

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE -ALGER

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر

**PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE**

THEME

**PREVALENCE DES MAMMITES
BACTERIENNES CHEZ LES VACHES
LAITIERES**

**Présenté par : - Gouiceme Miloud.
-Bousaid abdelkader.
-Hadj cherif Hocine.**

Soutenu devant le jury :

Présidente : Mme SAHRAOUI. (maitre assistante classe A à l'ENSV)

Promotrice : Mme BOUDIAF S. (maitre assistante classe A à l'ENSV)

Examinatrice : Mme ALLOUACHE. (maitre assistante classe A à l'ENSV)

Examinatrice : Mme ZOUAMBI. (maitre assistante classe B à l'ENSV)

Année universitaire : 2012/2013



Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu, le tout puissant qui a éclairé notre chemin.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à :

A M^{Dme}BOUDIAF Chargée de cours à l'école nationale vétérinaire, qui nous a encadrés et conseillés tout au long de notre travail, et sans qui nous aurons tourné en rond sans résultat aucun et grâce à qui ce mémoire a vu le jour, nous témoignons la plus profonde de toutes les reconnaissances.

A Mme SAHRAOUI Chargé de cours à l'école vétérinaire d'Alger, d'avoir bien voulu Accepter de présider le jury.

A Mme ALLOUACHE Chargé de cours à l'école vétérinaire d'Alger, d'avoir bien Voulu Examiner ce mémoire.



A Mme ZOUMBI Chargé de cours à l'école vétérinaire d'Alger, d'avoir bien Voulu Examiner ce mémoire.



Dédicaces



Louange à Allah, maître de l'univers.

Paix et Salut sur notre Prophète Mohamed

*Aux êtres les plus chers que j'ai dans ma vie ma mère
et mon père Qui m'ont soutenu avec tout ce qu'ils ont ;*

*A mes frères et ma chère soeur ;
A toute ma grande famille ;
A tous mes amis particulièrement benAlia, walide,
Lamine ,Attia et Mohemed*

*A mes amis de l'ENSV ; Ali, Housseme , khalile,
Mohemed et Baker*

*A mon binôme Hocine et Abdelkader.
Les frères de Bouraoui et tous mes camarades et amis
de promotion A tous ceux que j'aim*



Miloude, Gm



Dédicace

A mes parents :

L'offre ce travail, résultats de mes efforts et fruits de votre éducation .A toi ma chère maman, source du plus précieux soutien, pour ta douceur, ta bonté et ta précieuse tendresse, je te témoigne respectueusement ma reconnaissance et ma gratitude pour tout ce que tu as fait pour moi depuis ma naissance.

A toi mon cher père, merci infiniment pour tout. Pour l'éducation que tu m'as donnée, pour l'enseignement de la vie, pour ton dévouement et pour les sacrifices que tu t'es imposé pour m'assurer la belle vie et la réussite.

« Mon père, ma mère, je ne vous remercierai jamais assez, que dieu vous garde ».

A mes trois frères ; Mohmed,Moustafa et Ali

A mes amis :Redouane, Gm, Hocine, Hamza, Lotfi, Abdelkader, Miloud et Gani . Les frères de Bouraoui et tous mes camarades et amis de promotion.

A tous ceux que j'aime.

Bousaid AEK.

DEDICACES

Louange à Allah, maître de l'univers.

Paix et Salut sur notre Prophète Mohamed

A mes parents qui ont consenti d'énormes sacrifices pour me voir réussir, pour l'enseignement de la vie et pour l'éducation qu'ils m'ont donnée et tous les conseils et encouragements qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études.

Je leur dois reconnaissance et gratitude.

A mes frères BOUALI ,ABDERRAHMAN ,KARIM ET NASREDDINE

Qu'ils trouvent ici le témoignage de mon affection et de mon respect.

A tous mes amis : BOUSAID ABDELKADER ,GOUCEM MILOUD ,RADHWAN HAMIMED ,ABID OSSAMA ,BELMAKHFY ZAKI ,BENHAMADA HAKIM ,CHEHLI ISAM ,GEDIRI MORAD et atto Mohamed.

A mes camarades de promotion 2013 que j'apprécie beaucoup.

A vous tous, merci de votre amitié.

HADJ CHERIF HOCINE

SOMMAIRE

Introduction.....1.

Partie bibliographique

Chapitre I : Etude générale des mammites

I.1.Structure anatomique et histologique de la glande mammaire.....2.

I.2.Composition de lait3.

I.3.Définition d'une mammite.....3.

I.4.Classification des mammites.....4.

I.4.1. La mammite clinique.....4.

I.4.1.a. La mammite suraiguë.....4.

I.4.1.b. La mammite aiguë.....5.

I.4.1.c. La mammite chronique.....5.

I.4.2. Les mammites subcliniques.....5.

Chapitre II : Etiologie des mammites.

II.1.Les germes impliqués lors de mammite.....6.

II.1.2. Agents pathogènes majeurs.....6.

II.1.2.Agents pathogènes mineurs8.

II.2.Les facteurs favorisant des mammites...10.

II.2.1.Facteurs liés environnement10.

II.2.2.Facteurs liés aux caractéristiques du troupeau.....11.

II.2.3.Les facteurs liés à la machine à traire11.

II.3.Epidémiologie.....12.

II.4.Evolution des mammites.....	12.
II.5.Diagnostic de la mammité	12.
II.5.1. Examen clinique de la mamelle.....	13.
II.5.2. Examen de la sécrétion lactée.....	13.
II.5.3. Le « Californian mastitis test » (CMT)	13.
II.5.4. Diagnostic bactériologique.....	14.
II.6. Incidence des mammites.....	14.
A / Incidence économique	14.
B/ Incidence sur la santé humaine.....	15.

Chapitre III : Traitement et prophylaxie

III.1.Traitement.....	16.
III.1.2.Traitement des mammites cliniques.....	16.
III.1.3.Traitement des mammites subcliniques.....	17.
III.1.4.Les causes d'échec de traitement.....	17.
III.2. Prophylaxie	17.
III.2.1. Prophylaxie médicale	17.
III.2.2.Prophylaxie sanitaire.....	18.

PARTIE EXPERIMENTALE

I. OBJECTIFS.....	19
II.MATERIELS ET METHODES.....	19
III. ANALYSE BACTERIOLOGIQUE.....	21
III.1.Enrichissement.....	22
III.2.Isolement	22

III.3.Etude microscopique	23
III.4.Purification et conservation des souches isolées.....	23
III.5.Identification par les tests biochimiques.....	24
IV. ANTIBIOGRAMME.....	28
V. RESULTATS ET INTERPRETATION.....	29
V.1.Résultats de l'analyse de laboratoire.....	29
V.2.Résultats de l'antibiogramme.....	32
VI.DISCUSSION.....	36
VII.CONCLUSION.....	38
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	39

LISTE DES ABREVIATIONS

C° : degré Celsius.

E. coli : Escherichia coli.

C .M.T : Californian mastitis test.

g : gramme.

l : litre.

Kg : kilogramme.

ml : millilitre.

um : microgramme.

St. aureus : Staphylococcus aureus .

LDC : lysine- Décarboxylase.

TDA : Tryptophane Désaminase.

IND : Indole.

CIT : Citrate.

GEL : gélatine.

ODC : Ornithine décarboxylase.

H₂S : sulfure d'hydrogène.

URE : Uréase.

GLU : (glucose), MAN :(Mannitol), INO : (Inositol), SOR : (Sorbitol), RHA : (Rhmnose),
SAC : (Sucrose), MEL : (Mélobiose), AMY : (L+ arabinose).

LISTE DES FIGURES

PARTIE EXPERIMENTALE

Figure1: Technique de prélèvement du lait pour examen bactériologique (d'après FAROULT 2006).	20
Figure2 : résultats de l'analyse des prélèvements de CHERAGA.....	30
Figure 3: résultats de l'analyse des prélèvements de BABA ALI	31
Figure 4: pourcentage de résistance des entérobactéries (CHERAGA et BABA ALI) Aux antibiotiques.....	33
Figure 5 : pourcentage de sensibilité des entérobactéries (CHERAGA et BABA ALI) Aux antibiotiques.....	34
Figure 6 : pourcentage d'intermédiaire des entérobactéries (CHERAGA et BABA ALI) Aux antibiotiques.....	35

LISTE DES PHOTOS

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Photo 1: Structure interne de la glande mammaire de la vache (GILBERT ET AL ; 2005).....	2
--	---

PARTIE EXPERIMENTALE

Photo personnelle 1 : 1.résultat obtenu après culture sur Mac conckey.E.coli.....	23
2. résultat obtenus après culture sur Chapman.Staph	
Photo personnelle 2 : coloration de gram.....	23
Photo personnelle 3 : conservation des souches isolées sur gélose nutritive.....	24
Photos personnelle 4 : de galerie api20 ^E	27
Photo personnelle 5 : l'Antibiogramme sur de boite de pétri contenant . Gélose Mueller- Hinton.....	28

LISTE DES TABLEAUX

Partie bibliographique :

Tableau 1 : Composition chimique du lait (g /l) (VIGNOLA C.L, 2002).....3

Partie expérimentale :

Tableau 1 : Résultats d'analyse des prélèvements CHERAGA29

Tableau 2: Résultats d'analyse des prélèvements Baba Ali30

Tableau 3: résultats de l'antibiogramme (CHERAGA, BABA ALI) :.....32

Tableau 4 : taux de résistance des entérobactéries (CHERAG et BABA ALI)33

Tableau 5: taux de sensibilité des entérobactéries (CHERAG et BABA ALI)33

Tableau 6 : taux d'intermédiaire des entérobactéries (CHERAG et BABA ALI)34

INTRODUCTION

Le lait est un aliment biologique complet de part sa composition, sa qualité nutritive et son cout réduit. Il tient une place importante dans l'alimentation humaine et animale, il comble nos besoins et assure le bon fonctionnement de l'organisme.

Cependant cette denrée constitue un milieu très favorable au développement de certains germes occasionnant des mammites chez les vaches laitières, rendant le lait impropre à la consommation.

Ces différentes contaminations induisent différentes sortes de mammites, leur perception est difficile et ne peut être décelable que par les techniques d'analyses microbiologiques du lait.

Les mammites occasionnent des pertes économiques considérables, en raison de la chute de la production laitière, des pertes dans la quantité et qualité du lait et ses dérivés sans oublier les coûts thérapeutiques et prophylactiques.

L'objectif de notre travail est une approche d'évaluation du degré de contamination du lait de vache par les différents germes et principalement les entérobactéries au niveau de la région d'Alger dans deux élevages BABA ALI et de CHERAGA.

I.1. Structure anatomique et histologique de la glande mammaire :

Les mamelles sont des glandes cutanées spécialisées dont la fonction de sécrétion du lait (THESE D'ETAT, 1992, 6-20). Elle est formée de quatre quartiers qui comportent une partie purement glandulaire. Le parenchyme mammaire est constitué de lobes, eux-mêmes divisés en lobules formés d'acini ou d'alvéoles glandulaires. Chaque alvéole est constituée principalement d'une couche monocellulaire (lactocytes) qui est le lieu de synthèse du lait (KEHRLI J R., SHUSTER E 1994, 77, 619-627). Les alvéoles mammaires sont de petites usines de lait. Elles travaillent jour et nuit. ; Elles prennent les éléments nutritifs nécessaires (glucose, acides aminés, acides gras, eau et sels minéraux) du sang pour les transformer en lait qui se collecte à l'intérieur de la lumière alvéolaire (PERRIN COUILLOUD 1992).

Au moment de la traite, les cellules myoépithéliales stimulées par l'ocytocine se contractent pour expulser le lait de la lumière alvéolaire à travers le canal alvéolaire vers les canaux galactophores puis vers le sinus lactifère (LEE C.S., WOODING F.B.P., KEMP P.1980). Sur le bassinnet s'ouvrent de nombreux gros canaux lactifères qui conduisent le lait vers le trayon au fur et à mesure que ces canaux remontent vers le haut de la mamelle, ils se ramifient à la façon des branches et branchettes d'un arbre. Les canaux les plus fins et les canalicules débouchent sur les alvéoles (PAAPE M ET AL 2003-FAROULT B1994).

La mamelle de la vache laitière forte productrice de lait est un organe pourvu d'une forte vascularisation, puisque ce système de vaisseaux apporte les éléments nécessaires à la formation du lait par les lactocytes (PERRIN COUILLOUD 1992).

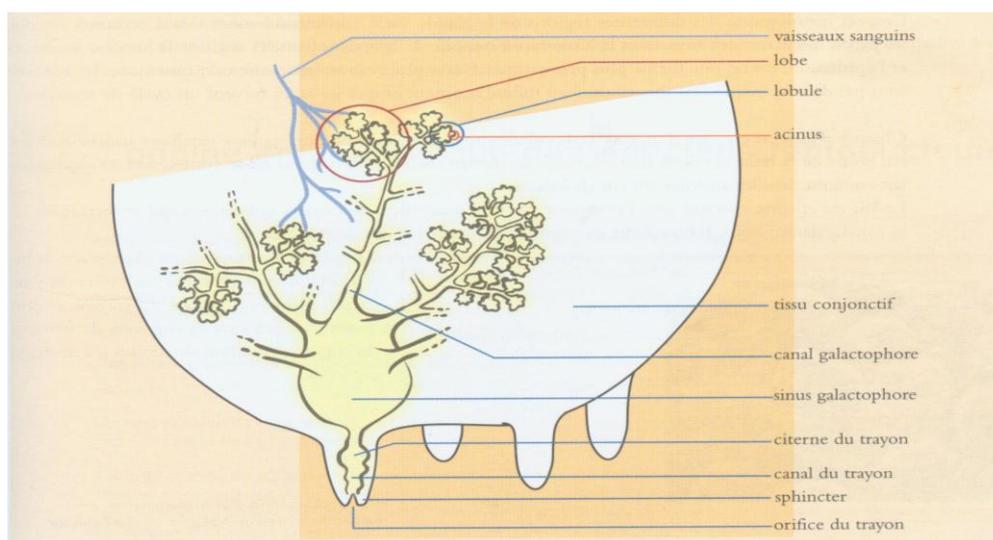


Photo n°1 : Structure interne de la glande mammaire de la vache (GILBERT ET AL ; 2005)

I.2.Composition du lait de vache :

Le lait est un système complexe hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent : Une phase aqueuse qui contient l'eau (87% du lait) et les éléments solubles donnant naissance au lactosérum, une suspension colloïdale micellaire (2,6%) donnant naissance au caillé et une émulsion (4,2%) donnant naissance à la crème, une couche de globules gras rassemblés à la surface du lait par effet de gravité (DEBRY G, 2001).

Tableau1 : Composition chimique du lait (g /l) (VIGNOLA C.L, 2002)

Eau	902
Matières sèches	130
Glucides (lactose)	49
Matières grasses	39
Lipides	38
Phospholipides	0,5
Composés	0.5
Matières azotée	33
Protéines	32.7
Caséines	28
Protéines solubles	4.7
Azote non protéique	0.3
Sels	9
Biocatalyseurs, enzymes, vitamines	Traces

I.3. Définition d'une mammite :

Les mammites sont des problèmes courants rencontrés dans les élevages qui peuvent occasionner des pertes économiques importantes. En effet, elles entraînent des pertes de production mais aussi des changements de composition et de qualité du lait, il devient plus pauvre en calcium, phosphore, protéines et matières grasses, mais plus riche en sodium et chlore. En outre, les mammites sont des inflammations des tissus mammaires, dues à la pénétration de bactéries, dans un ou plusieurs quartiers, qui après multiplication déclenchent une réaction inflammatoire plus ou moins forte. Cette réaction peut dans certains cas être associée à une libération de toxines. (DURELL et al 2004)

I.4. Classification des mammites :

On peut classer les mammites selon les modifications de la mamelle (chaleur ,douleur , rougeur, gonflement), la composition du lait (grumeaux, couleur) (FAROULT B2000-BLOOD D .C., HENDERSON J. A, 1976) :

- les mammites cliniques avec des symptômes visibles.
- les mammites sub-cliniques ou inapparentes.

I.4.1. La mammite clinique :

Les mammites cliniques s'accompagnent parfois d'une très grande forte réaction inflammatoire et de symptômes graves qui peuvent être spectaculaire (congestion, œdème, sécrétion du lait décomposée ou purulente, abcès, fistule, gangrène...) et parfois sont associées des signes généraux plus moins intenses (hyperthermie, trouble nerveux, amaigrissement...) (FAROULT B.2002, POUTREL B.1985, WEISEN J. P.1974).

I.4.1.a.La mammite suraiguë :

C'est une inflammation très brutale de la mamelle apparaissant habituellement dans les jours suivant le vêlage. La mamelle est extrêmement congestionnée, douloureuse, chaude et volumineuse. L'état général de l'animal est généralement très affecté : on peut noter de la fièvre et un abattement profond. La sécrétion lactée est soit interrompue, soit très modifiée et récente alors un aspect séreux, aqueux ou hémorragique. Ce type de mammite se caractérise par une très grande rapidité d'apparition et d'évolution. Elle est rare mais souvent mortelle. (CH .HANZAN, LOUP CASTEIGNE. 2002). Elle peut revêtir deux formes caractéristiques :

A/Paraplégique:

Pouvant entraîner le décubitus de l'animal, elle est le plus souvent due à des coliformes et se caractérise par un syndrome d'hypothermie.

B/Gangreneuse:

Se caractérise par une nécrose rapide du quartier atteint après une phase d'intense inflammation et formation d'un sillon disjoncteur séparant les tissus vivants des tissus morts. Ceux-ci sont bleuâtres à noirâtres et froids, la sécrétion est alors nauséabonde. Cette mammite est due le plus souvent au Staphylococcus aureus ou parfois à des bactéries anaérobies telles le genre Clostridium (CH .HANZAN, LOUP CASTEIGNE. 2002).

I.4.1.b. La mammite aiguë

C'est une inflammation brutale de la mamelle ne s'accompagnant pas d'effets généraux. Les symptômes restent localisés au niveau de la mamelle qui apparaît rouge, gonflée, douloureuse et chaude. La production laitière est modifiée en qualité et en quantité. Cette mammite évolue moins rapidement que la précédente, parfois pendant quelques semaines, mais peut dans certains cas, conduire à la mort de l'animal. Elle survient à tous les stades de la lactation et est déclenchée par différentes bactéries. (CH .HANZAN, LOUP CASTEIGNE. 2002).

I.4.1.c. La mammite chronique :

C'est une inflammation modérée mais persistante de la mamelle, évoluant lentement sur plusieurs mois, voire plusieurs années, parfois durant la vie entière de l'animal. Elle fait suite à une mammite aiguë ou suraiguë. L'état général de l'animal n'est pas affecté. Les signes locaux sont extrêmement discrets et Le lait présente, des grumeaux dans les premiers jets, la sécrétion diminue, le quartier s'indure et finit par se tarir complètement. Cette évolution chronique est la forme la plus caractéristique des infections dues à des Streptocoques ou à des Staphylocoques (CH. HANZAN, J.LOUP CASTEIGNE .2002).

I.4.3.Les mammites subcliniques:

Il n'y a pas d'inflammation macroscopique évidente, mais l'examen du lait révèle l'existence d'une infection, une augmentation du comptage cellulaire et également une altération des propriétés chimiques du lait. (POUTREL B 1985, WEISEN J. P1974).

II.1. Les germes impliqués lors de mammites :

On a pour habitude de classer les différents germes responsables de mammites en deux groupes, les pathogènes majeurs et les pathogènes mineurs :

II.1.1. 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* (*agalactiae*, *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*. (BADINAND F.1994)

a- Les Streptocoques:

-Le streptococcus *uberis* : *St. uberis* est un coque Gram positif, longtemps considéré comme peu invasif, mais dont la proportion lors de mammites cliniques ou subcliniques a doublé depuis 1985 (SERIEYS F, 2003) ,(ASSOCIATION D'AUTEUR,1985 ET BERTIN-CAVARAIT C. ET AL,2009).

Comme *St. dysgalactiae*, on le retrouve sur la peau, les muqueuses et les fèces. On a remarqué que 15% des vaches présentaient une excrétion fécale de ce germe. Ainsi il est Particulièrement présent dans les litières et les pâtures exploitées intensivement. Il est la cause à la fois de mammites cliniques et subcliniques, et induit une multiplication du taux cellulaire par 9,1 en moyenne (DJABRI ET AL, 2002).

-*Streptococcus Agalactiae* : Il est capable d'adhérer aux cellules épithéliales mammaires, en particulier dans les canaux galactophores, où il provoque une inflammation locale conduisant à l'obstruction de ces canaux et donc à une diminution de la production laitière avec présence de zones fibroses dans la mamelle. (SMITH B P, 2008)

-*Streptococcus dysgalactiae* : *St. dysgalactiae*, spécifique des bovins, que l'on retrouve sur la peau, les lèvres et les muqueuses, ainsi que dans les fèces. La source principale des infections se trouve dans l'environnement, mais une transmission de vache à vache lors de

la traite est aussi possible. Il est responsable de mammites cliniques aiguës sans répercussion sur l'état général. (REMY D.2007)

b- Staphylococcus aureus (S. aureus) :

S. aureus est une coque Gram positif, responsable principalement de mammites subcliniques, mais aussi de mammites cliniques et gangreneuses. (DJABRI ET AL, 2002)

Il est présent sur la peau et les muqueuses, mais son réservoir principal est la mamelle des vaches infectées) (ROBERSON ET AL, 1994). Il est capable d'adhérer, voire d'envahir les cellules épithéliales mammaires, ainsi que le tissu interstitiel, et possède de nombreux moyens pour déjouer la réponse immunitaire : il peut résister à la phagocytose par les neutrophiles, produire une leucotoxine permettant à certaines souches de détruire les phagocytes ou de s'introduire au sein des leucocytes et de provoquer leur apoptose. (SMITH B P, 2008)

c- Entérobactéries :

Cette famille comprend de nombreux genres, parmi lesquels trois sont impliqués fréquemment en pathologie mammaire : *Escherichia* (en particulier *E. coli* germe le plus fréquent de cette famille), *Klebsiella*, et *Enterobacter*. D'autres germes de cette famille peuvent aussi être à l'origine de mammites (*Serratia*, *Proteus*, et *Salmonella*) mais de façon moins fréquente.

Il s'agit de bacilles Gram négatifs, généralement à l'origine de mammites cliniques aiguës (symptômes locaux et généraux) et subaiguës (symptômes locaux uniquement). On observe dans ces cas, une guérison clinique spontanée en 2 à 3 jours. Elles peuvent aussi être à l'origine, dans moins de 10% des cas, de mammites suraiguës (avec une atteinte très importante de l'état général), dites à coliformes, car un cas sur deux est du à *E. coli*.

Lors d'une épidémie de mammites à entérobactéries, on retrouve de très nombreuses souches différentes (jusqu'à 69) dans un même élevage, ce qui montre que l'infection se fait depuis une source multiple : l'environnement, qui constitue leur réservoir principal. Cependant (LAM et al, 1996) ont observé que 9% des quartiers ont présenté une mammite à *E.coli*, surtout. Pendant la période sèche et autour du vêlage.

Ces observations indiquent que la bactérie a pénétré dans la mamelle lors du tarissement ou peri-partum, mais sans expression clinique.

Les entérobactéries sont capables de se multiplier dans un lait sain (en particulier dans la citerne du trayon), mais ils sont sensibles :

- à la phagocytose
- au complément,
- à la lactoferrine du lait lors d'inflammation, ce qui explique les guérisons spontanées.

Cependant certaines souches de *Klebsiella* et d'*E. Coli* présentent une capsule polysidique autour de leur paroi, ce qui leur permet d'échapper aux immunoglobulines, et les rend moins sensibles aux neutrophiles et au complément (SERIEYS F. et SEEGER H, 2002). Le pouvoir pathogène de ce germe est lié d'une part au lipopolysaccharide (LPS) libéré lors de la mort bactérienne, à l'origine de la réaction inflammatoire et d'une endotoxémie, et d'autre part à la sécrétion d'agents cytotoxiques pour l'épithélium mammaire par *E. coli*. On observe aussi dans 30 à 40% des cas graves une bactériémie. Ces infections sont caractérisées par la très forte inflammation qu'elles induisent (DJABRI et al, 2002)

De façon beaucoup moins fréquente on observe également des cas de mammites dues à un autre genre d'entérobactéries : *Serratia*. Les deux espèces retrouvées lors de mammites à *Serratia* sont *S. marcescens* et *S. liquefaciens* sont à l'origine de mammites subcliniques, parfois subaiguës. Ces mammites sont difficiles à traiter avec des antibiotiques. Ces germes ont pour source principale (litière et eau). (RAINARD P. et al, 1985 et SMITH B P, 2008)

II.1.2 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*, , *Corynébactérium bovis*, divers *Bacillus*, *Cryptococcus neoformans* et des levures. (DAIGNAUL D. et al 1996, BADINAND F. 1994, FAROULT B. 1992).

1-*Arcanobacterium pyogenes* :

Il s'agit d'un germe anaérobie, responsable des mammites d'été. Lors de cette pathologie il intervient en association avec d'autres germes (en particulier *Fusobacterium necrophorum*). La transmission se fait depuis le tractus génital, ou le canal du trayon via une mouche *Hydroateia irritans*. (REMY D. 2007 et SMITH B P, 2008).

2-Staphylocoques (à) coagulases négatives (SCN) :

Ce groupe comprend de nombreuses espèces dont les plus fréquemment isolées lors de mammites sont : *S. hyicus*, *S. chromogenes*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. simulans*. Il s'agit du groupe de germes le plus souvent isolé dans le lait de vaches *a priori* sans symptômes, c'est pour cette raison qu'on a l'habitude de le classer parmi les pathogènes mineurs. En effet il est responsable d'un doublement du taux cellulaire en moyenne (BRADLEY A. J. et GREEN M. J .2001), ce qui est assez faible en comparaison des pathogènes majeurs, et très rarement de mammites subaiguës. (SMITH B P, 2008).

3-Corynebacterium bovis :

Ce germe est responsable de mammites subcliniques n'entraînant qu'une faible augmentation du taux cellulaire (multiplié par 1,5 en moyenne (DJABRI *et al.* 2002). Il a pour source le canal du trayon des vaches infectées. On a pu montrer que la présence de *C. bovis* dans les mamelles était protectrice contre une infection par les pathogènes majeurs. (SMITH B P, 2008) .

4-Streptocoques environnementaux :

Ce groupe comprend de nombreux germes, comme *St. parauberis*, *St. equinus*, *St. salivarius*... Il s'agit de germes présents dans l'environnement, évoluant comme des pathogènes opportunistes. Ils sont à l'origine de mammites subcliniques et subaiguës. (SMITH B P, 2008)

II.2. Les facteurs favorisant des mammites:

II.2.1. Facteurs liés à l'environnement :

a. Climat :

Le climat peut avoir une influence directe sur l'apparition de la mammite de fait que l'exposition au froid intense, aux courants d'air, à une humidité excessive ou à une chaleur extrême prédispose à la mammite ainsi que les conditions boueuses. (DUVAL, 1995)

b. Stabulation :

Le seul fait de garder les vaches à l'intérieur accroît l'incidence de mammites les chances de blessures du pis augmentent, ainsi que la concentration des microorganismes dont la population est moins importante à l'extérieur. (DUVAL, 1995)

c. Litière:

Qu'on soit en stabulation libre ou en stabulation entravée la litière a un rôle important à jouer dans l'incidence de la mammite. La paille est le matériau le plus recommandable en général. La paille coupée est plus favorable aux *Klebsiella* que le bran de scie. Cette dernière et les copeaux, surtout s'ils ont chauffé encouragent le développement rapide des coliformes en général et sont souvent responsables des «épidémies» de mammites à coliformes. (DUVAL, 1995)

d. Stress :

Plus un animal subit du stress dans son environnement moins son système immunitaire est efficace et moins résiste aux invasions microbiennes donc plus il y a de stress plus les chances de mammites augmentent. Exemple : Une densité excessive d'animaux, la proximité des vaches favorise les échanges microbiens, le bruit peut être une cause de stress. (DUVAL, 1995)

II.2.2. Facteurs liés aux caractéristiques du troupeau :

a. Age et le nombre de lactations :

La fréquence des mammites cliniques augmente avec l'âge des vaches. Cette augmentation est surtout observée jusqu'à la cinquième lactation qui s'expliquerait par l'augmentation de la production de lait et du diamètre du canal du trayon entre la première et la quatrième lactation. (GUERIN et FAUBLEE, 2007), (BARILLE et al, 2004)

b. Forme des mamelles :

Les mamelles près du sol sont plus exposées à des souillures et à des traumatismes qui favorisent la contamination. (BARILLE et al 2004) .Toute dissymétrie induit la sur traite de certains quartiers (les moins volumineux) avec le risque accru de faire pénétrer des germes dans les quartiers concernés et donc de déclencher une infection. (GUERIN et FAUBLEE, 2007)

c. Forme et lésions des trayons:

Les trayons cylindriques ou « en bouteille » sont plus souvent associés à des mammites que les trayons en forme d'entonnoir. Cette dernière évite les phénomènes de « grimage » des gobelets trayeurs (qui lèse le trayon par sa répétition et compresse la base du trayon). (GUERIN et FAUBLEE ,2007), aussi une proportion élevée de vaches qui présentent des lésions et des verrues du trayon est associée à une mammite clinique mais uniquement avec des signes locaux. (BARILLE et al 2004)

II.2.3. Les facteurs liés à la machine à traire :

La traite à la machine peut influencer sur l'apparition et la gravité des mammites de quatre façons importantes:

1. Faciliter la transmission de bactéries pathogènes entre les quartiers ou entre les vaches lors de la traite.
2. Favoriser la multiplication des bactéries à l'extrémité des trayons.
3. Accroître la pénétration des bactéries dans le canal du trayon
4. Altérer le trayon ou l'environnement intra mammaire pour favoriser l'infection bactérienne ou compromettre la réponse immunitaire (C. CRAPLET,M , THIBIER,1973).

II.3.EPIDEMIOLOGIE :

Les études épidémiologiques récentes apportent de nouvelles connaissances sur les infections mammaires à entérobactéries. Ainsi, (BRADLEY et GREEN, 2001) ont récemment montré que la moitié environ des mammites cliniques à entérobactéries qui se déclarent pendant les 100 premiers jours de la lactation correspond à des infections qui ont été contractées pendant la période sèche. Ces auteurs ont apporté une confirmation indirecte de ces résultats par un essai de traitement au tarissement : l'utilisation d'une spécialité à très longue persistance contre les grams négatifs a entraîné une réduction de moitié de l'incidence des mammites cliniques à entérobactéries au cours des cent premiers jours de lactation (POUTREL B.1985)

II.4. EVOLUTION DE L'INFECTION :

Elle dépend du pouvoir pathogène du micro-organisme en cause et de l'efficacité des défenses internes mobilisées par la vache. Trois issues sont possibles :

- la guérison spontanée qui ne présente que 20% des cas. Elle se traduit par l'élimination rapide des micro-organismes généralement à la suite d'une mammite clinique. Elle nécessite une réaction cellulaire à la fois : précoce, intervenant dans les premières heures après la pénétration des micro-organismes, intense, avec un afflux important de leucocytes. Et enfin efficace du fait d'une capacité bactéricide élevée des cellules. Ces guérisons spontanées sont fréquentes dans le cas des mammites colibacillaires dont elles constituent l'issue favorable (SERIEYS, 1995).

- l'extension de l'inflammation peu fréquente, entraîne la perte du quartier et dans les cas extrêmes la mort de l'animal. Elle se produit avec des micro-organismes à pouvoir pathogène élevé et lorsque la réaction cellulaire manque d'efficacité (SERIEYS, 1995).

- la persistance de l'infection : On parle de mammite subclinique, c'est l'évolution la plus fréquente : un état d'équilibre s'établit entre les micro-organismes qui se multiplient dans le lait et les leucocytes polynucléaires neutrophiles qui s'opposent à cette multiplication. Lorsque l'équilibre se rompt l'expression clinique reprend (NOIRETERRE ,2006).

II.5. Diagnostic de la mammite :

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

II.5.1. Examen clinique de la mamelle :

L'examen de la mamelle et de sa sécrétion est le moyen le plus simple et le plus évident du diagnostic de mammite. Il consiste, en premier lieu, en un examen visuel : On observe la symétrie, le volume la couleur des différents quartiers les uns par rapport aux autres ainsi que les trayons (présence de verrue, lésions, d'hyper-keratose, etc...)

II.5.2. Examen de la sécrétion lactée :

On note toute modification de couleur, d'odeur, de consistance, de viscosité, d'homogénéité, et de quantité produite de la sécrétion mammaire. Quand une mammite apparaît, on observe une modification de la coloration du blanc au jaune couleur « cidre » lors de mammites dite « colibacillaires », au rouge sombre (lors de mammites) et nauséabondes « œuf pourri » lors de mammites pyogènes. En suite prendre éventuellement en considération la modification biologique et bactériologique.

II.5.3. Le « Californian mastitis test » (CMT)

C'est une méthode semi-quantitative qui peut être appliquée par l'éleveur directement en salle de traite. Il est basé sur l'utilisation d'un détergent (le Teepol à 10 %) et d'un colorant (le pourpre de bromocresol) sur le lait.

Pendant la préparation de la mamelle à la traite, après lavage, essuyage du trayon et de l'élimination des premiers jets, 2 ml de lait de chaque quartier sont tirés dans une coupelle correspondant à chaque quartier, puis mélangés avec 2 mL de Teepol® (alkyl-aryl-sulfonate de Na) à 10%, un détergent qui va provoquer la lyse des cellules du lait. On agite doucement pour mélanger pendant quelques secondes avant d'observer la consistance du mélange. En lysant les membranes cellulaires, le détergent libère l'ADN des cellules qui forme alors un gel dont la viscosité est proportionnelle au nombre de cellules dans le lait.

Tableau 4: Règle d'interprétation des résultats du CMT (BERTHELOT *et al* 1987)

Aspect	résultat	Cellules par MI	Interprétation
Aucun flocculat	-	<500 000	Pas d'infection subclinique
Flocculat léger persistant	+	500 000 à 1 000 000	Infection sub-clinique légère
Flocculat épais adhérent	++	1 000 000 à 5 000 000	Infection sub-clinique nette
Gel épais (blanc d'œuf)	+++	>5 000 000	Infection sub-clinique à clinique

Avantage des CMT:

- emploi facile ; résultats fiables
- valable sur le lait individuel et lait de mélange

Il permet: d'évaluer l'état sanitaire d'un troupeau, de suivre les effets d'un plan de prophylaxie, et de juger l'efficacité d'un traitement. (BOUAZIZ, 2002)

II.5.4. Diagnostic bactériologique :

Cet examen permet un diagnostic de certitude de l'infection mammaire. Il consiste en la mise en culture du lait afin de déterminer la nature du germe responsable de l'infection. Le prélèvement du lait, sous régime du froid, est adressé au laboratoire. On obtient un résultat entre 24 et 48 h ce qui permet de nous orienter sur la nature du germe .Au laboratoire on procède à quatre étapes: isolement, identification, et sensibilité aux antibiotiques. (CRAPLET et THBIER ,1973).

(L'examen bactériologique sera développé en détail dans la seconde partie)

II.6.INCIDENTE DES MAMMITES :**A/ INCIDENCE ECONOMIQUE :**

Les mammites bovines constituent un domaine pathologique dans les élevages laitiers où elles occasionnent des pertes économiques considérables. Ces pertes sont liées aux réductions de production laitière, au lait non commercialisé, aux pénalités sur le prix de vente ainsi que la baisse de la synthèse de la caséine qui pénalise le rendement des fabrications fromagères, le passage accru dans le lait de protéines d'origine sanguine (immunoglobulines, séralbumine), réduit la stabilité du lait lors des traitements thermiques, augmentation de la protéolyse par la plasmine qui réduit la stabilité lors de Stockage de certains produits comme le lait. (FABRE J.M.ET AL.2000, SEEGERS H.ET AL 1999, SEERGERS H.ET AL 1997, HARTHEISER M.1994, MESSADI L.ET AL.1991)

Par ailleurs, les infections laissent quelques fois des séquelles irréversibles qui se traduisent notamment par l'improductivité des quartiers atteints et conduisent à des réformes prématurées (FAROULT B.2000, SEERGERS H.ET AL1997).

L'impact économique est lié aussi aux coûts des actions de traitement, de prophylaxie

et de diagnostics (dépistage à l'aide de numération cellulaire et analyse bactériologique) (FABRE J.M.ET AL 1992, FAROULT B.1994, SEERGERS H.ET AL 1997, SEERGERS H.ET AL.2003).

B/ INCIDENCE SUR LA SANTE HUMAINE :

Le lait cru est fréquemment contaminé par des souches appartenant à plusieurs biotypes qui peuvent se trouver simultanément dans le lait. Un certain nombre d'entre elles sont capables de produire des entérotoxines et des infections. En absence de Pasteurisation, ces souches pathogènes pour l'homme provenant de quartiers infectés peuvent contaminer les produits laitiers.

Certaines souches sont très étudiées :

- quelques souches de *Staphylococcus aureus* produisent des entérotoxines thermostables pouvant entraîner des toxi-infections (des nausées, des vomissements et de la diarrhée) (DEBUYSER M ET AL.1994, PERRIN COUILLOUD.1992).
- *E. coli* et *Campylobacter jejuni* sont responsables des troubles digestifs (SEERGERS H.ET AL 1997, BASTIEN J.1994).
- *Streptococcus agalactiae* a été retrouvé comme cause d'infection chez l'homme, dans des cas d'endocardite et de méningite (PERRIN COUILLOUD.1992).
- L'homme peut être infecté par la brucellose, la tuberculose et la fièvre Q lors de consommation de lait cru (PERRIN COUILLOUD.1992).

Traitement et prophylaxie des mammites

III.1. Traitement :

III.1.2. Traitement des mammites cliniques:

L'objectif de ce traitement chez les femelles en lactation est d'obtenir la disparition des symptômes et la guérison bactériologique. (FAROULT, 2000)

L'injection dans le canal du trayon d'une spécialité antibiotique réservée à cet usage est la base de traitement.

Ces spécialités contiennent un antibiotique ou une association des antibiotiques, elles sont avant tout actives sur les bactéries Gram positif (Staphylocoques et Streptocoques) responsables de la majorité des infections.

Un grand nombre de ces spécialités ont leur spectre d'activité élargi aux B-lactamine sont les plus utilisés (pénicilline, céphalosporine) seuls ou association (aminoside, colistine...), tétracycline sont également très utilisés. (FAROULT, 2000)

Dans le cas de mammites chronique, on utilise une préparation d'antibiotique longue action (LA) .dans le cas d'une mammite aigue, on utilise une préparation à action rapide (AR). (BOUAZIZ, 2002)

A côté de ce traitement de base et selon la gravité de chaque cas, un traitement par voie générale peut être indiqué, afin de diminuer le risque de septicémie (FARLOUT et al, 2004)

Traitement complémentaire:

a-hygiénique :

Il faut répéter les traite à la main pour éliminer les toxines et ses résidus, ou utiliser aussi des pommades décongestionnantes souvent à la base d'iode pour diminuer l'inflammation du quartier lors de mammites aigue ou suraiguë. (BOUAZIZ, 2002)

b-médical : traitement de choc toxinique

- anti-inflammatoire
- réhydratation
- calcithérapie
- stimulants généraux

III.1.3.Traitement des mammites subcliniques :

Elles doivent être traitées systématiquement au tarissement, cependant un traitement en lactation peut également être indiquée pour accélérer l'élimination des infections et réduire l'importance des pénalités cellulaires sur le prix de lait (FAROULT et SERYE, 2005).

L'objectif du traitement au tarissement est de guérir les infections persistance de la lactation précédente et d'assurer une protection contre les nouvelles infections qui s'établissent surtout au début de période sèche. (FAROULT, 2005)

III.1.4.Causes d'échec de traitement:

1-L'antibiorésistance:

Les traitements par voie générale semblent plus susceptibles de favoriser le développement d'antibiorésistance que les traitements par voie intra mammaire. (SERIYES ,2004)

2-Cas de mammite aigue:

Les échecs sont fréquemment dus à une faible distribution ou à une distribution de l'antibiotique dans le parenchyme enflammé de la mamelle.

3-Cas des germes Gram positif:

Ils peuvent sécréter des pénicillinases ou être phagocytés par des leucocytes et être ainsi protégés ou être sous la forme L (nue) insensible. (BOUAZIZ, 2002)

III.2.Prophylaxie :

L'objectif principal d'un programme de lutte contre les mammites est de réduire les pertes économiques causées par l'infection mammaire. (CH.HANZEN, JLOUP CASTEIGNE, 2002) ; doit permettre l'élimination des anciennes infections et une réduction de la nouvelle infection (CHAFFAUX et STEFFAN, 1985).Elle repose sur :

1- Prophylaxie médicale :

La vaccination par voie générale peut donner des résultats favorables en particulier dans les mammites staphylocoquise ou colibacillaires. Le traitement au tarissement des mammites sub-clinique et souvent favorable car de nombreuses vaches s'infectent durant cette période (FONTAINE et AL, 1985).

2-Prophylaxie sanitaire :

2-1-Prophylaxie sanitaire défensive : concernera l'hygiène de l'étable, la propreté ,l'aération, l'espace, la litière , l'équilibre nutritionnel, l'hygiène corporelle et particulièrement les soins minutieux des trayons (surtout l'hygiène de la traite, qui doit être propre, douce et complète) le contrôle de la machine de la traite peut à lui seul faire disparaître à large proportion les problèmes de mammites .(weisen,1974)

2-2 Prophylaxie sanitaire offensive : visera à dépister les femelles atteintes de mammites clinique et sub-clinique. Les vaches atteintes seront séparées et traitées après élimination des formes chroniques décelables, qu'il convient de considérer comme incurables. (FONTAINE et al ,1985).

PARTIE EXPERIMENTALE

Une mamelle saine n'héberge pas de flore commensale. L'identification d'une bactérie montre la réalité d'une infection mammaire (FAROULT B, LEPAGE P.2006). Afin de bien caractériser le germe responsable de l'infection, il faut un prélèvement le plus stérile possible afin d'éviter toute contamination par la flore du trayon par les mains du manipulateur.

I-Objectifs :

L'objectif de notre travail consiste à isoler et à identifier les Entérobactéries responsables de mammites dans la région Centre notamment (CHERAGA ET BABA ALI) durant une période de 04 mois de Février jusqu'à mai 2013.

24 prélèvements ont été effectués au niveau de 02 élevages laitiers sur (24 vaches de différentes races) suivis d'analyses bactériologiques réalisées au laboratoire d'ENSV.

Le tableau n°1 représente le nombre de prélèvement de lait avec les dates respectives.

(Voir à l'annexe).

II-Matériels et méthodes :

A/Matériel :

Le prélèvement de lait nécessite un matériel de base :

- pots de prélèvement stériles
- gants d'examen
- coton hydrophile ou compresses
- alcool a 70 °
- papier absorbant
- feutre indélébile si pot de prélèvement sans étiquette
- glacière avec pains de glace si la bactériologie est réalisée plus tard.

B/ Méthodes :

B-1- Prélèvement de lait :

A/Technique de prélèvement du lait :

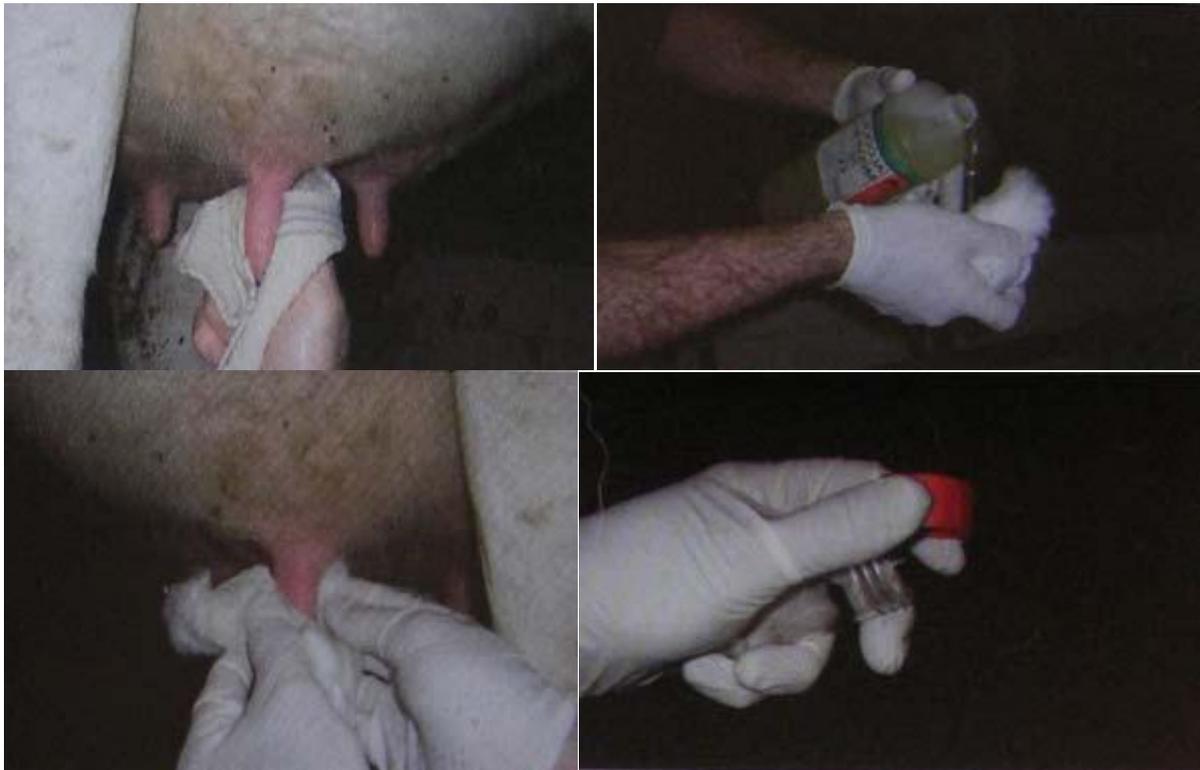
Les prélèvements s'effectuent au niveau de la mamelle juste avant la traite. Le lait est collecté dans un flacon stérile après un lavage du trayon et des parties basses de la mamelle avec de l'eau additionnée de 2 à 6 gouttes de Javel diluée ou de l'eau savonneuse on essuie

avec une serviette propre puis on désinfecte l'orifice du canal avec de coton imbibé d'alcool à 70°.

Le lait des quartiers les plus proches puis des plus éloignés est prélevé, en maintenant le tube ouvert incliné près de l'extrémité du trayon. Les premiers jets ont été éliminés pour nettoyer le canal du trayon de ses bactéries saprophytes. Les échantillons de lait sont identifiés et transportés dans l'heure qui suit au laboratoire dans des conditions strictes de réfrigération à 4°C.

B/ Transport et conservation des échantillons du lait :

Tout prélèvement de lait ne pouvant être transporté au laboratoire dans l'heure qui suit doit être réfrigéré immédiatement à 4°C pour être analysé dans les 24 heures ou Congelé à - 18°C (8, 10, 84). Par ailleurs, la congélation est déconseillée car elle réduit le nombre de germes par rapport à la réalité ainsi qu'elle affecterait particulièrement la Croissance de certaines bactéries notamment des streptocoques et des colibacilles (Ben Hassen S et al, 2003, Faroult B.1998, Bouchot M.C.et al, 1985, Poutrel B, 1985).



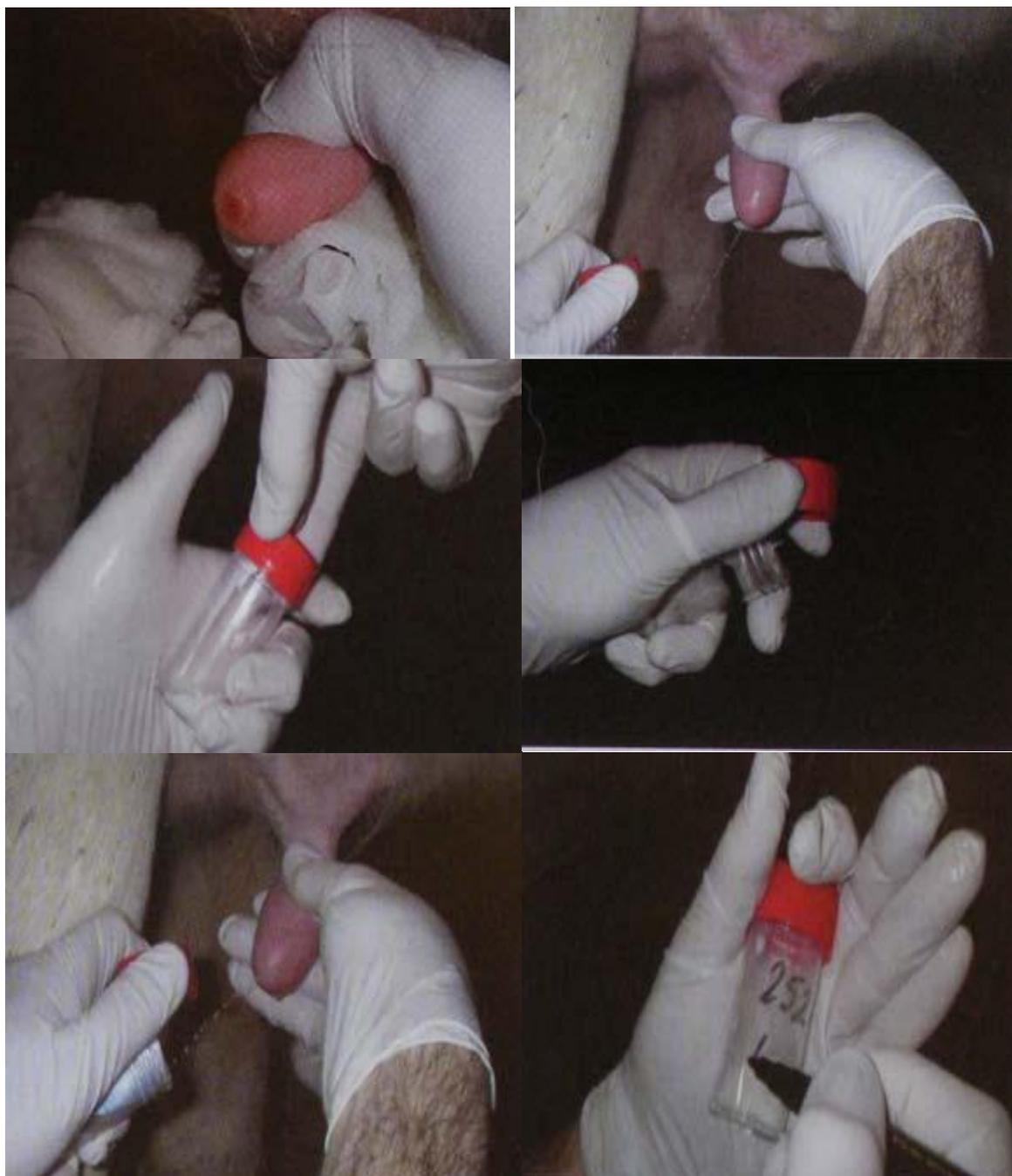


Figure1 : Technique de prélèvement du lait pour examen bactériologique (d'après FAROULT 2006).

III- Analyse bactériologique :

Tout le matériel consommable, composition des milieux de culture sont cités dans annexe. Dans cette partie nous avons recherché et identifié les bactéries les plus incriminées dans les mammites. Nous nous sommes penchés sur la recherche des Entérobactéries, staphylococcus aureus (facultatif). Cette recherche a été réalisée selon le protocole suivant :

1) ENRICHISSEMENT :

Cette étape d'enrichissement permet la vérification des bactéries altérées. Elle consiste à ensemencer 0,5ml de l'échantillon de lait dans un tube de bouillon BHIB, et incubé à 37°C pendant 24 heures.

2) ISOLEMENT :

Cette étape permet le développement des bactéries sous forme de colonies bien isolées en fonction de l'espèce et du milieu adéquat, elle s'effectue comme suit :

A partir du milieu d'enrichissement, un inoculum, est ensemencé en zigzag sur la surface des boîtes de pétri contenant des milieux d'isolement sélectifs gélosés à savoir.

Gélose Hecktoen et gélose Mac conkey (composition à annexe) pour la recherche et la sélection d'Entérobactéries et la Gélose Chapman pour la recherche et la sélection de *Staphylococcus aureus*

L'incubation s'est effectuée à 37°C pendant 24h pour le milieu Hecktoen et Mac conkey et à 37°C pendant 48h pour le milieu Chapman

Après l'incubation, les boîtes sont examinées afin de rechercher la présence de colonies typiques :

Sur gélose Ektoen aspect des colonies **d'E. Coli** → colonies jaune saumon

Sur gélose Mac conkey des colonies **d'E. Coli** → colonies roses.

Sur gélose Ektoen aspect des colonies de **proteus** → colonies vertes.

Sur gélose Mac conkey des colonies de **proteus** → colonies incolores (jaune).

Sur gélose Ektoen aspect des colonies **d'Entérobacter** → colonies jaune saumon.

Sur gélose Mac conkey des colonies **d'Entérobacter** → colonies roses.

Sur gélose Ektoen aspect des colonies de **Klebsiella** → colonies jaune saumon

Sur gélose Mac conkey des colonies de **Klebsiella** → colonies roses.

Sur gélose chapman aspect des colonies de **Staphylococcus aureus** → colonie jaunâtre bombée à bords nets.

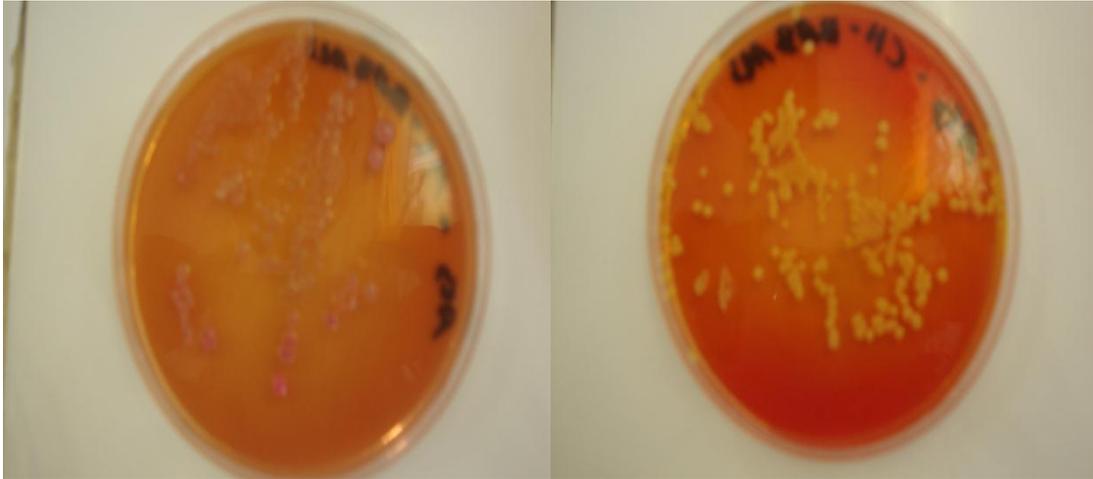


Photo personnelle 1: 1.résultat obtenu après culture sur Mac conckey.E.coli
2. résultat obtenus après culture sur Chapman.Staph

3) ETUDE MICROSCOPIQUE :

L'étude microscopique par la coloration de GRAM (technique à l'annexe) a permis de déterminer la morphologie des différentes bactéries et de déterminer le type de leur paroi : GRAM + et GRAM- (VIGNOLAC.L ,2002).

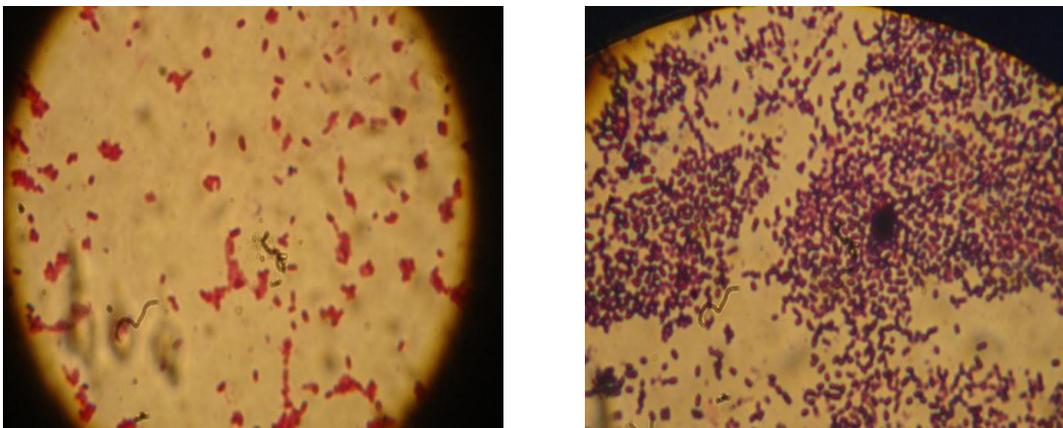


Photo personnelle 2 : coloration de gram

4) purifications et conservation des souches isolées :

Cette étape s'est effectuée par le réensemencement de chaque colonie suspecte sur les mêmes milieux sélectifs, et cela après une confirmation des caractères morphologiques par une deuxième coloration de Gram. Les souches ainsi purifiées sont repiquées chacune dans un tube contenant de gélose nutritive inclinée, incubées à 37°C pendant 24h puis conservées à la température du réfrigérateur entre +4°C.

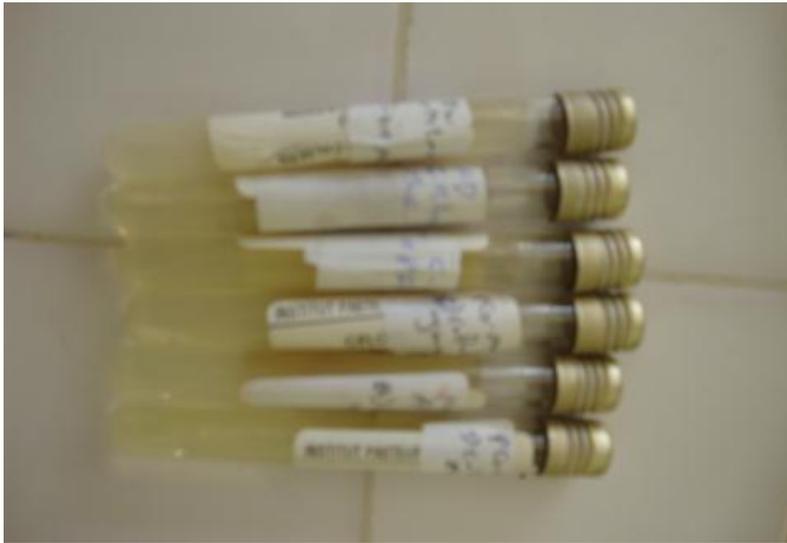


Photo personnelle 3 : conservation des souches isolées sur gélose nutritive

5) Identification par les tests biochimiques :

A/Tests utilisés pour l'identification des Entérobactéries :

L'identification biochimique des espèces bactérienne s'est faite dans un premier temps à l'aide de galeries manuelles suivies de galeries **api 20E** pour les entérobactéries et **api Staph** pour le staphylocoque aureus.

1- Fermentation des sucres sur milieu Kligler Hajna (lactose, glucose, production de gaz et de H₂S. qui nous renseigne sur 4 caractères dont :

Fermentation du glucose----- jaunissement du culot.

Fermentation du lactose-----acidification de la pente.

Production de H₂S-----dépôt noir

Production de gaz-----décollement et poches de gaz sur les parois

2 - recherche de la voie métabolique particulière dans la fermentation des hexoses (réaction voges- proskaver ou production d'acétyl méthyle carbinol) :

La mise en évidence de la production de l'acétoïne, le test est réalisé sur milieu Clack et lubs. L'incubation pendant 24h à 37°C. La production de l'acétoïne est révélée par l'apparition d'une coloration rouge à la suite de l'addition d'une base forte dite réactif de VP.

Le test au rouge méthyle est réalisé en même temps celui du test VP, il se révèle par le changement de l'indicateur de PH .ce dernier reste rouge en milieu acide et vire au jaune si le milieu n'est pas acide.

3- Recherche de l'uréase et la production d'indole :

On ensemence un inoculum dans 0,5ml du milieu urée-indole. Après 24h d'incubation à 37°C la présence d'une uréase se traduit par un virage de l'indicateur jaune orangé au violet ou rose-rouge. La présence de l'indole se traduit par la formation d'un anneau rouge après addition du réactif de Kovacs (Norme NF.V08-017)

4- Mannitol mobilité :

On ensemence un milieu Mannitol mobilité par simple pique centrale.

L'incubation se fait pendant 24h à 37°C. La fermentation du mannitol se traduit par virage au jaune de l'indicateur du pH du milieu, et la mobilité à 37°C se traduit par l'apparition de trouble et de stries de mobilité allant vers les parois du tube.

B/ Tests biochimiques utilisés pour l'identification des staphylococcus :

Nous sommes limité dans notre travail à la recherche de l'espèce staphylococcus aureus .La confirmation des colonies est basée sur 2 principaux caractères : la catalase et la coagulase libre (Norme NF. ISO 61888-1, NF.ISO 68882)

1-Epreuve de la catalase :

Sur une lame on dépose une goutte d'eau oxygénée 10 volumes et une colonie bactérienne de 24h, la réaction positive se traduira par un dégagement de bulles.

2-Epreuve de la coagulase libre :

La mise en évidence de la coagulase, enzyme capable in vitro de coaguler le plasma de lapin, permet d'identifier l'espèce Staphylocoques aureus.

La colonie à identifier est ensemencée dans un bouillon BHIB pendant 18h à 24h à 37°C .Prélever stérilement 0,3 ml de la suspension bactérienne et l'ajouter à 0,3ml de sérum de lapin, l'incubation se fait à 37°C pendant ½ heure .La réaction est considérée positive quand le coagulum occupe plus des 3/4 du volume initialement occupé par le liquide.

C-Technique d'une galerie api 20^E :

1-Inoculation d'une galerie api 20^E :

-A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures, faire une suspension bactérienne dans 5 ml de l'eau physiologique.

-bien mélanger la suspension bactérienne au vortex 5-10secondes.

-Déposer soigneusement 150ul de la suspension bactérienne dans chaque cupule de la galerie en utilisant un embout stérile.

-Ajouter de nouveau 150ul de la suspension bactérienne aux cupules CIT, VP et GEL

(Total =300ul) par puits.

-Après l'inoculation, remplir les cupules ADH, LDC, ODC, H₂S et UREE d'huile minérale.

-Ajouter de l'eau dans les supports, y déposer la galerie et mettre le couvercle.

-Placer les galeries dans une chambre humide (boite de plastique avec couvercle contenant un des alvéoles remplies d'eau et incuber à 30°C pendant 18 à24 heures.

2-Lecture des galeries :

-Consigner les réactions sur une fiche de résultats.

-La lecture des galeries se fait généralement au bas de chaque cupule sauf CIT, IND.

-VP : Ajouter 1 goutte d'hydroxyde de potassium (40%)

Ajouter 1 goutte d'alpha-naphtol (6%)

Attendre 10 mn

-Pendant ce temps, faire la lecture des autres cupules sauf TDA et IND en inscrivant la couleur et la réaction (+ou -) sur fiche de résultats.

-Lire la réaction du VP

Ajouter 2 gouttes d'acide sulfanilique (0,8%)

Ajouter 2 gouttes de NN-dimethyl-alpha-naphthylamine(0,05%)

Attendre 2-3 minutes

Pendant ce temps, faire les réactions TDA et IND.

-TDA –Ajouter 1 goutte de chlorure ferrique (10%), lire la réaction immédiatement.

-IND - Ajouter 1 goutte du réactif de Kovac, lire la réaction immédiatement.

Résultats de la galerie api 20^E :

Nous avons ensemencé une galerie api20^E. Les résultats obtenus à partir de cette dernière ainsi que le complément des tests nous confirme que les souches étudiées appartiennent bien aux espèces suivantes

- E.coli,
- Klebsiella
- Enterobacter cloacae,
- Protéus Providencia



Photos personnelle 4 : E. coli galerie api 20^E

IV- ANTIBIOGRAMME :

Un antibiogramme pour 04 antibiotiques utilisés en médecine humaine et animale a été réalisé selon la méthode de diffusion en disques en utilisant la technique de Kirby –Bauer **CLSI (2001)**.

A partir d'une solution mère de 24h, des dilutions sont préparées avec de l'eau physiologique stérile à l'aide de pipettes stériles comme suit : Entérobactéries **1/300** et **Staphylocoques 1/100** qui correspond échelle mac farland

Inonder la boîte de pétri contenant le milieu Muller Hinton avec 3 à 5 ml de la dilution puis jeter le surplus et sécher la boîte 15 minutes à l'étuve en suite appliquer les disques d'antibiotique et laisser les boîtes 30 minutes à température ambiante afin de permettre la diffusion des antibiotiques.

Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 à 24h

-Mesure des diamètres d'inhibition :

A l'aide de pied à coulisse mesurer le diamètre de la zone d'inhibition pour chaque antibiotique, en suite reporter cette distance sur l'échelle de concordance correspondent pour chaque type de bactérie.



Photo personnelle 5 : l'Antibiogramme d'E. coli sur Gélase Mueller-Hinton.

V-RESULTATS ET INTERPRETATION :

V.1.Résultats de l'analyse de laboratoire :

1-Résultats obtenus à partir de prélèvement de CHERAGA : 6/13

13 vaches ont fait l'objet d'un prélèvement pour faire un dépistage des mammites. Sur ces 13 prélèvements nous comptons :

6 prélèvements sur 13 des prélèvements se sont révélés négatifs pour les bactéries (entérobactéries) recherchée, ce qui correspond à un pourcentage de (46,15 %).

Ceci pourrait s'expliquer par le fait que l'éleveur ait procédé lui-même aux prélèvements n'entraîne pas de contamination majeure des prélèvements. (BIDAUD O et al. 2007) L'autre hypothèse pouvant expliquer que la stérilité du prélèvement ou des cultures serait la possibilité que ces quartiers présentent en réalité une infection dont l'origine n'est pas bactérienne. Certaines levures et champignons peuvent être responsables d'infection de la glande mammaire

-7 prélèvements sur 13 des prélèvements présentent des germes recherchés ce qui correspond à un pourcentage de (53,84%) Les résultats des analyses bactériologiques de région Cheraga révèlent la présence des : -- **E.coli**, **-Enterobacter** -, **-Protéus** et **Klebsiella** ; ainsi que **S Aureus** et **SCN**. .

Tableau : Résultats d'analyses des prélèvements CHERAGA :

Date du prélèvement	prélèvement	E .coli	Entérobacter	Proteus	klebsiella	SCN	SCP
4/3/2013	1	+	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	+	-
2/4 /2013	3	+	-	+	-	-	-
	4	-	+	-	-	+	-
7/5/2013	5	-	-	+	-	-	+
	6	+	-	-	-	-	-
	7	-	-	-	+	-	-
pourcentage		33,33%	8,33%	16,67%	8,33%	16,67%	8,33%

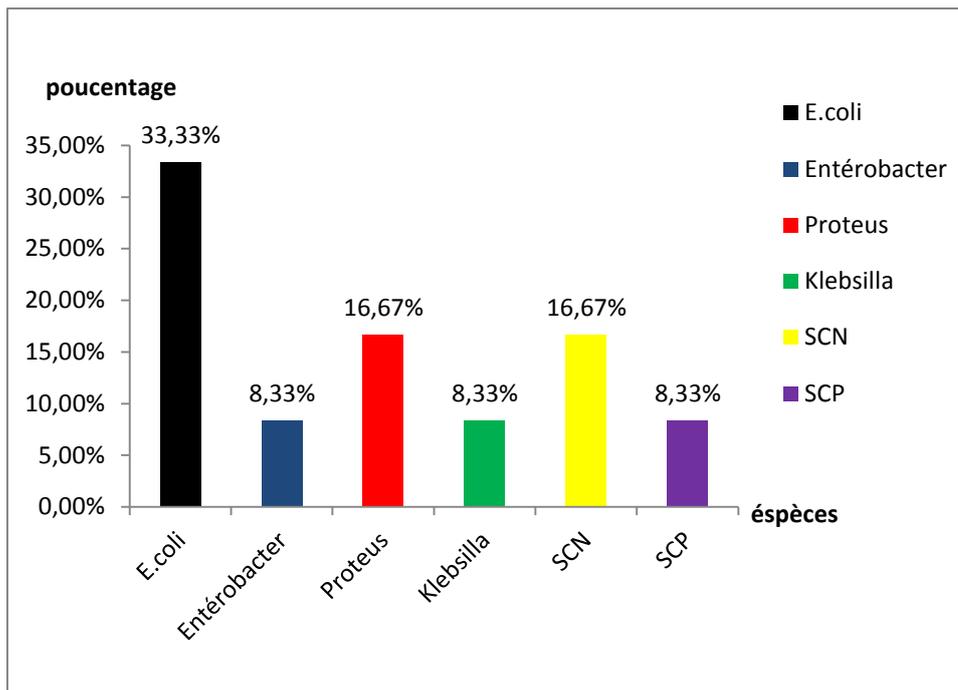


Figure1 : Résultats d'analyse des prélèvements de CHERAGA

- Avec une prédominance de **E. coli** 33,33% suivie par les **Protéus** 16,67% ensuite **enterobacter clocae** 8,33% et enfin **klebsiella** 8,33% à l'élevage de CHERAGA

Résultats obtenus à partir de prélèvement de BABA ALI :

11 vaches ont fait l'objet d'un prélèvement pour faire un dépistage des mammites, et tous se sont révélés positifs. Les résultats des analyses bactériologiques de région Baba Ali indiquent la présence des : -- **E.coli**, -**Enterobacter** -, -**Protéus** - **Klebsiella** et comme ceux observés à l'exploitation de Cheraga ainsi que **Staphylococcus.aureus** et

Tableau : Résultats d'analyse des prélèvements Baba Ali :

Date du prélèvement	prélèvement	E.coli	Entérobacter	Proteus	klebsiella	SCN	SCP
05/5/2013	1	-	-	+	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	+
	3	-	-	-	-	+	-
	4	+	+	-	-	-	+
08/05/2013	5	-	+	-	-	-	-
	6	+	-	-	+	-	-
pourcentage		27,27%	18,18%	9,09%	9,09%	9,09%	18,18%

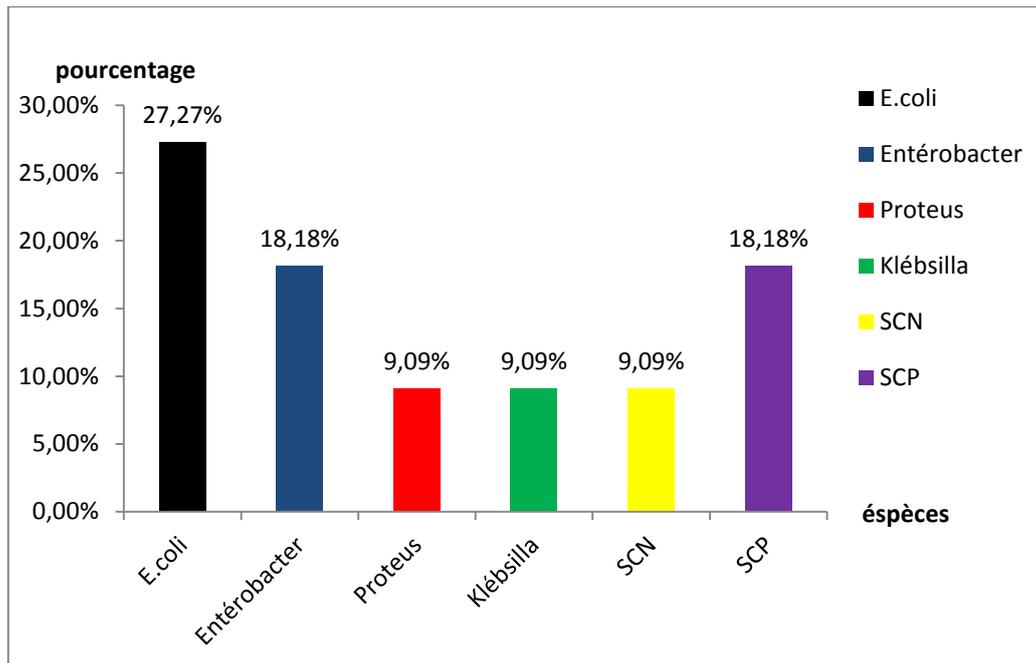


Figure 2 : Résultats d'analyse des prélèvements Baba Ali

-Avec une prédominance de **E.coli** 27,27% suivie par les **entérobacter** 18,18% ensuite **Protéus** 9,09% et enfin **klebsiella** 9,09% à l'élevage de Baba Al

V.2.RESULTATS DE L'ANTIBIOGRAMME :

Tableau : résultats de l'antibiogramme (CHERAGA, BABA ALI) :

ATB testés Les Souches entérobactéries		amoxicilline	néomycine	chloramphénicol	tétracycline
		CHERAGA	Entérobacter	R	S
Entérobacter	I		S	I	R
E .COLI	R		S	S	I
Entérobacter	I		S	I	R
BABA ALI	Entérobacter	S	I	R	S
	klebsiella	R	R	I	R
	Proteus	R	I	S	I
	E.COLI	R	S	S	I
	Entérobacter	R	S	S	I

Les résultats de l'antibiogramme montrent une résistance des 4 espèces bactériennes isolées vis-à-vis des antibiotiques les plus couramment utilisés :

Une résistance de la souche d'E.coli à l'amoxicilline, sensibles à la néomycine et chloramphénicol et intermédiaires à la tétracycline.

Concernant les Entérobacters on a identifié 5 souches :

-2 souches résistances à l'amoxicilline, sensibles à la néomycine et chloramphénicol et intermédiaires à la tétracycline.

-2 souches résistances à la tétracycline, sensibles à la néomycine et intermédiaires au chloramphénicol et l'amoxicilline.

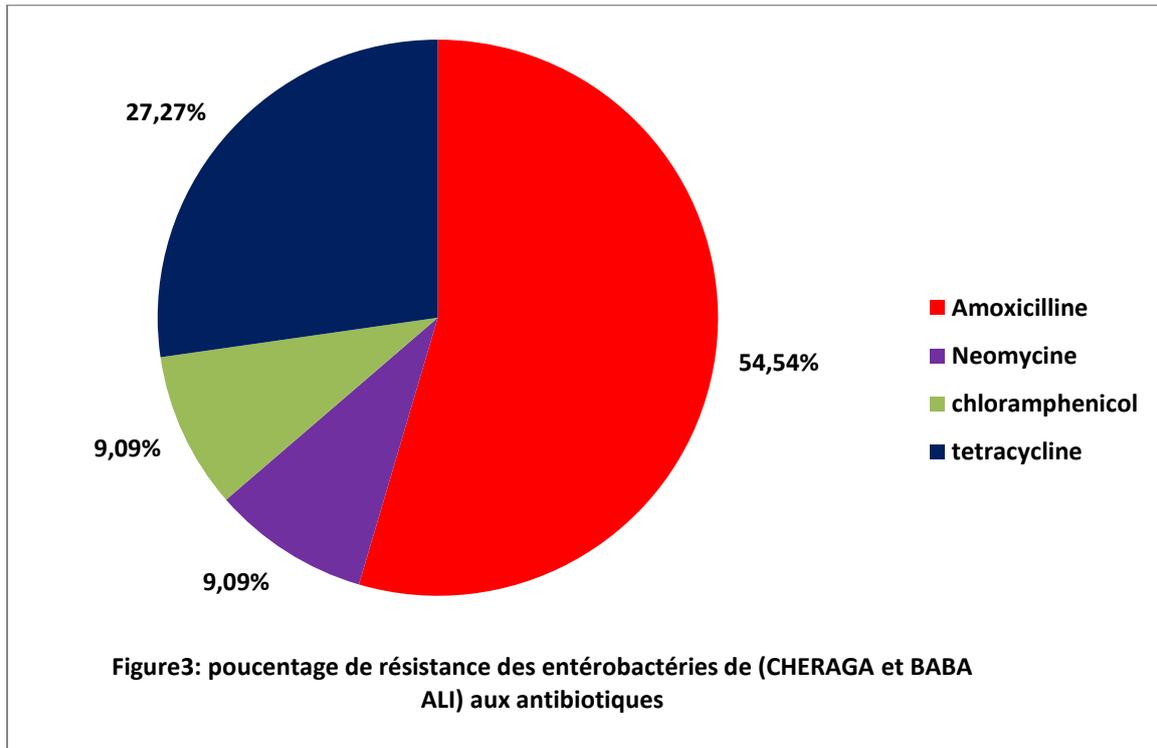
- une souche résistance au chloramphénicol, sensibles à l'amoxicilline et tétracycline et intermédiaire à la néomycine.

Pour la souche klebsiella résistance à la tétracycline, sensible à l'amoxicilline et néomycine et .intermédiaire au chloramphénicol.

Pour la souche Proteus résistance à l'amoxicilline, sensible au chloramphénicol et intermédiaire néomycine et tétracycline.

Tableau : taux de résistance des entérobactéries (CHERAG et BABA ALI) :

	Amoxicilline	Néomycine	Chloramphénicol	Tétracycline
Résistance	6	1	1	3
Pourcentage	54,54%	9,09%	9,09%	27,27%

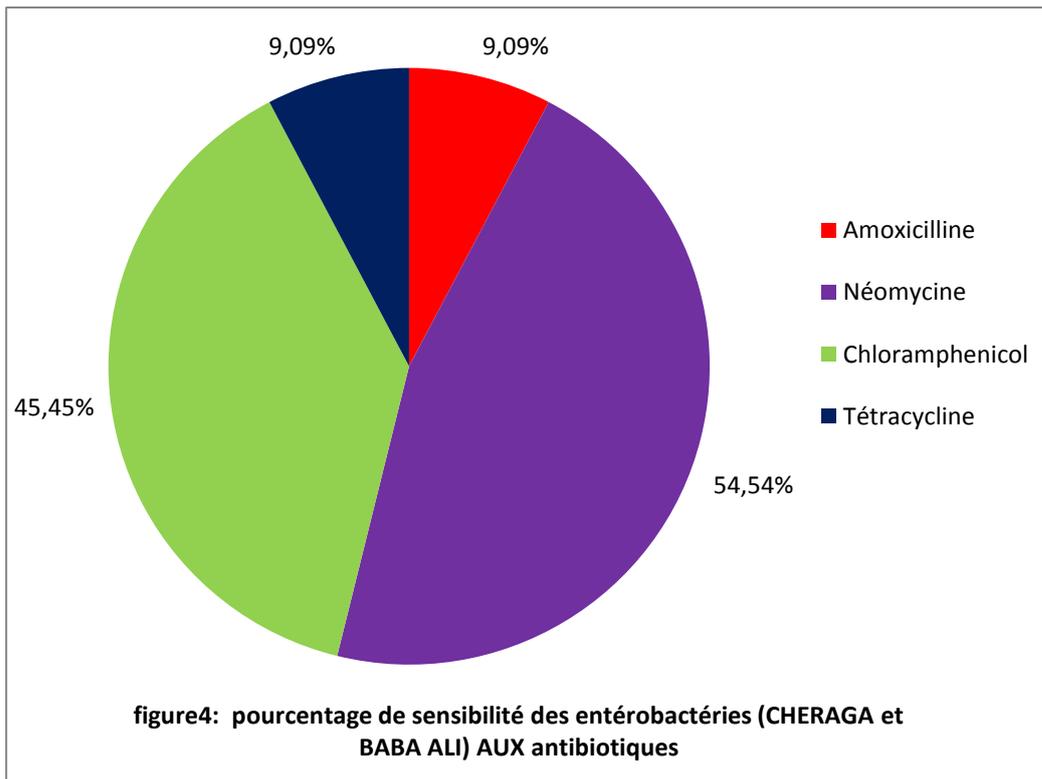


D'après le résultat de l'antibiogramme des espèces entérobactéries en CHERAGA et BABA ALI :

-54,54% des espèces entérobactéries étaient résistantes à l'Amoxicilline, 27,27% étaient résistantes à la tétracycline, 9,09% des espèces étaient résistantes au chloramphénicol et 9,09% des espèces étaient résistantes à la néomycine.

Tableau : taux de sensibilité des entérobactéries (CHERAG et BABA ALI) :

	Amoxicilline	Néomycine	Chloramphénicol	Tétracycline
Résistance	1	6	5	1
pourcentage	9,09%	54,54%	45,45%	9,09%

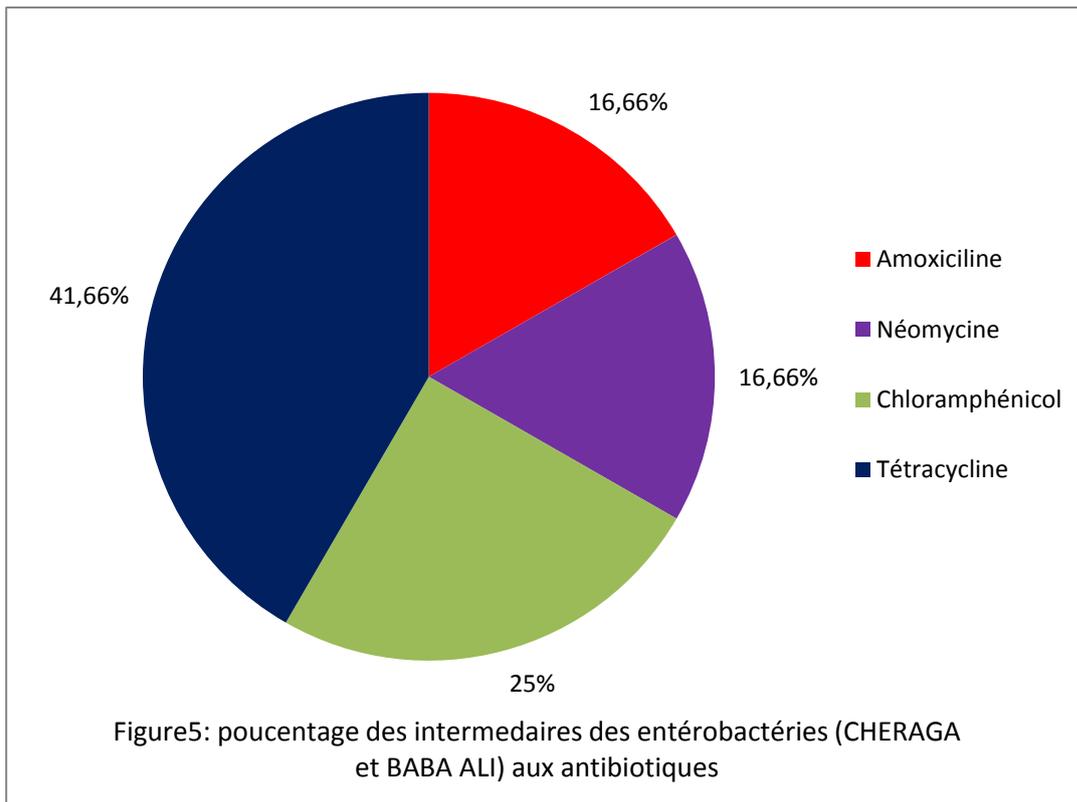


D'après le résultat de l'antibiogramme des espèces entérobactéries en CHERAGA et BABA ALI :

-54,54% des germes identifiés étaient sensibles à la néomycine, 45,45% au Chloramphénicol, 9,09% l'Amoxicilline et 9,09% étaient sensibles à tétracycline.

Tableau : taux d'intermédiaire des entérobactéries (CHERAG et BABA ALI) :

	Amoxicilline	Néomycine	Chloramphénicol	Tétracycline
intermédiaire	2	2	3	5
pourcentage	16,66%	16,66%	25%	41,66%



D'après le résultat de l'antibiogramme des espèces entérobactéries en CHERAGA et BABA ALI :

41,66% des bactéries étaient intermédiaires à la Tétracycline, 25% au Chloramphénicol, 16,66% à l'Amoxicilline et 16,66% à la Néomycine.

Durant notre investigation nous avons isolé des Staphylocoques Aureus et certains SCN, l'objectif de notre travail était orienté vers la recherche des Entérobactéries nous n'avons pas vu la nécessité de procéder à la confection des antibiogrammes pour les Staphylocoques, juste que dans les mammites cliniques et subcliniques auxquelles nous avons eu à effectuer des prélèvements nous avons noté la présence des staphylocoques avec un pourcentage de 18.18 % pour les SCN et de l'ordre de 9.09% pour les Staphyl.aureus. ce qui est ne concordent pas avec les travaux effectués par (LOGO et al 44,7% en 1994).

VI. DISCUSSION :

Mal entretenues, souvent logées ou parquées dans des conditions de saleté importantes, les mamelles des vaches laitières sont particulièrement exposées à une contamination environnementale, ce qui induit des affections telles les mammites et un lait de qualité moindre.

C'est dans cette perspective que nous nous sommes intéressés pour connaître le degré de contamination du lait par les Entérobactéries et nous avons choisi l'exploitation de Cheraga et BABA ALI au centre d'Alger.

Il ressort de notre investigation que quatre espèces bactériennes semblent être responsables des mammites subcliniques de façon dominante à savoir *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella* et *Enterobacter*. Résultats que l'on retrouve dans les travaux de (Seegers et al. 1997, Guerin-Fauble et al. 2003).

Cependant nous avons isolé *Staphylococcus aureus* et *SCN* à un pourcentage intéressant mais nous n'avons pas poursuivi la suite des investigations cela n'a pas été notre objectif.

Dans notre recherche sur les 24 prélèvements analysés, nous avons trouvé un taux de 75% ce qui correspond à 18 cas positifs ou *E. coli*(33,33%), *Proteus*(14,28%) , *Klebsiella* (9,25%) , *Enterobacter* (14,28%) et *Staphylocoques aureus*(28,57%) ont été identifiés .

06 prélèvements ont conduit à un résultat de « culture négative » qui correspond à un taux de 25%.

Ceci ne doit pas conduire à la conclusion que la mamelle est « saine ». Les principales explications possibles sont les traitements antibiotiques préalables, l'intermittence de l'excrétion, l'enkystement de bactéries dans les lésions anciennes, ou alors que l'origine de l'infection n'est pas bactérienne : (levures ou champignons), peuvent en être responsables ; soit que le germe en cause est intracellulaire et il devient dès lors plus difficile de l'isoler en culture (Hebert et al 2000 ; Kerro Dego et al, 2002).

De plus, il est généralement admis que les *E. coli* sont probablement en cause dans une part importante des mammites cliniques où aucun agent pathogène n'a pu être identifié (pas de croissance significative) puisque ces bactéries sont souvent éliminées rapidement par le système immunitaire de la vache.

Notre étude aussi a porté sur l'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques de ces prélèvements et a révélé des taux alarmant de résistance vis-à-vis de :

Néomycine (54,54%), chloramphénicol (45,45%), l'Amoxicilline (9,09%) et la Tétracycline (9,09%). Concernant les différents germes qui ont été isolée vis-à-vis de l'antibiotique.

Néanmoins une sensibilité à la Néomycine a été enregistrée, par conséquent elle reste la molécule la plus efficace pour les bactéries isolées.

Le danger que représente l'anti bio résistance des bactéries ne doit pas être négligée puisque c'est une source de dissémination de gènes de résistance vers les bactéries sensibles de l'environnement mais aussi à l'homme pouvant causer des échecs thérapeutiques

Le taux de résistance de ces souches doit être minimisé autant que possible, pour cela nous recommandons :

- Sensibiliser l'éleveur sur l'impact de l'administration abusive des ATB.
- Le test CMT doit toujours précéder une analyse bactériologique qui reviendrait plus chère à l'éleveur.
- Hygiène des animaux, des locaux et surtout de la traite qui éliminerait une grande partie des infections.

VI. CONCLUSION :

On retrouve dans cette étude la grande variété de germes potentiellement responsables de mammites chez la vache (Gram- et Gram+),
La prédominance d'E.coli est fortement observée malgré le faible nombre de prélèvements, que nous avons effectué, suivi par les enterobacters, les proteus et enfin les klebsiella.

Il est toutefois important de préciser qu'E. Coli est la bactérie qui se manifeste le plus souvent dans les cas de mammite avec des symptômes plus sévères (31 % des cas de mammite clinique sévère). (Seegers et Serieys, 2002)

Les résultats obtenus concernant la sensibilité des germes identifiés ne corroborent pas avec les travaux des différents auteurs ceci pourrait s'expliquer par un mécanisme de résistance acquis par les bactéries suite aux différents ATB administrés de façon anarchique ou alors que les résistances bactériennes sont spécifiques des régions du monde.

Références bibliographiques

1. **ASSOCIATION D'AUTEUR**, Diagnostic bactériologique des infections mammaires des bovins, *Rec. Méd. Vét.*, 1985, 161(6-7) : p567-570
2. **BADINAND F**, Maîtrise du taux cellulaire du lait. *Rec.Méd.Vét.*, 1994, 170, 419-427.
3. **BAREILLE N. LEMARCHAND F. ,2004** : la désinfection des trayons avant et après la traite : comment choisir les méthodes et les produit ? Dossier spécial : hygiène de la mamelle et traitement des mammites. *Bulletin des GTV n°24 Mars /Avril*, pp26
4. **BASTIEN J**. Suivi de la qualité du lait et de sa transformation à la ferme exemple de démarche coordonnée appliquant les vétérinaires praticiens. *Rec.Méd.Vét.*, 1994, 170, (6- 7), 486-492.
5. **BERTHELOT X., LEBRET P., PETIT C. (1987)** :Les infections mammaires de la vache laitière, *Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse*, 192p.
6. **BERTIN-CAVARAIT C. et al.**, L'AFSSA explore les laits mammites des vaches laitières rhône-alpines, *La semaine vétérinaire*, 2009, n°1349 : p 42-44
7. **BLOOD D .C., HENDERSON J. A.** Médecine vétérinaire. Vigot Frères Ed., Paris 6e, 1976, 294-331.
8. **BOUAZIZ., 2002** : Pathologie de la mamelle .Université de Mentouri Constantine. Faculté des sciences, département des sciences vétérinaire .Publication de l'université Mentouri Constantine.
9. **Bouchot M.C., Catel J., Chirol L., Ganiere J.P., Lemenec M. 1212** :Diagnostics bactériologiques des infections mammaires des bovins *Re. Méd.Vét.*, 1985,161, 567-577.
10. **BRADLEY A. J. et GREEN M. J.**, An investigation of the impact of intramammary antibiotic dry cow therapy on clinical coliform mastitis, *J. Dairy Sci.*, 2001, 84 : p 1632-1639
11. **-CHAFFAUX ST. STEFFAN J ; 1985** : prophylaxie des infections mammaire : place de l'hygiène de la traite et du traitement .*méd.vét*, Tome 161, N°6-7,603-615 .
12. **-COULLIoud M. 1992**. Staphylocoques et mammites bovines : importance des espèces différentes de *Staphylococcus aureus*, problème des échecs thérapeutiques. *Bull. GTV*, 2-B-420 : 7-16.

13. **COULLIoud P., MARTEL J L., BROUILLET P., FEDAYIN M** : Identification et sensibilité aux antibiotiques des diverses espèces de staphylocoques associées à des mammites bovines inapparentes et subcliniques. *Rev. Méd.Vét.*, 1991, 142, 39-47.
14. **-CRAPLET C , THIBIER M , 1973**: la vache laitière , Edition vigot frères paris ch 04: la lactation, pp82, 83,101,Ch26: Mammites , pp 645,647,649,650,652-656
15. **DAIGNAUL D., HIGGINS R., MESSIER S** : Episode de mammites cliniques associées à la présence de *Cryptococcus neoformans* dans un troupeau laitier. *Le médecin vétérinaire du Québec*, vol.27, n°11, 1996, 26-27
16. **DAIGNAULT D., LAROUCHE Y.** : Higgins R. Mammites cliniques associées à la fréquence de *Pasteurella hemolytica* chez un bovin.*Le médecin vétérinaire du Québec*, Vol.27, n°11, 1996, 148.
17. **-DEBRY G.(2001)** :Lait, nutrition ET santé.,Edition techniques et documentation.p.566.
18. **DEBUYSER M, L., LAPEYRE C** : Mammites à Staphylocoques et sécurité alimentaires. *Le point vétérinaire*, Vol.26, Numéro spécial << Ruminant et santé publique, 1994, 78- 82.
19. **DJABRI et al.**: Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows : a meta-analysis, *Vet. Res.*, 2002, 33: p 335-357
20. **- DUREL L, FAROULT B, LEPOUTRE D, BROUILLET P, LE PAGE Ph** : Mammites des bovins(cliniques et subcliniques). Demarches diagnostiques et therapeutiques. *La Dépêche Tech--nique*. Supplement technique 87 a la Depeche Veterinaire du 20 Decembre 2003 au 2 Janvier 2004. 39 p
21. **-DUVAL J. 1995** : soigner les mammites sans antibiotique [www.eap.mcgill](http://www.eap.mcgill.ca/agrobio/head.htm). Ca /agrobio/head .htm
22. **FABRE J.M., BERTHOLOT X., BOUSQUET E., BOSQUET G., LAUMONNIER G., SEERGERS H.** : Traitement des mammites subcliniques en lactation : expérimentation d'un nouveau protocole dit << traitement en parallèle>>. *Bull. G T V*. n°1, Mai 1999, 49-58 .
23. **-FANTAIN ET AL 1985** :VADE-MECUM du Vétérinaire.volume3 .XVème Edition OPU, 1028-1642 .
24. **FAROULT B** : Les mammites subcliniques et les mammites cliniques aiguës. *Maladies des bovins 3eme editions France Agricole 2000*, 64-75.
25. **FAROULT B** : Maîtrise et qualité cellulaire du lait. *Actualités et perspectives* . *Bull. GT.*, 1992, 1B-412, 7-15.

26. **FAROULT B** : Méthodologie d'approche des infections mammaires en troupeau laitier et maîtrise de la qualité hygiénique du lait. Rec. Méd.Vét., 1994, 170(6-7), 469-478.
27. **FAROULT B** : Les mammites subcliniques et les mammites cliniques aiguës. Maladies des bovins 3eme editions France Agricole 2000, 64-75.
28. **FAROULT B., SERYES F., 2005** : Antibiothérapie des mammites bovines. Bulletin des GTV Hors série médicaments 2005,208-214, pp64-70.
29. **GILBERT B, DESCLAUDE J, BROGOVI C, GADOUD R, JUSSIAN R, LELOC'H A, MONTMEAS L, ROBIN G; 2005**: Reproduction des animaux d'élevage,29.(la photo structure mammaire).
30. **-HANZAN CH ,CASTEIGNE L.-J.,2002** :pathologie infectieuse de la glande mammaire, Cours de la faculté de médecine vétérinaire de liège chapitre 30 . Site : [http ://www.Fmv.Ulg.Ac.be /oga/formation/chap30/index.Htm ? page 30-0.Htm](http://www.Fmv.Ulg.Ac.be /oga/formation/chap30/index.Htm ? page 30-0.Htm)
31. **HARTHEISER M** : La maîtrise de la contamination du lait par les spores butyriques. Rec. Méd.Vét., 1994, 170(6-7), 429-43.
32. **KEHRLI J R., SHUSTER E**: Factors affecting milk somatic cells and their role health of bovine mammary gland. J. Dairy Sci., 1994, 77, 619-627.
33. **LAM et al** : Epidemiological characteristics of bovine clinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* studied by DNA fingerprinting, *AJVR*, 1996, 57 (1): p 39-42
34. **LEE C.S., WOODING F.B.P., KEMP P**: Identification properties and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry secretions, colostrum and milk from normal cows. J. Dairy Research., 1980, 47, 39-50.
35. **MESSADI L., BEN MILED L., HADDAD 5**: Mammites bovines en Tunisie: bactéries responsables et antibiorésistance. Rev.Méd.Vét., 1991,142, 313-319.
36. **-NOIRETRRE P,2006** : suivis de comptages cellulaires et d'examen bactériologique lors de mammites clinique chez la vache laitière. Etude expérimentale au centre d'élevage lucien bizet de poisye. Thèse de doctorat en sciens vétérinaire , Ecole nationale vétérinaire (lyone) ,98 page Site : <http:// www.vet-lyon.fr/bib/fondoc/ th sout/listhe.php annee= 2006> . Date de consultation : 25 /02/07 .
37. **PAAPE M., BANNERMAN D.D., ZHAO X., LEE JAI-WIE** : The bovine neutrophil: structureand function in blood and milk. Vet. Res., 2003, 34, 597-627.
38. **PERRIN COUILLOUDI**. Staphylocoques et mammites bovines: importance des espèces différentes de *Staphylococcus aureus*, problèmes des échecs thérapeutiques

39. **POUTREL B** : Généralités sur les mammites de la vache laitière. Processus, infection, épidémiologique, diagnostique, méthodes de contrôle. *Rec.Méd.Vét.*, 1985, 161(6-7), 497- 511.
40. **RAINARD P. et al.** : Les mammites colibacillaires, *Rec. Méd. Vét.*, 1985, 161 (6-7) : p 529-537
41. **REMY D** : *Les mammites*, cours de DCEV 3 de l'ENVA, juillet 2007
42. **ROBERSON et al.** : Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms, *J. Dairy Sci.*, 1994, 77 : p 3354-3364
43. **SCHUKKEN Y H., VAN DE GEER D., GROMMERS F J., SMIT J. A. H., BRAND A**: Intramammary infections and risk factors for clinical in herds with low somatic cell counts in bulk milk. *Veterinary Record.*, 1989,125, 393-396.
44. **SEEGERS H., FOURICHON C., HORDED P., SORENSEN J .T., BILLON D., BARILLA N., BEAUDEAU F.** Evaluation des conséquences économiques de différentes stratégies de maîtrise de la concentration du lait en cellules somatiques. Produit par un troupeau de vaches laitières. J.N. G T V. I N R A., Nantes/ 26-27-28 Mai ,1999, 169-178.
45. **SEEGERS H., FOURICHON C., BEAUDEAU F**: Production effects related to mastitis and economics in dairy cattle herds. *Vet. Rec.*, 2003, 34, 475-491.
46. **SEEGERS H., MENARD J. L., FOURICHON C** : Mammites en élevage bovin laitier: importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. *Renc. Rech. Ruminants*, 1997, 4, 233-242.
47. **SERIEYS F. et SEEGERS H.** : L'intervention du vétérinaire face à un problème de mammites :2- Adapter les méthodes à l'évolution de l'épidémiologie, *proceeding du congrès de la SNGTV*, Tours 2002 : p 147-156
48. **SERIEYS F.** : *Streptococcus uberis*, l'espèce préoccupante. *Le point vétérinaire* 2003, n° 233 : p 46-51
49. **-SERIEYS ,2004** : Antibiothérapie des infections mammaires quelle(s) voie(s) de traitement ? Dossier spécial : hygiène de la mamelle et traitement des mammites. *Bulletin GTV n° 24 MARIS/Avril*, pp 41-46
50. **-SERIEYS.1995** : le point sur les mammites des vaches laitières. Edition institut de l'élevage (paris),64 pages.
51. **SMITH B P.** Mammary gland health and disorders. *Large animal internal medicine*, 2008, fourth edition: 1112-1119

52. -**VIGNOLA C.L. (2002)**.Science et technologie du lait , transformation du lait
.Edition polytechnique .paris. p.90.
53. **Weisen J. P.** La stratégie de la lutte antimammite. La prophylaxie des mammites.
Ed.Vigot Frère, 1974, Paris, 43-79.

ANNEXE

I.MATERIEL UTILISE :

I.1. Grand appareillage :

- Bain Marie.
- Incubateur (37°C).
- Stérilisation en chaleur sèche (four pasteur).
- Microscope optique.
- Bec Bensen .
- Autoclave.
- Centrifugeuse.

I .2.Matériel consommable :

- Lames et lamelles.
- Tubes stériles (tubes à essai).
- Pipettes graduées des 1 à 5ml.
- Pipettes Pasteur.
- Micropipettes 0.2 et 0.3 µl.
- Boîte de pétri à usage unique.
- Anse de platine.
- Centenaire métallique pour le conditionnement des pipettes.
- Pincettes à lames.

II.TECHNIQUES :

II.1.Coloration de Gram :

II.1.1.Préparation du frottis :

La préparation du frottis se fait comme suite

Étalement : l'étalement doit se faire en couche mince, sur une lame dégraissée.

Dessiccation : laisser sécher à l'air.

Fixation :

-Passer 3 fois rapidement dans la flamme du bec Bensen la face opposée de l'étalement sans trop insister sous peine de carboniser le prélèvement.

-On peut également fixer en laissant évaporer quelques gouttes d'alcool méthylique versé directement sur le prélèvement

-A ce stade les germes ne sont plus considérés comme contaminants.

II.1.2. Coloration pour les bactéries :

1-Déposer quelques gouttes de violet de gentiane sur la lame.

2-Laisser agir pendant 4 à 6 secondes.

3-Egoutter sans rincer.

4-Déposer quelques gouttes de lugol.

5-Laisser agir pendant 4 à 5 secondes.

6-Egoutter et recommencer avec le lugol.

7-Egoutter.

8-Faire couler sur la lame (pas sur l'étalement) l'alcool ou l'alcool-acétone jusqu'à disparition du violet.

9- Laisser agir quelques gouttes de fushine pendant 25 secondes.

10-Laver.

11-Sécher.

II.1.3 Examen microscopique : mettre une goutte d'huile de vaseline et examiner au microscopique optique à l'objectif 40.

III. COLORANTS :

1. Violet phérique(Nicole) :

Violet de gentiane (cristal violet).....1 gr.
Alcool absolu.....10ml.
Eau phérique à 1%.....9ml.

2. Solution de fuschine :

Solution de fuschine saturée dans l'alcool.....10ml.
Eau distillée.....90ml.

3. Solution iodée.

Méthanol.....500ml.
Alcool 95%.....500ml.

4. liquide de lugol (IKI) :

Iode.....1 gr.
Iodure de potassium.....2gr.
Eau distillée.....300ml.

IV.COMPOSITION DES MILIEUX DE CULTURES :

1-Bouillon de cœur-cerveille BHIB g/l :

Infusion de cervelle de veau.....200.

Infusion de cœur de bœuf250.

Peptone de gélatine.....10.
Chlorure de sodium.....5.
Phosphate disodique.....2.5.
Glucose2.

2-Bouillon nutritif :

Peptone5gr.
Extrait de viande1gr.
Extrait de levure.....2gr.
Nacl.....5gr.
Eau distillée.....1000ml.
PH=7.4.

3-Gélose Hecktoen :

Prote ose peptone.....12gr.
Extrait de levure3gr.
Chlorure de sodium5gr.
Thiosulthite de sodium5gr.
Sels biliaires9gr.
Citrate de fer ammoniacal1.5gr.
Salicine.....2gr.
Lactose12gr.
Saccharose12gr.
Fuschine acide.....0.1gr.
Bleu de bromothymol0.005gr.
Agar14gr.
Eau distillée100ml.
PH=7,5.

4-Gélose Mac conkey :

Peptone.....20gr.
Lactose.....10gr.
Sels biliaire.....1,5gr.
Cristal violet..... 0,001gr.

Rouge neutre.....0,05gr.

Chlorure de sodium.....5gr.

Agar.....15gr.

PH=7,1

5-Gélose nutritive :

Extrait de viande.....1gr.

Extrait de levure2gr.

Chlorure de sodium5gr.

Agar15gr.

Eau distillée.....1000ml.

PH=7,4.

6- Milieu de Chapman

Extrait de viande3gr.

Extrait de levure3gr.

Tryptone5gr.

Peptone bactériologique.....10gr.

Chlorure de sodium70gr.

Mannitol.....10gr.

Rouge de phénol.....0,05gr.

Agar18gr.

Eau distillée.....1000ml.

7-Milieu Kligler Hajna(KIA) :

Extrait de viande de bœuf3gr.

Extrait de levure.....3gr.

Peptone.....20gr.

Chlorure de sodium.....5gr.

Citrate ferrique.....0.3gr.

Thiosulfate de sodium.....0.3gr.

Lactose.....10gr.

Glucose.....1gr.

Rouge de phénol.....0.025gr.

Agar.....1000ml.

8-Milieu urée-indole :

L.Tryptophane3gr.

Phosphate mono potassique.....3gr.

Chlorure de sodium.....5gr.

Urée20gr.

Alcool à 95%.....10ml.

Rouge de phénol.....0,025gr.

Eau distillée.....1000ml.

9-Mannitol mobilité :

Peptone trypsiqige de viande.....20gr.

Mannitol.....2gr.

Rouge de phénol à 1%.....4ml.

Agar.....4gr.

Eau distillée.....1000ml.

PH=8,1.

10-Milieu Clark et lubs :

Peptone.....10gr.

Glucose.....5gr.

Phosphate bipotassique.....2gr.

PH=7.

11-Gélose de Mueller-Hinton :

Infusion de viande de bœuf300gr.

Hydrolyse de caséine17,5gr.

Amidon1,5gr.

Agar17gr.

Eau distillée.....1000ml.

PH=7,4.

12-Eau physiologique :

Nacl.....8,5gr.

Eau distillée.....1000ml.

Autoclaver à 120°C pendant 20 minutes

V. Réactifs :

1-Réactif de Kovacs :

Paraméthyl amino- benzaldéhyde.....5gr.

Alcool amylique.....75gr.

HCl pur.....25gr.

2-Réactif de Voltes Proskver VP

VP1 : Hydroxyde de potassium40gr.

Eau distillée.....100ml.

VP2 : Alpha naphthol.....6gr.

Ethanol.....1000ml.

3-Rouge méthyl RM:

Rouge de méthyle.....0,1gr.

Alcool 95%.....300ml.

Eau distillée.....500ml.

(MARCHAL.N.BOURDON.J.L.1982)

Nombre des prélèvements de lait avec les dates respectives :

1/La commune de CHERAGA :

La date	La race	Nombre du prélèvement	Trayons
10/02/2013	Simmentale autrichienne	1	AD
	Simmentale autrichienne	2	PD
	Simmentale autrichienne	3	AD
	Simmentale autrichienne	4	AG
17/03/2013	Simmentale autrichienne	1	PD
	Simmentale autrichienne	2	AG
	Simmental autrichienne	3	AD
	Simmentale autrichienne	4	AD
04/03/2013	Fleckvieh	1	PG
	Simmentale autrichienne	2	PD
02/04/2013	Simmentale autrichienne	1	AD
	Simmentale autrichienne	2	AG
05/05/2013	Fleckvieh	1	AD
	Simmentale autrichienne	2	PG
	Simmentale autrichienne	3	PD
	Fleckvieh	4	AG
	Fleckvieh	5	AD

2 /la commune de BABA ALI :

La date	La race	Nombre du prélèvement	Trayons
20/04/2013	Holstein	Prélèvement 1	PD
	Flekvieh	Prélèvement 2	PD
	Montbéliarde	Prélèvement 3	AG
21/04/2013	Holstein	Prélèvement 1	AD
	Brune des Alpes	Prélèvement 2	PG
	Flekvieh	Prélèvement 3	PD
	Holstein	Prélèvement 4	PG
5/5/2013	Montbéliarde	Prélèvement 1	AG
	Flekvieh	Prélèvement 2	AD
	Holstein	Prélèvement 3	AD
	Holstein	Prélèvement 4	PG

RESUME :

Les mammites sont une pathologie majeure rencontrée couramment dans l'élevage laitier et elles occasionnent des pertes économiques importantes, Elles entraînent des pertes de production mais aussi des changements de composition et de qualité du lait.

L'objectif de notre travail consiste à isoler et à identifier les Entérobactéries responsables de mammites dans les régions (Cheraga et Baba ali).

Nos résultats ont montré l'existence de cinq bactéries dans l'apparition de mammites principalement à savoir : E.coli, proteus, Entérobacter, klebsiella, et staphylococcus aureus.

Mots clés : mammite, vache laitière , diagnostic , willaya d'alger , analyse bactériologique .

ملخص:

يعتبر التهاب الضرع من اهم الامراض الموجودة في تربية الابقار الحلوب التي تسبب خسائر اقتصادية فادحة حيث تؤدي الى نقص في الانتاج و ايضا الى تغيير محتوى و نوعية الحليب.

الهدف من الدراسة التي قمنا بها هو عزل ومعرفة انواع Entérobactéries المسؤولة عن التهاب الضرع في

منطقة الجزائر (بابا علي و شراقة)

اسفرت نتائج دراستنا على وجود خمسة انواع من البكتيريا كانت موضوع بحثنا الا و هي :

E.coli proteus,Entérobacter,klebsiella et staphylococcus aureus

كلمات دالة: التهاب الضرع. بقرة حلوب. تشخيص ولاية الجزائر. تحليل بكتريولوجي.

SUMMARY:

The mastitis is a major pathology usually met in the dairy breeding and they cause significant economic losses. Indeed, it involves losses of production but also changes of composition and quality of milk.

The goal of our work is to isolate and identify those responsible enterobacteria mastitis in the regions (Cheraga, Ali Baba).

Our results have showed that fiave bacteria intervene : E.coli, proteus, Entérobacter, klebsiella, et staphylococcus aureus.

Key words : mastitis, dairy cows, diagnosis , Algiers , bacteriological analyses.