyse

5.1. Isolement et ensemencement

Tableau 07 : Résultats d'isolements des biotes pétris sur des milieux

	E 1	E2	E3
Macconkey	Négative	Négative	Négative
Chapman	Positive	Négative	Positive
Rothe	Négative	Négative	Négative

5.1.1. . Ensemencement sur le milieu Macconkey

Après 48 H d'incubation des boites Pétri nous avons observés absences des colonies sur toutes les boites .

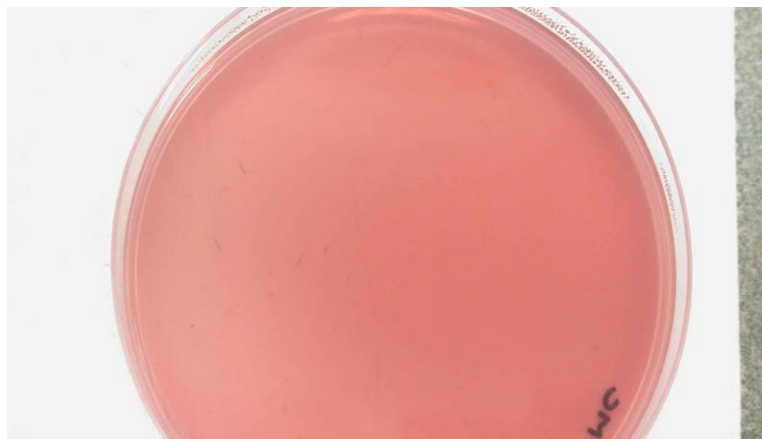


Figure 24 : Absence des colonies sur milieu Mac conkey.

5.1.2. Ensemencement sue le milieu Chapman

Après 24H d'incubation nous avons obtenu des colonies dorées pour les deux boites (V1, V2), mais la troisième absence des colonies .



Figure 25 : Colonies bactériennes dorées (E1 et E3)

Interprétation

La gélose Chapman est un milieu d'isolement sélectif utilisé pour la recherche des *Staphylococcus*

Virage au jaune du milieu les colonies sont *mannitol* + qui permet une orientation vers certaines espèces (comme l'espèce *Staphylococcus aureus*).

5.1.3. Ensemencement sur milieu Rothe

Après 24H d'incubation des tubes nous avons obtenu des résultats négative (absence un trouble).

Interprétation

Le milieu de Rothe est un milieu de culture utilisé pour l'enrichissement en *Enterococcus* .

Ce milieu permet l'enrichissement en Entérocoques d'un inoculum de produit alimentaire. Un trouble signe la présence éventuelle de ces bactéries qu'il faudra ensuite confirmer par le test de Litsky, l'isolement et l'identification des colonies.



Figure 26 : Absence des colonies dans bouillon Rothe

5.2. Les résultats deuxième étape (purification)

5.2.1. purification sur milieu Chapman

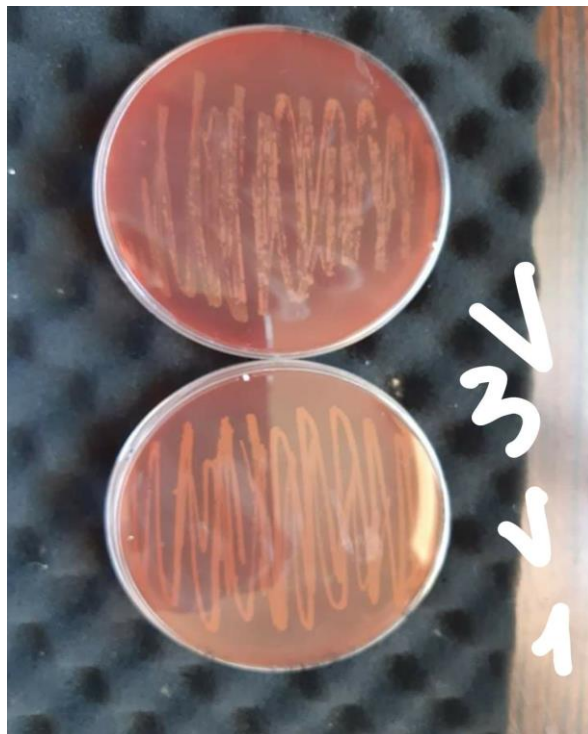


Figure 27 : Des colonies doré sur milieu Chapman

La figure reflète la présence des colonies dorées sur le milieu sélectif de bactéries recherchée (*Staphylococcus*) dans deux échantillons .

5.2.2. Purification sur le bouillon Eva Litsky

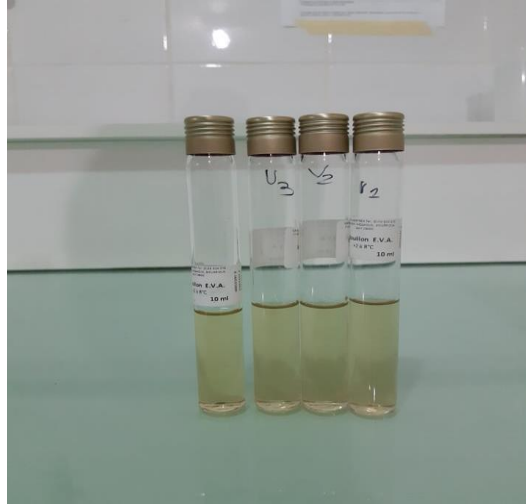


Figure 28 : Résultats de confirmation sur bouillon Eva litsky

- **Milieu Eva Litsky**

Le milieu de Litsky est un milieu de culture servant à cultiver des micro-organismes dans un liquide en laboratoire. Il est principalement utilisé pour détecter la présence de streptocoques et d'entérocoques dans le lait mammites .

Ce milieu permet l'enrichissement en Entérocoques . Un trouble dans le liquide signale la présence éventuelle de ces bactéries qu'il faudra ensuite confirmer par le test de Litsky, l'isolement et l'identification des colonies.

Il sert aussi au dénombrement des Streptocoques fécaux. C'est un test confirmatif qui se fait suite au test présomptif au milieu de Rothe.

5.3. Résultats de troisième étape (Identification bactérienne)**5.3.1. Examen macroscopique**

Tableau 08 : Les caractères macroscopiques des échantillons (E1, E3)

	E1	E3
La forme	Coques	Coques
La taille	3mm	4mm
Le relief	Bombée et plate	Bombée et plate
Le contour (bord)	Régulier	Régulier
La surface	Colonies crémeuses	Colonies crémeuses
Le couleur	Jeune doré	Jeune

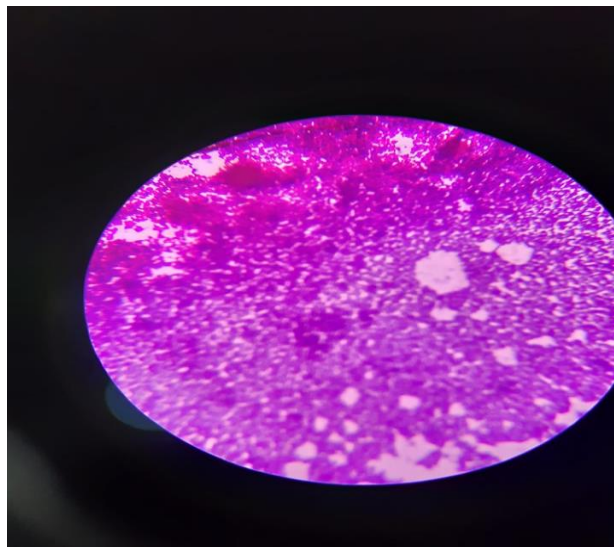
5.3.2. Examen microscopique**Résultats des tests****5.3.2.1. Coloration de gram**

Figure 29 : Observation microscopique grossissement 100 d'un échantillon (E3)

Interprétation

Les bactéries à gram positive apparaissent violettes

Les vieilles cultures bactériennes en raison de la dégradation de la paroi cellulaire.

5.3.2.2. Test d'oxydase

L'absence de changement de couleur des disques indique un résultats négatif . Une oxydase négative et Une catalase positive sont la preuve qu'il s'agit d'un Staphylococcus

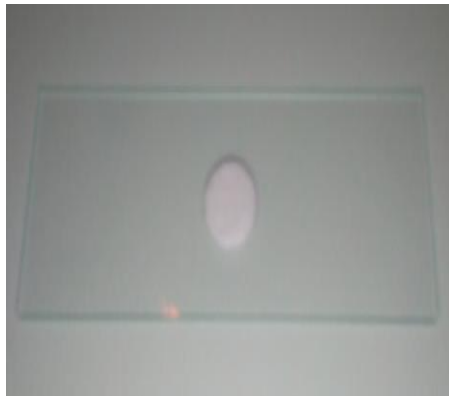


Figure 30 : Test de catalase(-), pour les bactéries

5.3.2.3. Test catalase

L'apparition d'une effervescence en présence d'eau oxygénée indique une catalase positive (bulles) dans l'échantillon bactérien testé (vache 3)

l'absence de dégagement de gaz, ce qui indique que la bactérie possède une catalase négative(-) (vache 1)

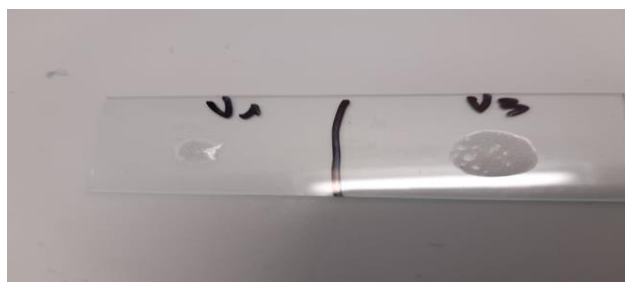


Figure 31 : Test de catalase(-), catalase (+) pour les deux vaches .

La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif .

5.3.2.4. Test au plasma de lapin (coagulase)

Un résultat négatif (coagulation, le liquide ne devient pas gélatineux) ce qui ne confirme pas que le staphylocoque est de type *S.aureus* , propriété de cette bactérie 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 (Leyral et J, 2001).



Figure 32 : Résultat négatif de test coagulase.

5.3.2.5. Recherche d'hémolyse par gélose au lapin

Après 24H d'incubation nous avons obtenu des zones hémolytiques de couleur jaune (β -hémolyse (vache 3) , vache 1 zones hémolytique α -hémolyse).

Chapitre III

Discussion

L'objectif de notre travail est de déterminer les méthodes de détection des mammites pour limiter leur influence sur la production laitière, particulièrement, prévenir les mammites contre les principales espèces microbiennes responsable de l'infection mammaire (IM).

Analyses microbiologiques un seule souche pathogène est été sélectionnée et isolée à partir du lait cru des deux vaches de la ferme expérimentale .

1. Types de germes isolés

A partir des différents tests d'orientation et des tests d'identifications biochimiques que nous avons réalisé sur les 2 échantillons de lait cru, prélevés une ferme nous avons pu isoler et caractériser les germes pathogènes suivants :

2. *Staphylocoques à coagulase négative*

La présence des staphylocoques dans les 2 échantillons confirme l'idée de la contamination car selon le JORA ces germes sont totalement absents dans un lait sain. Cette présence est le signe probable de mammites inapparentes.

Les pathogènes majeurs des mammites subcliniques sont au nombre de cinq espèces bactériennes, responsables à elles seules de 90% des infections mammaires. Les mammites subcliniques sont principalement causées par des staphylocoques et des streptocoques donc par des bactéries à Gram-positif Gram+ qui ont une paroi de peptidoglycane épaisse, donc résistant aux traitements antibiotiques (Remy, 2010).

Dans les élevages laitiers à bon niveau de maîtrise sanitaire, les staphylocoques coagulase négatifs (SCN) sont de plus en plus fréquemment identifiés. En raison du nombre élevé d'espèces que comprend cette famille, la pathogénie et l'expression clinique des infections mammaires à SCN sont variées. Malgré un fort taux de guérisons spontanées, les infections à SCN peuvent persister pendant toute la lactation et détériorer les performances économiques d'un troupeau. Un traitement précoce est donc conseillé. Un antibiogramme est en outre nécessaire, car de nombreuses antibiorésistances sont décrites.

Les SCN ont été longtemps considérés comme des agents pathogènes mineurs, donnant lieu à de fréquentes guérisons spontanées. Il est désormais prouvé qu'ils peuvent provoquer des infections mammaires chroniques non négligeables, caractérisées par des taux cellulaires modérés, entre 200 000 et 400 000 cellules/ml. Les SCN suscitent aussi un regain d'intérêt car il a été montré qu'ils entraînent une perte de production laitière de 8 à 10 % Les trois cas d'infection mammaire à SCN présentés ici illustrent les (Bravard M, Schmitt E, 2006) .

Dans l'étude de Djuricic *et al.*, (2014) le but était de déterminer les facteurs étiologiques des mammites subcliniques chez les vaches laitières et l'efficacité du traitement en cours de lactation. Les échantillons de lait ont été effectués dans des exploitations laitières Toutes les vaches présentaient plus que 400.000 cellules somatiques par millilitre de lait. Les antibiotiques ont été choisis sur base des résultats d'antibiogrammes. Seuls 12,5 % par exemple des échantillons étaient négatifs à l'analyse bactériologique. Le traitement intra mammaire, sans utilisation d'antibiotiques par voie parentérale, s'est avéré inefficace dans autres cas.

Le traitement appliqué selon l'antibiogramme et les recommandations d'utilisation du produit, sans usage d'antibiotiques par voie parentérale, a été efficace pour 65,98 % des quartiers infectés subcliniquement. Nous suggérons donc que le traitement en cours de lactation de la mammite subclinique pourrait être adopté dans les troupeaux où les valeurs de CCS sont très élevées, impliquant une baisse de prix du lait. Par contre, il est difficile après un traitement antibiotique par voie intramammaire adéquat d'obtenir un bon taux de guérison, lorsque les agents pathogènes responsables de la mammite subclinique sont des staphylocoques ou des levures (Djuricic D, Samardzija M, Grizelj J, Dobranic T . 2014).

Conclusion

Conclusion

Tout au long de notre étude, nous avons traité des prélèvements de lait de vache, provenant de ferme expérimentale de l'université de Mostaganem . Des méthodes classiques d'isolement et d'identification des germes, et aussi une méthode rapide, ont été employées dans notre travail , nous ont permis de retenir les conclusions suivantes :

Les résultats obtenus à l'issue de notre recherche convergent tous vers la confirmation de l'hypothèse qui suppose que l'apparition des mammites est liée à un manque d'hygiène des lieux d'hébergement des vaches et à un environnement insalubre.

Les germes isolés dans notre étude sont les mêmes agents cités dans la bibliographie. En effet, les staphylocoques à coagulase négatif représente le germe le plus rencontré qui a une importance mineure.

De même que, le SCN est l'espèce la plus fréquemment isolée de mammite clinique et est en cause dans la plupart des mammites subcliniques en phase de lactation.

L'analyse bactériologique est une méthode relativement simple à mettre en oeuvre par les praticiens de formation mais nécessite des produits et du matériel spécialisés. 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 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 conclusions de notre travail ont montré que les mammites à réservoirs mammaires sont le problème majeur tant dans les infections cliniques que subcliniques. Pour en réduire l'incidence et la prévalence, la mise en place de plans de lutte contre les mammites.

Annexes

ANNEXE A

Formules des milieux de cultures

1. *Gélose 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

2. Milieu de Rothe

Composition et Préparation

constituants	Qualité en g/l
Peptone	20.00
Glucose	5.0
Azide	0.20
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

3. Gélose Mac Conkey

Composition et préparation

Constituants	Qualité en g/l
peptone	20.0
sucre	10.0
sels biliaires	1.5
cristal violet	0.001
rouge neutre	0.05
chlorure de sodium	5.0
Agar-agar	15.0

Dissoudre 51,5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 121°C ;Ph=7.1 ±0,1

4. Eva Lis key

Composition et préparation

Constituants	Qualité en g/l
Peptone de viande	10.00
Phosphate monopotassique	2.70
Peptone de caséine	10.00
Chlorure de sodium	5.00
Glucose	5.00
Azide de sodium	0.30
Phosphate dipotassique	2.70
Ethyl violet	0.0005

Dissoudre 35,7 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15 min à 121°C ;Ph=7.0 ±0,2

ANNEXE B

Les différents milieux de culture et technique utilisé pour l'isolement et l'identification des prélèvements :

Caractéristiques des milieux de culture et techniques d'ensemencement.

Non de milieu	Caractéristique
Chapman	Ce milieu contient une base peptonée, un rouge phénol et un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75 g.L-1)), ce qui permet un isolement sélectif de staphylocoques tolérant les fortes concentrations en Na Cl. Milieu sélectif et différentiel pour l'isolement du <i>Staphylococcus aureus</i>
MacConkey	La gélose Mac Conkey est un milieu d'isolement ordinaire, lactosé et sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeant Le désoxycholate de sodium et le cristal violet inhibe la croissance des bactéries à Gram positif. La présence de lactose et de rouge neutre permet de connaître le caractère lactose des bactéries.
Rothe	Le milieu de Rothe est un milieu de culture utilisé pour l'enrichissement en Enterococcus (microbiologie alimentaire). Le Bouillon de Rothe est utilisé pour la confirmation lors des recherches et dénombrements des Streptocoques fécaux dans les eaux d'alimentation et résiduaires, les produits surgelés et les autres denrées alimentaires par la méthode du nombre le plus probable
Eva Lis key	Le Milieu de Litsky est utilisé pour la confirmation lors des recherches et dénombrements des Streptocoques fécaux dans les eaux d'alimentation et résiduaires, les produits surgelés et les autres denrées alimentaires par la méthode du nombre le plus probable. Après une culture positive sur milieu de Rothe, la présence d'éthyl violet et d'azide de sodium du milieu de Litsky inhibe la croissance des tous les micro-organismes autres que les Streptocoques fécaux.

Références

Bibliographiques

- **Addis MF. et al. (2016).** Evaluation of milk cathelicidin for detection of bovine mastitis. *Journal of Dairy Science*, 99, pp. 8250-8258.
- **Anses .(2017) .** Note sur le statut juridique du médicament vétérinaire au regard des produits à base de plantes [en ligne]. URL : <https://www.anses.fr/fr/system/files/ANMV-2013-09-25-medicaments-et-produits-frontieres.pdf> [consulté le 05 juin 2017]
- **Baudet, HM. et Chieze, C. (1994).** Enquête sur la nature et la fréquence des espèces bactériennes isolées dans les mammites subcliniques bovines au tarissement. *Bull. Soc. Vét. Prat. de France*, 78 (3) : pp. 129 – 136 .
- **Bendiab N. (2012).** *Analyse de la conduite d'élevage bovin laitier dans la région de Sétif. Mémoire de Magister.* Université Ferhat Abbès, Sétif (Algérie) .
- **Bidaud O , Houffschmitt, P ,Viguerie Y. (2010).** *Etiologie des mammites bovines en France entre 2005 -2007.* Journées bovines nantaises. pp 121-122 .
- **Billon P et al . (2004) .** Machines à traire et mammites : comment interpréter les contrôles et les observations pour mieux conseiller les éleveurs. Recueil des journées nationales des GTV à Tours, 833-839 p.
- **Blind JL, Leplatre J, Poutrel B. (2004)** Les mammites : l'échantillon et son exploitation. Mise au point technique. Role du praticien et du laboratoire. *Bulletin des G.T.V.*, B206 : 17-27 , p 48.
- **Bosquet G. (2004).** *Mammites des bovins (cliniques et subcliniques). Référentiel vétérinaire 2013 pour le traitement des mammites bovines. In : JNGTV (2013). Proceedings la prévention, approches opérationnelles, 15-17 mai 2013, Nantes.* SNGTV, 995 p.
- **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.* « Ouvrons le dossier », conférence de consensus organisée par le laboratoire Boehringer Ingelheim, Novembre 2005 : p 45.
- **Bouchot M C. et al. (1985).** Diagnostic bactériologique des infections mammaires des bovins. *Recueil de médecine vétérinaire : Les mammites bovines*, 161, (6-7), pp. 567-577.
- **Bravard M, schmitt-van de leemput E. (2006).** *Infection a staphylocoques coagulase négatif.* *Le Point Vétérinaire*, 37(266), pp. 76-79
- **Cha E. et al. (2011).** The cost and management of different types of clinical mastitis in dairy cows estimated by dynamic programming. *Journal of Dairy Science*, 94(9), pp. 4476- 4487 .

- **Clementine Charton . (2017) .** Caractérisation de l'adaptation de la glande mammaire des vaches laitières à l'allongement de l'intervalle entre traites - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Anatomie-de-la-glande-mammaire-de-vache_fig4_321790365 [accessed 26 Jul, 2020].
- **Debriel(2008).** Les mammites bovines, *Corynebacterium bovis*, un cas particulier [Internet]. Les mammites bovines. 2008 [cité 2 oct 2016]. Disponible sur: http://biosol.free.fr/liens/mammi_2008/les_mammites_bovines_traite.htm
- **Djabri *et al.* . (2002) .** Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows : a meta-analysis, *Vet. Res*, 33: p 335-357.
- **Djelouat S. (2009) .** Les *Escherichia coli* , Les colibacilles étude bactériologique et diagnostic .
- **Djuricic D, Samardzija M, Grizelj J, Dobranic T. (2014) .** effet du traitement intramammaire des mammites subcliniques pendant la lactation en élevages bovins laitiers au nord-ouest de la croatie .
- **Dominique , Djurdjevac SA ., Malinov Trg , Djurdjevac, Croatie (2010) .** 2 Clinique d'obstétrique et de reproduction, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Zagreb, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatie Manuscrit soumis le 12/03/2014 .
- **Durel I , Faroult B, Lepoutre D, Brouillet P. (2004) .** Le Page Démarches diagnostiques et thérapeutiques. *La Dépêche Technique*.
Supplément technique 87 à la *Dépêche Vétérinaire* du 20 Décembre 2003
au 2 Janvier 2004. P.39 .
- **Durel L, Poutrel B. (2006).** Diagnostic bactériologique des mammites pour le vétérinaire praticien. *Solutions pratiques et limites*. *Bulletin des G.T.V.*, 33 : p 43-53
- **Duval J. (2008).** Soigner les mammites sans antibiotiques *Agro. Bio-* 370 – 11 p 4-6.
- **Eaton, AD., IS. Clesceri, and AE. Greenberg (ED) . (2010) .** Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. USA
- **Emmanuel, Francois, Jean Barrot Debreil (2008).** Les analyses bactériologiques du lait des infections mammaires bovines applicables au cabinet vétérinaire en pratique courante et leurs intérêts dans le traitement des mammites. thèse de doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort (France).

- **Fogsgaard K.K. et al. (2012).** Sickness behavior in dairy cows during Escherichia coli mastitis. *Journal of Dairy Science*, 95(2), pp. 630-638
- **fogsgaard KK., Bennedsgaard T.W. et Berskin MS. (2015).** Behavioral changes in freestall-housed dairy cows with naturally occurring clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 98(3), pp. 1730-1738.
- **Fratini F. et al. (2017).** A novel interpretation of the Fractional Inhibitory Concentration Index: The case *Origanum vulgare* L. and *leptospermum scoparium* J.R. et G. Forst essential oils against *Staphylococcus aureus* strains. *Microbiological Research*, 195, pp. 11-17.
- **Institut D'élevage (2009).** Traite des vaches laitières. Matériel, installation, entretien, 1ère édition France agricole. Produire mieux. p :55-506 .
- **Gedilaghine V. (2005)** . La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action G.T.V. Partenaire dans le département de la Manche. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Maisons Alfort, p 106 .
- **Lepage P. (2003).** Les moyens de diagnostic des infections mammaires en exploitation. Journées Nationales des G.T.V., Nantes. p 319-330 .
- **Levesque P. (2004).** La traite des vaches laitières Etape par étape vers la qualité Guide pratique. Edition Educagri. Québec .
- **Leyral Joffin, (2001)** . Speed Mam Color [Internet]. [cité 5 mai 2017]. Disponible sur: <https://www.bvt.fr/home/diagnostic-solutions/pour-le-veterinaire-praticien/produit-1/main/produits/speed-mam-color-1.htm>
- **Madec J-Y. (2011).** L'antibiogramme : pour une meilleure gestion de l'antibiothérapie. *La dépêche technique*, 126, pp. 15-17.
- **Niar A , Ghazy K, Dahache SY. (2000)** . incidence des mammites sur les différents élevages bovins de la wilaya de Tiaret 4 séminaire international de médecine constantine 21-22 novembre 2000.
- **O'halloran F. et al. (2016).** Lactoferrin affects the adherence and invasion of *Streptococcus dysgalactiae ssp. dysgalactiae* in mammary epithelial cells. *Journal of Dairy Science*, 99(6), pp. 4619-4628 .
- **Postras E., Houde A.(2002).** La PCR en temps réel : principes et applications. vol.2, No2, pp.2-11.
- **Poutrel, B. (1985).** Généralités sur les mammites de la vache laitière : Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic et méthode de contrôle. *Bull. Soc. Vét. Prat. DeFrance*, 161 (6-7) : 497 – 511.

- **Remy D., (2010).** Les mammites. (Groupe France Agricole). Edition Fevrier 2010.ISBN978-2-85557-171-3. P .19. 23.49
- **Renc. Rech. Ruminants. (2013).** influence de la mammite sur les propriétés technologiques du lait et sur la qualité des produits laitiers. Station Laitière de l'Etat, Melle (Belgique).
- **Renée R.K. (2012).** Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milk products. Third edition. Edition John Wiley and sons, INC. New York.
- **Roy JP., Schmitt E.(2014) .** maladies de la glande mammaire et des trayons : infections de la glande mammaire : mammite. in : francoz d., couture y. (dir.) (2014). manuel de médecine des bovins. paris : med'com, pp. 485-495 .
- **Ruegg P. (2011) .** Managing mastitis and producing quality milk. In Risco C.Melendez Retamal P. (2011). Dairy production medicine. Blackwell Publishing Ltd., pp. 207-232 .
- **Sante et maladies . (2015) .** A multilocation clinical trial in lactating dairy cows affected with clinical mastitis to compare efficacy of treatment with intramammary infusions of lincomycin/neomycin combination with ampicillin/ cloxacillin an combination. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic 22, 274-282.
- **Schmitt E, Legay JB, Berthelot X, Bousquet-melou A, Durel I, Salat O, Bosquet G, Serieys F. (2007).** Localisation des bactéries et traitements des mammites en lactation. « Ouvrons le dossier », session 2 Conférence de consensus . organisée par le laboratoire Boehringer Ingelheim, Fevrier 2007. p : 63.
- **Schmitt-van de Leemput E, Schmitt-Beurrier A. (2013).**
Bactériologie sur le lait en clientèle. Le Point Vétérinaire, 36(255) : 52-53 .
- **Schott G . (1966).** influence de la mammite sur la composition de la matière azotée des laits de quartiers et sur les dosages de matière azotée par la méthode noir amido et l'appareil Infra Red Milk Analyser .
- **Schukken Y.N. et al. (1989).** Effect of freezing on bacteriologic culturing of mastitis milk samples. Journal of Dairy Science, 72(7), pp. 1900-1906
- **Serieys F, (2008) .** Ecologie des germes et prévention des infections mammaires inhabituelles, recueil du congrès de la SNGTV, Nantes, 885-891p.
- **Serieys F., Gicquel-Bruneau M. (2005).** Les souches de Staphylococcus aureus responsables de mammites subcliniques sont-elles homogènes intra-troupeau pour la production de β -lactamase et la résistance à la pénicilline ? In : Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires, Nantes, 25-26-27mai 687-690p.

- **Smith B P, (2008)** . Mammary gland health and disorders. Large animal internal medicine, fourth edition: p 1112-1119
- **Steeneveld W. et al. (2011)**. Cow-specific treatment of clinical mastitis: an economic approach. Journal of Dairy Science, 94(1), p174-188.
- **Taponen S, Pyorala S. (2007)**. C.N.S. Emerging pathogen. Heifer Mastitis

Conference, Final Program and Abstract Book, Ghent Belgium, juin 2007: p 18-20 .

- **Van de Leemput E. (2007)**. Analyse bactériologique du lait. Conférence organisée par le laboratoire Pfizer pour les vétérinaires en exercice, Nantes, Mai 2007

Table de Matières

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations, sigles, acronymes et symboles.....	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des figures.....	III
Liste des annexes	VI
Introduction	15

Première partie. Étude bibliographique

Chapitre I : Mammmites chez les bovins

1. Rappels anatomique de la glande mammaire	17
2. Définition d'une mammite	18
3. Différents types de mammmites.....	19
3.1. Les mammmites cliniques.....	19
3.1.1. Les mammmites suraiguës.....	19
3.1.1.1. Mammmites dites colibacillaires	19
3.1.1.2. Mammmites gangréneuses	20
3.1.2. Les mammmites aiguës.....	20
3.1.3. Les mammmites chroniques.....	20
3.2. Les mammmites subcliniques.....	21
3.3. Les mammmites d'été	21
4. Origine des mammmites.....	23
4.1. Le modèle hexagonal	23
4.1.1. Animal	23
4.1.2. Les Microbismes	23
4.1.3. L'alimentation.....	24
4.1.4. Logement	24
4.1.5. Eleveur et conduite d'élevage	24
4.2 . Bactéries impliquées dans les mammmites.....	24
4.2.1 Agents pathogènes majeurs.....	24

4.2.2 Agents pathogènes mineurs	25
5. Les principaux germes responsables de l'infection inframammaire.....	26
5.1. Les Bactéries	26.
5.1.1. Germes environnementaux.....	26
5.1.1.1. <i>staphylococcus</i>	27
5.1.1.2. <i>Escherichia coli</i>	27
5.1.1.3. <i>Streptococcus uberis</i>	28
5.1.1.4. <i>Corynebacterium bovis</i> (<i>C. bovis</i>).....	28
5.1.1.5. <i>Streptococcus dysgalactiae</i> (<i>Str. dysgalactiae</i>).....	29
5.1.1.6. <i>Enterococcus sp. (incl. faecalis et faecium)</i>	29
5.1.1.7. <i>Klebsiella sp. (incl. oxytoca et pneumonia)</i>	29
5.1.1.8. <i>Serratia marcescens</i> (<i>S. marcescens</i>).....	29
5.1.1.9. <i>Arcanobacterium pyogenes et Peptostreptococcus indolicus</i> (<i>A.pyogenes et P. indolicus</i>).....	29
5.1.1.10. Facteurs favorisant une mammite d'origine environnementale.....	30
5.1.2. Germes contagieux	31
5.1.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>Staph.aureus</i>).....	31
5.1.2.2. <i>Streptococcus agalactiae</i> (<i>Str. Agalactiae</i>).....	32
5.1.2.3. Autres bactérie.....	32
5.2. Levures, champignons et algues	33
6. Influence de la mammite	33
6.1. Sur la morphologie de la glande mammaire et du trayon.....	33
6.2. Sur la composition du lait	34
6.3. Sur la qualité des produits laitiers.....	34
a. Lait de consommation.....	34
b. Fromage.....	34
7. Importance des mammites bovines.....	35
7.1. Importance médicale.....	35
7.2. Importance sanitaire	35
7.3. Importance économique	35

Chapitre II : Méthodes de Diagnostic des infections mammaires

1. Méthodes de Diagnostic.....	37
1.1. Diagnostic clinique.....	37
1.1.1. Examen clinique de la mamelle.....	37
1.1.2. Examen de la sécrétion lactée	38
1.1.3. L'examen clinique général	39
1.1.4. Gradation des mammites.....	39
1.2. Comptage cellulaire.....	39
1.2.1. Concentration cellulaire somatique individuelle (CCSI) et concentration cellulaire somatique de tank (CCST) Les concentrations cellulaires somatiques individuelles (CCSI.) et de tank (CCST)	39
1.2.2. California mastites test (CMT).....	41
1.2.2.1. définition	41
1.2.2.2. utilisation	41
1.2.2.3. comment lire les résultats	42
1.2.3. Mesure de conductivité du lait.....	44
1.3. Modèle épidémiologique.....	45
1.3.1. Modèle environnemental.....	46
1.3.2. Modèle contagieux	46
1.3.3. Modèle mixte.....	47
1.4. Facteurs de risques.....	47
1.5. Examens complémentaires.....	48
1.5.1. Bactériologie L'examen bactériologique du lait.....	48
1.5.2. Polymérase Chain Réaction (PCR) La méthode de PCR.....	53
2. Prévention des mammites	54

Deuxième Partie. Recherche Expérimentale

Chapitre I. Matériel et méthodes

1.Objectif	59
2.Présentation de la zode d'étude.....	59
2.1. Exploitation	59
2.2. Animaux	59
3.Méthodes	60
3.1. Prélèvement	60
3.2. Technique de prélèvement	60.
3.3. Conservation de prélèvement	61
4. Analyses bactériologique.....	61
4.1. isolement et ensemencement Bactérienne	61
4.1.1. Isolement sur la boîte pétri.....	61
4.1.2. Isolement sur Bouillon	64
4.2 Purification	65
4.3 Identification bactériennes.....	66
4.3.1. Examen macroscopique.....	67
4.3.1.1. aspect des colonies	67
a. la forme	67
b . le relief	67
c. le conteur	68
d. la taille	68
e. la surface.....	69
f. le couleur.....	69
g. autres caractères.....	70
4.3.2. Examen microscopique	70
4.3.2.1. Coloration de gram	70
4.3.2.2. Test d'oxydase	71
4.3.2.3. Test catalase.....	71

4.3.2.4. Test coagulase.....	72
4.3.2.5. Test hémolyse	72.

Chapitre II. Résultats

5. Résultats de l'analyse	76
5.1. Isolement et ensemencement	76
5.1.1. Ensemencement sur le milieu Macconkey	76
5.1.2. Ensemencement sue le milieu Chapman.....	76.
5.1.3. Ensemencement sur milieu Rothe.....	77
5.2. Les résultats deuxième étape (purification)	78
5.2.1. purification sur milieu Chapman	78.
5.2.2. Purification sur le bouillon Eva Litsky	79
5.3. Résultats de troisième étape (Identification bactérienne)	80
5.3.1. Examen macroscopique	80
5.3.2. Examen microscopique	80
5.3.2.1. Coloration de gram.....	80
5.3.2.2. Test d'oxydase.....	81
5.3.2.3. Test catalase.....	81
5.3.2.4. Test au plasma de lapin (coagulase).....	82
5.3.2.5. Recherche d'hémolyse par gélose au lapin	82

Chapitre II. Discussion

1. Types de germes isolés	84
2. Staphylocoques à coagulase négative.....	84
Conclusion	87
Annexes	89
Liste des références.....	93

Résumé

ملخص

Abstract