

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Harrach-Alger**

**Mémoire**

**En vue de l'obtention du diplôme de**

***Magistère en Sciences Vétérinaires***

**Option : Nutrition et Reproduction des Bovins**

**Thème**

**Etude de la prévalence des mammites subcliniques  
dans quelques régions de la Mitidja**

**Présenté par : M<sup>elle</sup> AOUANE Nedjma**

Devant le jury composé de :

<b>M<sup>r</sup> BENDEDDOUCHE B</b>	<b>Maître de conférences (ENSV)</b>	<b>Président</b>
<b>M<sup>r</sup> KAIDI R</b>	<b>Professeur (ISV Blida)</b>	<b>Promoteur</b>
<b>M<sup>r</sup> KHELEF D</b>	<b>Maître de conférences (ENSV)</b>	<b>Examineur</b>
<b>M<sup>r</sup> LAFRI M</b>	<b>Professeur (ISV Blida)</b>	<b>Examineur</b>
<b>M<sup>elle</sup> CHOUYA F</b>	<b>Maître assistante (ENSV)</b>	<b>Examinatrice</b>

***Année Universitaire 2009/ 2010***



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

A

*Mes très chers parents qui furent mes premiers enseignants dans la vie et à qui je dois tout.*

*Que ce travail soit pour eux une modeste compensation pour tous les sacrifices qu'ils ont consacré à mon égard, qu'il me soit donné d'être digne de toute leur affection et leur confiance.*

*Mon très cher et adorable frère « Outy » pour toute son aide et ses encouragements.*

*Mes grands parents paternels « Djeddou Tahar et Mama Hamiche » et maternels « Djeddou Hamid et Mama Ouiza » que DIEU les gardent.*

*Mes oncles et tantes paternels et maternels pour leur soutien moral, plus particulièrement Tonton Mustapha pour son aide précieuse et sa disponibilité.*

*Mes petit(e)s cousins et cousines.*

*Toute la famille sans exception.*

*Nedjma<sup>★</sup>*

## ***Remerciements***

Louange à DIEU le tout puissant, qui m'a donné la santé, le courage et la volonté pour accomplir ce modeste travail

Au terme de ce dernier, il m'est agréable de présenter mes plus vifs et sincères remerciements à :

Mr BENDEDDOUCHE B : Maître de conférences à l'ENSV, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury qui va examiner ce travail.

Mr KHELEF D : Maître de conférences à l'ENSV, pour l'honneur qui m'a fait en acceptant d'être membre du jury. Sincères remerciements.

Mr LAFRI M: Professeur à ISV de Blida, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Sincères remerciements.

Melle CHOUYA F : Maître assistante à l'ENSV, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce mémoire en acceptant d'être membre du jury.

Mr LASNAMI K : Docteur Vétérinaire et Consultant international, qui a bien voulu participer à ce travail, pour ses conseils, son aide précieuse et ses encouragements continus. Sincères remerciements.

Je tiens à exprimer ma gratitude et ma reconnaissance à mon promoteur Pr KAIDI R, pour ses conseils, son aide précieuse tout au long de la réalisation de ce modeste travail. Sa compétence, son sens de travail et toutes ses connaissances m'ont été d'un grand recours. Sans oublier M<sup>me</sup> KAIDI A, pour ses conseils et l'aide précieuse dans la partie bactériologique.

Mes remerciements s'adressent également :

Aux éleveurs et toute l'équipe (*El Zeraimi* et *SGB de Blida*) : qui m'ont consacré du temps et pour leur aide tout au long de l'expérimentation. Sans leur cheptel notre travail n'aurait pas pu être réalisé.

A la laiterie « *SPA TREFLE* » qui a contribué à la réalisation de l'analyse bactériologique par les moyens mis à ma disposition.

Je tiens à remercier vivement toute l'équipe à savoir : M<sup>elle</sup> Hameg Fatima, M<sup>r</sup> Sidi Moussa Ilias, , M<sup>r</sup> Attaba Khaled, M<sup>me</sup> Merkantia Soumia, M<sup>elle</sup> Barbet Karima, Mme Ayad Abir et D<sup>r</sup> Rabahi Azeddine. Hommages respectueux.

Aux membres du laboratoire de «Biologie Clinique» de la faculté des Sciences Agrovétérinaire et Biologique de Blida : Pr GUETARNI D, Dr TERZALI D, Dr GHARBI I, Dr KEBBAL S, Dr YAHIMI A et TADJINE N. Hommages respectueux.

A M<sup>me</sup> ZENIA S, Maître assistante à l'ENSV, pour toute l'aide apportée dans le traitement et l'analyse statistique. Vive gratitude et profonds remerciements.

A Dr NEGUAZI (Hôpital Mustapha), Dr MESSAD Sara, M<sup>elle</sup> RAHMOUNE Asma et son amie (Institut Pasteur), pour l'aide apportée dans le traitement des résultats de bactériologie pour l'identification des Streptocoques par l'utilisation du logiciel Api web et le catalogue Api Strep.

A M<sup>r</sup> SAADI Ahmed, Ingénieur de laboratoire de parasitologie à l'ENSV, pour son aide précieuse et sa disponibilité. Sincères remerciements.

Je tiens à remercier aussi tous les agents de la bibliothèque de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire.

A tous les membres de la famille de l'Inspection Vétérinaire de la Wilaya d'Alger, pour leur aide, leur compréhension et leur encouragement. Sincères remerciements.

A tous mes ami(e)s de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, qui m'ont toujours soutenue , présents aux moments de joie et de peine. Merci les ami(e)s..... !

Sans oublier tous mes confrères docteurs vétérinaires de la post graduation des deux options " Nutrition et Reproduction des Bovins" et " Elevage et Pathologie Avicole et Cunicole".

Enfin, j'aimerais remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Résumé

Les mammites représentent l'une des pathologies les plus coûteuses en élevage bovin laitier ; leur dépistage précoce et efficace est l'une des clés du contrôle. Pour cela plusieurs méthodes existent : le test CMT, le Comptage des Cellules Somatiques du Lait de Quartier (CCSQ), la Conductivité Electrique du lait (CE) et l'analyse bactériologique du lait de quartier pour déterminer l'agent causal. L'objectif de notre étude est d'évaluer la prévalence des mammites subcliniques dans les deux élevages choisis, par l'utilisation de ces différentes méthodes de diagnostic.

Au total, 165 vaches laitières ont été suivies, 155 prélèvements de lait de quartier ont été effectués pour le Comptage des Cellules Somatiques, 116 prélèvements pour la Conductivité Electrique et 87 prélèvements ont été réalisés pour la recherche et l'identification des germes en cause sur des quartiers à CMT positif.

L'étude a révélé la présence de mammites subcliniques dans les deux exploitations à des fréquences différentes selon le test utilisé.

Le CMT est le test le plus pratiqué sur le terrain, vu son efficacité, sa facilité d'utilisation et son faible coût. Cependant, l'inconvénient réside dans le caractère subjectif de la lecture. Contrairement au Comptage Cellulaire qui reste le meilleur indicateur du niveau d'infection du quartier.

Actuellement, il n'existe pas d'appareil fiable pour détecter efficacement la mammite subclinique sur la simple valeur de la conductivité électrique.

En fin, la bactériologie est de loin la méthode de référence puisqu'elle a permis l'isolement de différents pathogènes, avec une dominance des germes à réservoir environnemental (SCN et le *Streptococcus uberis*).

**Mots clés :** Dépistage, mammite subcliniques, Comptage Cellulaire, Conductivité Electrique, CMT et bactériologie.

## *Summary*

Mastitis represents one of the pathologies which are the most expensive in milk cattle breeding. Their early and efficient detection is one of the control keys. For this, various methods exist:

The CMT test (Californian Mastitis Test), the Somatic Cells counting of the quarter milk, the milk Electric Conductivity and the bacteriological analysis of the quarter milk in order to determine the causing agent. The objective of our research is to evaluate the subclinical mastitis prevalence within both selected breedings through the use of different diagnosis methods.

Totally, 165 milk cows have been studied, 155 samples of the quarter milk have been carried out for the somatic cells counting, 116 samples for the Electric Conductivity and 87 samples have been realized for the research and the identification of the causing germs on the quarter with positive CMT.

The study has revealed the presence of the subclinical mastitis within both farms with different frequencies according to the used test.

The CMT is the most practical test used in farms and this is because of its efficiency, its facility of use and its cheap cost.

However, the disadvantage resides in the subjective character of the reading. Contrary to the cells counting which remains the best indicator of the quarter's infection level.

Nowadays, there is no reliable machine to detect efficiently the subclinical mastitis on the simple value of the Electric conductivity.

At last, bacteriology is far from being the reference method because it has allowed the isolation of different pathologies with the domination of the external environment of the germs (SCN, *Streptococcus uberis*).

**Key words:** Detection, subclinical mastitis, Cells Counting, Electric Conductivity, CMT and Bacteriology.

---

إن إتهابات الضروع تمثل واحدة من وصمات الباطنية ( الأمراض الأكثر تكلفة في تربية أبقار الحلوب) و إستقصاء تشخيصي ميكروناجع و هو أحد المفاتيح للمراقبة، لهذا توجد عدة طرق : إختبار CMT, عد الخلايا الجسدية لحليب حلمة الضرع (CCSQ), ناقلية كهرباء الحليب (CE) et تحليل علم البكتيريا لحليب حلمة الضرع لتحديد العامل المتسبب.

الهدف من دراستنا هو تقويم التهابات الضروع بعد المرض في التريبتين المختاريتين باستعمال مختلف الطرق للتشخيص .

في مجموع 165 بقرة حلوب التي تمت متابعتهم ، 155 كمية مقطعة من حليب حلمة الضرع بالنسبة لعد الخلايا الجسدية ، 116 كمية مقطعة بالنسبة لناقلية الكهرباء، و 87 كمية مقطعة التي أنجزت للبحث و تعريف الجراثيم المتسببة في حلمة الضرع CMT الإيجابي.

الدراسة كشفت وجود إتهابات الضروع بعد المرض في المستثمرتين (02) عليهم تكرارات مختلفة حسب الإختبار المستعمل.

CMT و هو الإختبار الأكثر تطبيقا في الميدان و نظرا لنجاعته، سهولة الإستعمال و ضعف التكلفة ، مع ذلك المساوي التي تكمن في المميزات الذاتية في القراءة ، عكس عد الخلايا التي تبقى الشاهد الأحسن على مستوى عدوة حلمة الضرع.

حاليا لا يوجد جهاز دقيق لكشف نجاعة التهاب الضرع بعد المرض بأبسط قيمة لناقلية الكهرباء، و في النهاية، علم البكتيريا هي بعيدة عن الطريقة المرجعية بما أنها تسمح بعزل مختلف الأمراض مع سيطرة الجراثيم التي لها خزان بيئي (*Streptococcus uberis* أو SNC).

مفاتيح الكلمات : تشخيص التهابات الضرع بعد المرض، عد الخلايا، ناقلية الكهرباء CMT و علم البكتيريا.

## *Liste des Figures*

Figure 1.1 : Le système de support du pis de la vache.....	3
Figure 1.2 : Schéma de l'anatomie de la mamelle.....	5
Figure 1.3 : Les différentes phases du cycle reproduction-lactation chez la vache laitière.....	6
Figure 1.4 : Le réflexe d'éjection du lait et son conditionnement.....	8
Figure 1.5 : Importance de la stimulation mammaire (avant traite) sur la collecte du lait.....	9
Figure 1.6 : Schéma de la structure d'une alvéole.....	11
Figure 1.7 : Précurseurs du lait, transportés là où la synthèse du lait, des protéines et du lactose prend place dans la mamelle.....	11
Figure 2.1 : Les voies de contamination.....	16
Figure 2.2 : Coupe longitudinale du canal du trayon chez la vache.....	25
Figure 2.3 : Phénomène d'impact.....	28
Figure 2.4 : Contamination entre les traites (par capillarité lors de contact avec litière contaminée et lésions du trayon) .....	28
Figure 2.5 : Interactions entre les défenses mammaires et les bactéries.....	30
Figure 2.6 : Morphologie comparées de polynucléaires neutrophiles provenant du sang et du lait.....	30
Figure 2.7 : Déroulement du processus infectieux.....	32
<b>Toutes les Figures de la partie Matériels et Méthodes sont des photos personnelles</b>	
Figure 3.1 : Situation géographique.....	47
Figure 3.2 : Epreuve du bol à fond noir.....	50
Figure 3.3 : Matériels pour le CMT.....	51
Figure 3.4 : La réalisation du CMT.....	52
Figure 3.5 a : Résultat CMT négatif.....	52

Figure 3.5 b : Résultat CMT positif.....	52
Figure 3.6 : Etapes de réalisation du prélèvement pour la numération cellulaire.....	53
Figure 3.7 : Coulter Counter modèle Z2 (avec son clavier à gauche) .....	54
Figure 3.8 : Schéma du principe de fonctionnement du COULTER.....	55
Figure 3.9 : Fixation des échantillons de lait.....	56
Figure 3.10 : Etapes de clarification des échantillons de lait fixé.....	57
Figure 3.11 a : Lecture du résultat.....	58
Figure 3.11 b : Résultat après rinçage de l'extrémité de la sonde avec la solution isotonique.....	58
Figure 3.12 : DRAMINSKI®.....	59
Figure 3.13 : Technique de réalisation.....	60
Figure 3.14 : Lecture du résultat.....	60
Figure 3.15 : Matériels nécessaire pour le prélèvement.....	61
Figure 3. 16 : Etapes de réalisation du prélèvement pour l'analyse bactériologique.....	62
Figure 3.17 : Préparation des dilutions décimales.....	64
Figure 3.18.a : Recherche des GT sur PCA.....	65
Figure 3.18.b : Recherche des CF sur VRBL.....	65
Figure 3.19 : Dénombrement des GT et des CF.....	65
Figure 3.20 : Virage du milieu « Giolliti Cantoni » après incubation.....	66
Figure 3.21 : Colonies blanches sur Chapman avec ou sans utilisation du Mannitol.....	66
Figure 3.22 : Test de la catalase.....	67
Figure 3.23 : Colonies de Staphylocoques sur Gélose Baird Parker.....	68
Figure 3.24 a : Réaction positive (présence d'éventuels Streptocoques) .....	68
Figure 3.24 b : Réaction négative (absence de Streptocoques) .....	68
Figure 3.25 : Formation d'une pastille violette au fond du tube.....	69
Figure 3.26 : Souche de Streptocoque purifiée.....	69
Figure 3.27 : Aspect microscopique d'une colonie de Streptocoque.....	70
Figure 3.28 : Hémolyse et .....	71

Figure 3.29 : Galerie API 20 Strep.....	71
Figure 3.30 : Etapes d'utilisation de la Galerie API 20 Strep.....	73
Figure 4.1 : Répartition des vaches en fonction de la Race.....	74
Figure 4.2 : Répartition des vaches en fonction de l'âge.....	75
Figure 4.3 : Répartition des vaches en fonction du Rang de lactation.....	76
Figure 4.4 : Répartition des vaches en fonction du Stade de lactation.....	77
Figure 4.5 : Prévalence de mammites Cliniques.....	78
Figure 4.6 : Prévalence d'atteinte des quartiers déterminée par le test CMT.....	79
Figure 4.7 : Répartition des valeurs du taux cellulaire individuel de lait de quartier.....	81
Figure 4.8 : Nombre de germes isolés par quartier.....	84
Figure 4.9 : Fréquence d'isolement des germes.....	85
Figure 4.10 : Fréquence d'isolement des espèces appartenant aux Streptocoques.....	86

## *Liste des Tableaux*

Tableau 2.1 : Réservoirs de germes dans le troupeau.....	17
Tableau 2.2 : Caractéristiques pathologiques et épidémiologiques des principales espèces bactériennes.....	19
Tableau 2.3 : Cellules somatiques, leur origine, rôle et proportions physiologiques.....	26
Tableau 2.4 : Moyenne géométrique des CCS en fonction du pathogène mis en évidence...37	
Tableau 2.5 : Paramètres d'interprétation du CMT.....	40
Tableau 3.1 : Renseignements concernant le troupeau .....	48
Tableau 3.2 : Interprétation des résultats de l'appareil DRAMINSKI® .....	60
Tableau 4.1 : Répartition des vaches en fonction de la Race.....	74
Tableau 4.2 : Répartition des vaches en fonction de l'âge .....	75
Tableau 4.3 : Répartition des vaches en fonction du Rang de lactation.....	76
Tableau 4.4 : Répartition des vaches en fonction du Stade de lactation.....	77
Tableau 4.5 : Prévalence de mammites Cliniques.....	78
Tableau 4.6 : Prévalence d'atteinte des quartiers déterminée par le test CMT.....	80
Tableau 4.7 : Fréquence des CMT (++) et CMT (+++)......	80
Tableau 4.8 : Répartition des valeurs du taux cellulaire individuel de lait de quartier.....	81
Tableau 4.9 : Répartition des CCS par rapport à la Race.....	82
Tableau 4.10 : Répartition des CCS par rapport à l'âge.....	82
Tableau 4.11 : Répartition des CCS par rapport au Rang de lactation.....	82
Tableau 4.12 : Répartition des CCS par rapport au Stade de lactation.....	82
Tableau 4.13 : Répartition des vaches en fonction de leurs conductivités électriques.....	83
Tableau 4.14 : Nombre de germes isolés par quartier à CMT positif.....	84

Tableau 4.15 : Fréquence d'isolement des germes.....84

Tableau 4.16 : Fréquence d'isolement des espèces appartenant aux Streptocoques.....86

## *Liste des abréviations*

AD : Antérieur Droit

AFNOR : Agence Française de Normalisation

AG : Antérieur Gauche

CCI : Comptage Cellulaire Individuel

CCS : Concentration en Cellules Somatiques

CCSQ : Comptage des Cellules Somatique de lait de Quartier

CE : Conductivité Electrique du lait

Cl<sup>-</sup> : Chlore

CMT : Californian Mastitis Test

FIL : Fédération Internationale des Laiteries

FLK : Fleckvieh

HPN : Holstein Pie Noire

HPR : Holstein Pie Rouge

Ig : Immunoglobulines

K<sup>+</sup> : Potassium

Kg : Kilogramme

MB : Montbéliarde

ml: millilitre

mm : millimètre

Na<sup>+</sup> : Sodium

PD : Postérieur Droit

PG : Postérieur Gauche

PNN : Poly Nucléaires Neutrophiles

SCN : Staphylocoques Coagulase Négative

SCP : Staphylocoques Coagulase Positive

UHT : Ultra Haut Températures

## *Sommaire*

Introduction.....	1
-------------------	---

### **Partie Bibliographique**

#### **Chapitre I / Anatomico-physiologie de la mamelle**

I-1/ Morphologie de la glande mammaire.....	3
I-1-1/ Morphologie externe.....	3
I-1-2/ Morphologie interne.....	4
I-2/ Physiologie de la lactation.....	6
I-3/ Le lait.....	10

#### **Chapitre II/ Mammmites sucliniques**

II-1/ Définition.....	13
II-2/ Importance des mammmites.....	14
II-2-1/ Importance économique.....	14
II-2-2/ Importance hygiénique et sanitaire.....	15
II-3/ Etiologies .....	15
II-3-1/ Facteurs déterminants (germes).....	15
II-3-2/ Facteurs prédisposants .....	20
II-3-2-1/ Liés à l'animal.....	20
II-3-2-2/ Liés aux conditions d'élevage.....	22
II-4/ Pathogénie .....	24
II-4-1/ Les moyens de défense de la mamelle.....	24
II-4-1-1/ Défense passive .....	24
II-4-1-2/ Défense active .....	25
II-4-2/ Le déroulement du processus infectieux .....	27
II-5/ Diagnostic et dépistage.....	33
II-5-1/ Diagnostic non spécifique .....	33
II-5-1-1/ Diagnostic biochimique.....	33
II-5-1-2/ Diagnostic immunologique.....	34
II-5-1-3/ Diagnostic par mesure de la conductivité électrique du lait.....	35
II-5-1-4/ Diagnostic par mesure de la concentration cellulaire du lait .....	36

II-5-1-4-1/ Méthode de comptage directe .....	37
II-5-1-4-1-1/ Comptage au microscope.....	37
II-5-1-4-1-2/ Comptage par le Fossomatic.....	37
II-5-1-4-1-3/ Comptage par le Coulter Counter.....	38
II-5-1-4-2/ Méthode de comptage indirecte .....	39
II-5-1-4-2-1/ CMT.....	39
II-5-1-4-2-2/ Epreuve de la catalase.....	41
II-5-2/ Diagnostic spécifique : L'analyse bactériologique du lait.....	41
II-6/ Traitement des mammites subcliniques.....	42
II-7/ Moyens de lutte (Prophylaxie) .....	44
II-7-1/ Mesures curatives .....	44
II-7-2/ Mesures préventives.....	45

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre III/ Matériels et Méthodes**

III-1/ Objectif.....	46
III-2/ Caractéristiques générales de la région d'étude.....	46
III-2-1/ Situation géographique.....	46
III-2-2/ Climat.....	48
III-2-3/ Exploitation laitière.....	48
III-3/ Echantillonnage et conditions expérimentales.....	49
III-4/ Matériels et Méthodes.....	49
III-4-1/ Détection des mammites cliniques.....	49
III-4-2/ Détection des mammites subcliniques.....	51
III-4-2-1/ Epreuve CMT.....	51
III-4-2-2/ Comptage des cellules somatiques du lait de quartier (CCSQ) .....	53
III-4-2-3/ Mesure de la conductivité électrique du lait .....	59
III-4-2-4/ Analyse bactériologique du lait .....	61
III-4-3/ Analyse Statistique .....	72

### **Chapitre IV/ Résultats et interprétations**

IV-1/ Informations générales.....	74
IV-2/ Enregistrement des cas cliniques .....	78

IV-3/ CMT .....	79
IV-4/ Concentration cellulaire de lait de quartier (CCIQ).....	81
IV-5/ Conductivité électrique du lait de quartier .....	83
IV-6/ Analyse bactériologique.....	84

## **Chapitre V/ Discussion et Conclusion**

V-1/ Informations générales.....	87
V-2/ Enregistrement des cas cliniques .....	87
V-3/ CMT .....	88
V-4/ Concentration cellulaire de lait de quartier (CCIQ).....	89
V-5/ Conductivité électrique du lait de quartier .....	91
V-6/ Analyse bactériologique.....	92
Conclusion.....	96
Recommandations.....	98

## **Références bibliographiques**

### **Annexes**

La filière lait a une importance capitale dans l'économie agricole. Elle représente une des priorités du pays et rentre dans la politique de la mise à niveau de l'agriculture avec l'objectif d'atteindre une autosuffisance garantie par une production nationale fondée sur une organisation cohérente impliquant les différents acteurs de la filière.

La production laitière nationale est en nette ascension, elle était de 1,5 Milliard de Litres en 2000 et elle a atteint les 2,47 Milliard de Litres en 2009 et ce grâce à la politique d'encouragement de l'état par la mise en place du FNRDA pour le soutien à la production, à la collecte, à la transformation du lait cru et à la production de génisses sélectionnées (DSV-MADR- sous direction des filières animales, 2010).

Cette production laitière est assurée par un cheptel bovin de 1 693 545 têtes dont 903 665 de vaches laitières, qui couvre 40% de la consommation nationale le reste étant comblé par les importations de poudre de lait (120 000 T en 2009), engendrant une facture financière évaluée à 400 Millions de Dollars. (ONIL, 2009)(DSV-MADR- sous direction des filières animales, 2010).

Cependant, malgré l'encouragement de l'état pour le renouvellement du cheptel laitier par le biais de l'importation de génisses pleines à haut potentiel génétique, ceci n'a pas pour autant amélioré la production nationale pour diverses raisons.

En plus de l'alimentation du bétail insuffisante induite par la conduite des élevages (à petit effectif) dont la majorité est en hors sol, les problèmes sanitaires se posent ? Les mammites se classent parmi les affections les plus fréquentes, les plus lourdes de conséquences et les plus coûteuses en élevage bovin laitier.

L'impact financier est d'une part dû aux pertes représentées par la baisse de production laitière directe ainsi qu'à l'altération de la qualité du lait ou indirecte (lait écarté de la commercialisation pour cause de traitement antibiotique), à l'impact sur l'avenir reproducteur de la vache et ainsi que sur sa longévité (réforme anticipée) et d'autre part aux coûts des traitements, des frais du vétérinaire et les conséquences sur la reproduction.

Dans la majorité des cas, les mammites ont une évolution silencieuse, asymptomatique dite "Subclinique", qui passent souvent inaperçues et échappent donc au diagnostic

macroscopique vu que l'aspect de la mamelle et de sa sécrétion semblent normaux. Cette forme peut persister ou évoluer très rapidement en mammite clinique dont les conséquences peuvent être graves tant sur la qualité que sur la quantité du lait produit. En plus, la résistance, la transmission et la dissémination des germes entre vaches par le biais du matériel de traite font d'elle une forme très dangereuse.

L'une des solutions au problème est un dépistage – ou un diagnostic – précoce et performant. En effet, il permet de mettre en œuvre un traitement plus efficace pour éviter les complications, voire d'autres mesures de gestion sanitaire : ségrégation des animaux excréteurs, réforme des vaches incurables, ...

Dans la seconde moitié du siècle dernier, l'avènement de méthodes de bactériologie fiables, ainsi que d'appareils de comptage cellulaire, a permis la compréhension de l'étiologie et de l'épidémiologie des mammites.

La bactériologie permet un diagnostic étiologique précis du micro-organisme en cause. Elle est considérée comme la méthode de référence, mais son coût et la technicité requise limitent son utilisation sur le terrain.

Le comptage cellulaire, diagnostic de l'inflammation de la mamelle, est quant à lui automatisable et à coût limité. Dans certains pays, il est utilisé depuis longtemps en routine comme critère de paiement du prix du lait. Réalisé alors sur le lait de mélange des quatre quartiers, il permet d'identifier les vaches infectées durablement. Hors en Algérie, cette pratique n'est pas appliquée ni réglementée.

La conductivité électrique du lait est apparue comme un moyen possible de détection des mammites. Certains systèmes font partie intégrante de la machine à traire ou du robot de traite (méthode dite « en-ligne »), alors que d'autres sont portatifs. Il existe très peu d'information scientifique sur l'efficacité réelle pour la détection de ce dernier type d'appareil.

L'objectif de notre étude est d'estimer la prévalence des mammites subcliniques dans les deux élevages choisis, en utilisant ces différentes méthodes de dépistage.

## I-1/ Morphologie de la glande mammaire :

### I-1-1/ Morphologie externe :

Les mamelles sont des glandes cutanées spécialisées dont la fonction est de sécréter le lait (BARONE, 1990). Chez la vache, elles sont au nombre de quatre (quartiers), dont deux antérieurs et deux postérieurs ; en position inguinale. Chaque mamelle se prolonge par un trayon unique, appelé mamelon ou tétine, au sommet duquel s'ouvre le canal du trayon par un seul orifice, l'ostium papillaire qui est punctiforme au repos mais aisément dilatable au moment de la traite (HOLLMANN, 1974).

Les quartiers sont réunis extérieurement par une masse hémisphérique appelée le pis. Ils sont physiquement séparés par un ligament suspenseur du pis et par deux sillons transverses. Chaque quartier forme ainsi une entité anatomique distincte et indépendante des trois autres vis-à-vis des infections et aussi de la production (BOUDRY, 2005). (Figure1.1).

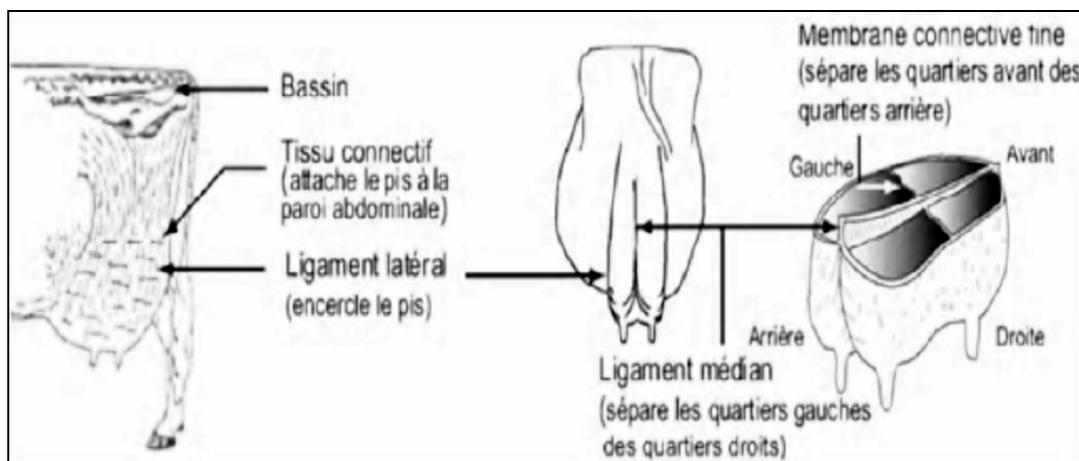


Figure 1.1 : Le système de support du pis de la vache (WATTIAUX, 1996).

Les quartiers postérieurs sont, en général un peu plus développés et sécrètent 60% du lait total et le reste est produit par les quartiers antérieurs (DOSOGNE et al, 2000).

### I-1-2/ Morphologie interne :

Chaque quartier est composé d'un corps contenant le parenchyme glandulaire et se termine par un trayon. Le parenchyme mammaire, qui constitue la majeure partie du quartier, est soutenu par une charpente conjonctive importante très richement vascularisée. Ce conjonctif mammaire subdivise le parenchyme en lobes et en lobules. Chaque lobule est formé d'éléments sécréteurs tubulo-acineux : les alvéoles glandulaires ou acini mammaires (Figure 1.2). Chaque alvéole ou acinus débouche dans des canaux galactophores, entouré de cellules myoépithéliales se contractant au moment de la traite, et qui ont un double rôle, de stockage du lait et de son éjection vers le sinus galactophore (citerne du pis) et le canal du trayon. Chez la vache, la quantité de lait contenue dans chaque quartier est répartie comme suit : 60% dans les alvéoles mammaires, 20% dans les conduits et 20% restants dans la citerne du pis. Sans l'action de l'ocytocine et la contraction des cellules myo-épithéliales qui chassent le lait vers la citerne, seul les 20% contenus dans la citerne du pis sont disponibles pour la traite (BARONE, 1990), (CAUTY et PERREAU, 2003), (BOUDRY, 2005).

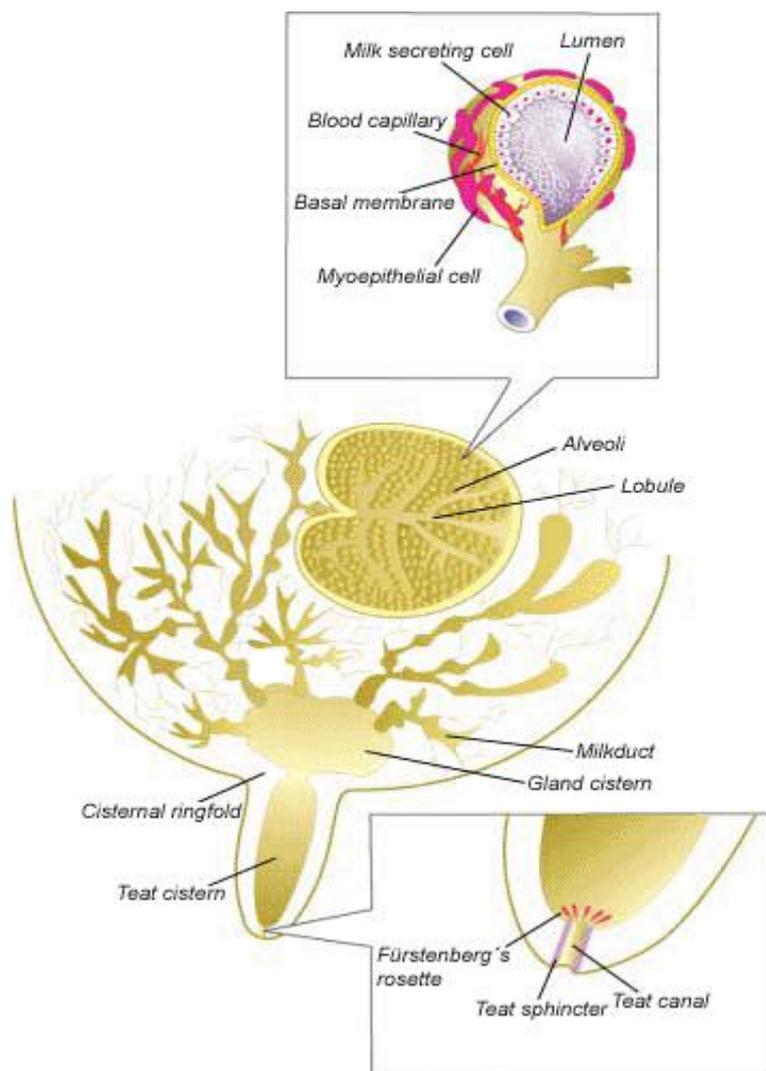


Figure 1.2 : Schéma de l'anatomie de la mamelle (ANONYME, 2005)  
(DeLaval)

## I-2/ Physiologie de la lactation :

Chez la vache, la lactation dure en moyenne 300 à 310 jours. Elle débute lors du vêlage et se termine au tarissement (période sèche) (Figure 1.3).

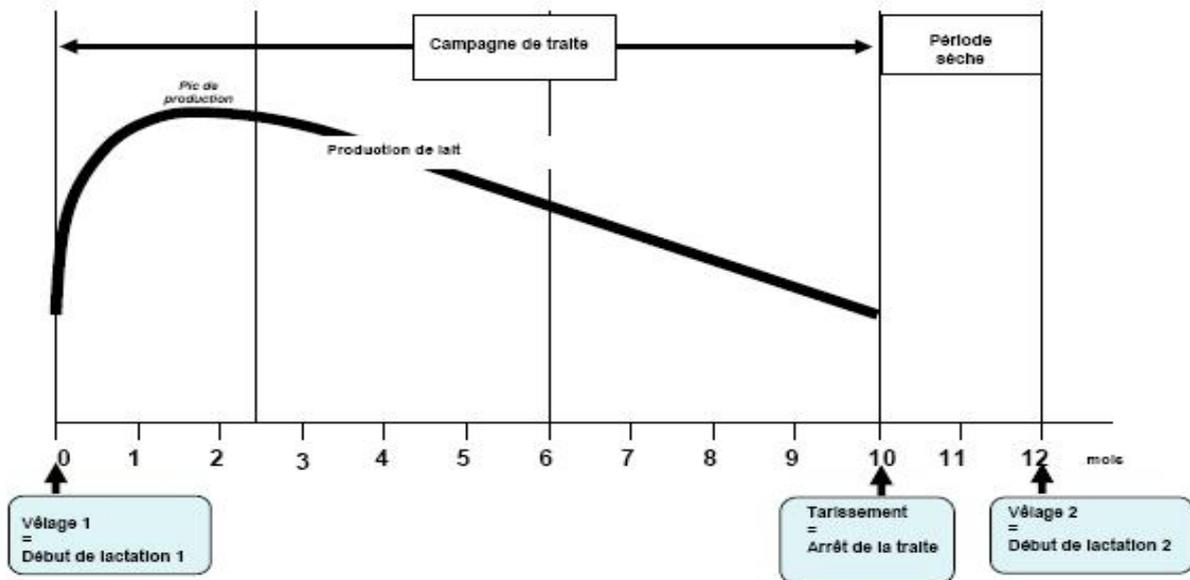


Figure 1.3 : Les différentes phases du cycle reproduction-lactation chez la vache laitière. (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

La structure morphologique et le fonctionnement de la glande mammaire sont étroitement tributaires du système hormonal. On peut dire que la glande mammaire traverse deux phases essentielles qui sont :

- La **phase de développement** : Il est établi que le développement canaliculaire relève essentiellement des oestrogènes tandis que celui des acini dépend de l'action associée des oestrogènes et de la progestérone (synergie hormonale), mais cette action oestrogéno-progestéronique n'est pas seule en cause car il a été démontré sur le plan expérimental la participation d'autres hormones comme la somatotropine, l'ACTH et la prolactine (DERIVAUX et ECTORS, 1980).

- **La phase d'activité sécrétoire** : comprenant elle-même la montée laiteuse

(lactogénèse) et l'entretien de la lactation où interviennent la galactopoèse et la vidange des acini (éjection du lait).

Elle commence à la mi-gestation et surtout au 3<sup>ème</sup> tiers de la gestation chez la vache et s'accroît au part. Elle est entretenue par un réflexe neuro-hormonal à l'occasion de la traite et des tétées (Figure 1.4) (DERIVAUX et ECTORS, 1980), (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

Toute stimulation tactile du trayon déclenche immédiatement un influx nerveux en direction du système nerveux central. Une fois stimulée, la post-hypophyse libère l'hormone « ocytocine », cette dernière transportée par voie sanguine, provoque la contraction des cellules myo-épithéliales des acini mammaires et l'éjection du lait alvéolaire dans les canaux galactophores (qui représente environ 60 à 70% du lait total) puis dans la citerne du pis (Figure 1.5)

Il faut souligner que la décharge d'ocytocine est maximale si la préparation de la mamelle est effectuée de manière correcte (massage vigoureux) et pendant un temps optimum (environ 30 secondes), et qu'elle n'est efficace que pendant quelques minutes (environ 4 minutes) car elle est très rapidement inactivée (demi-vie dans le sang de 4 minutes). D'où la nécessité de respecter un délai entre la préparation de la mamelle et le branchement de la machine sur les trayons (une minute ; c'est le temps de mise en place du réflexe).

Ce premier réflexe nerveux neuro-endocrinien est secondé par un réflexe nerveux autonome local qui a pour effet une dilatation des canaux galactophores et du sphincter des trayons.

La descente du lait peut également être déclenchée par des stimuli visuels, auditifs, Température (présence de corpuscules thermo-récepteurs) ou autres (heure de traite, entrée en salle de traite, vue du veau,...) (BOUDRY, 2005), (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

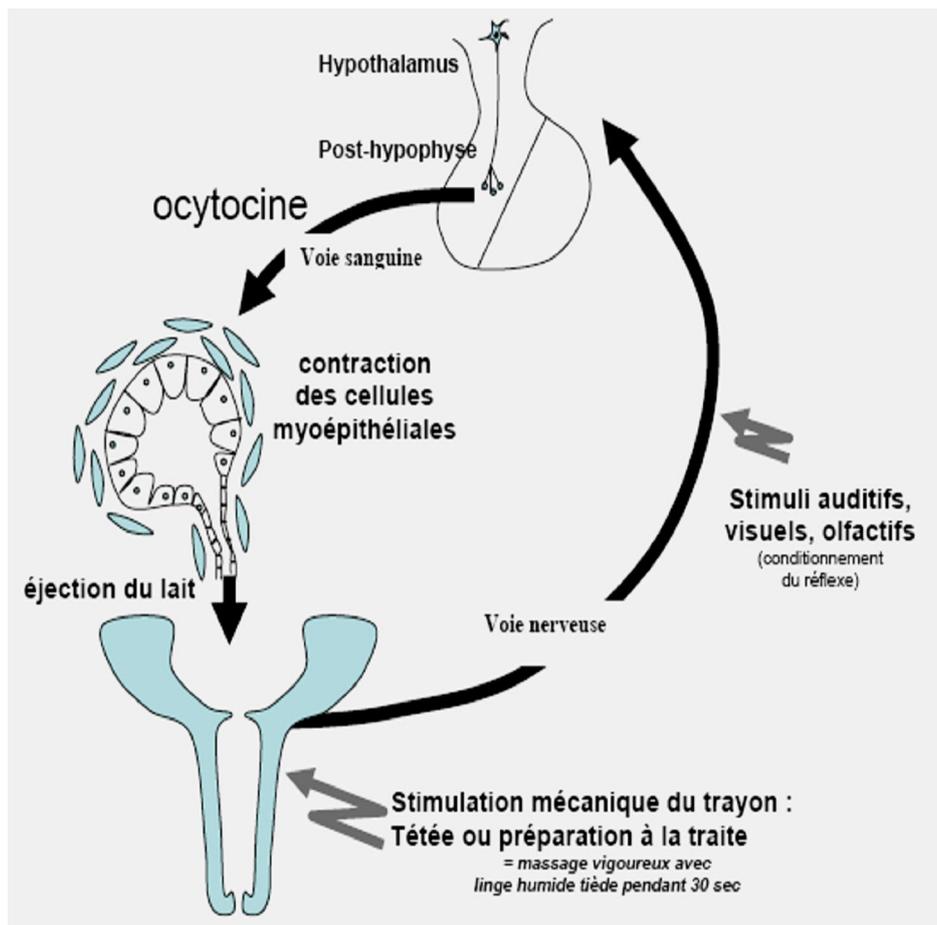


Figure 1.4 : Le réflexe d'éjection du lait et son conditionnement (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

Le maintien de la sécrétion lactée est dépendant de la vidange de la mamelle et de sa stimulation lors de la traite. L'excitation extérieure du mamelon par succion ou par la traite est transmise par voie nerveuse au niveau de la région hypothalamo-hypophysaire qui y répond par voie humorale en sécrétant la prolactine, l'ACTH et l'ocytocine qui sont déversées dans le milieu intérieur d'où elles agiront sur la glande mammaire (rappelées ci-dessus) (DERIVAUX et ECTORS, 1980)

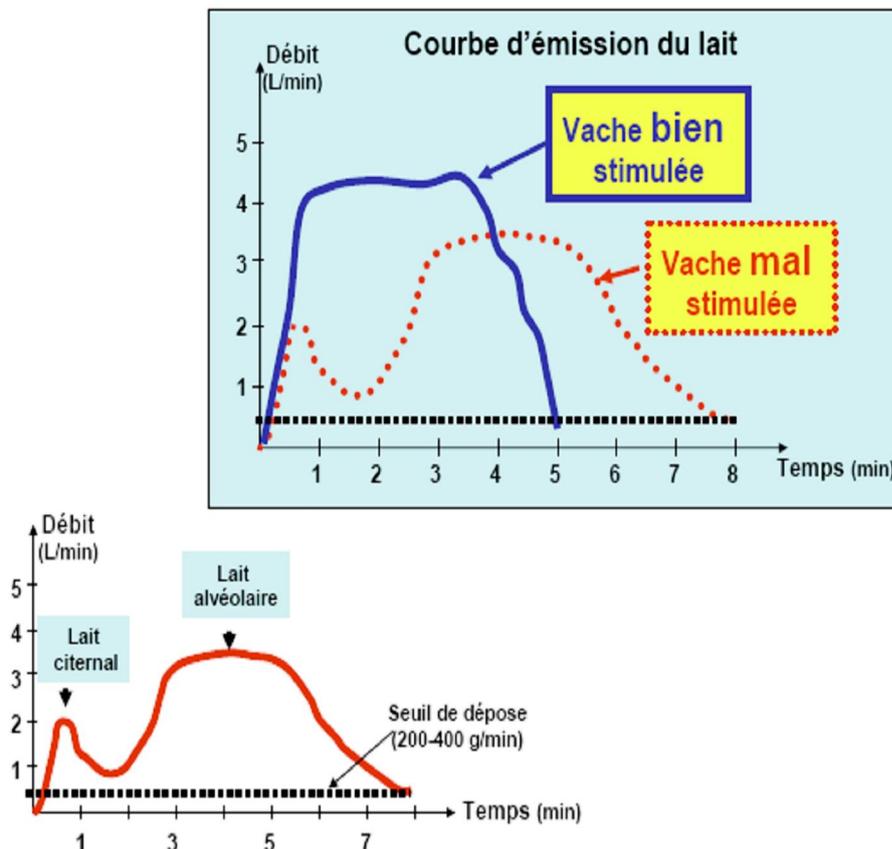


Figure 1.5 : Importance de la stimulation mammaire (avant traite) sur la collecte du lait (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

La fin de la lactation correspond au tarissement (période sèche), se produit par diminution des réflexes de stimulation, donc par chute des influences hormonales. Cette phase est nécessaire à l’involution de l’ancien tissu sécrétoire et au développement de nouveaux acini pour préparer la nouvelle lactation, elle permet aussi à l’organisme d’assurer la fin de la gestation, sa durée conditionne le potentiel de production de la lactation suivante (SERIEYS, 1997), (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

### I-3/ Le lait :

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles après la naissance du jeune.

Il s'agit d'un fluide aqueux blanc opaque, d'une saveur douceâtre et d'un pH (6.6 à 6.8) légèrement acide, proche de la neutralité (ALAIS, 1984).

Le lait, proche du plasma sanguin, est un sérum comportant une émulsion de matière grasse, une suspension de matière protéique caséuse, du lactose, des sels minéraux, des protéines solubles et des traces d'éléments divers.

Les principaux constituants du lait sont donc par ordre décroissant:

- de l'eau très majoritairement ;
- des glucides principalement représentés par le lactose ;
- des lipides essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras ;
- des protéines : caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles ;
- des sels minéraux à l'état ionique et moléculaire ;
- des éléments à l'état de traces mais au rôle biologique important : enzymes, vitamines (hydrosolubles et liposolubles), hormones (corticoïdes, prostaglandines, oestrogènes et la prolactine...) et oligo-éléments (SANGUANSERMS et al, 1974)

Le lait a été défini en 1908 au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant :

« Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum. »

Sa synthèse se produit dans l'alvéole (Figure 1.6), là où les cellules sécrétrices sont alimentées continuellement d'éléments précurseurs du lait, présents dans le sang (eau, acides aminés, glucose et sels minéraux) (Figure 1.7). Les alvéoles sont capables de synthétiser l'équivalent de leur poids de protéines par jour (caséine et protéines du lactosérum). Si le lait de vache était auparavant valorisé pour sa matière grasse, aujourd'hui, il est plutôt recherché pour ses protéines naturelles, dont on extrait des séquences peptidiques très intéressantes soit pour l'industrie agro-alimentaire, soit pour l'industrie pharmaceutique (ROSSION et MOINET, 1986) (ANONYME, 2005).

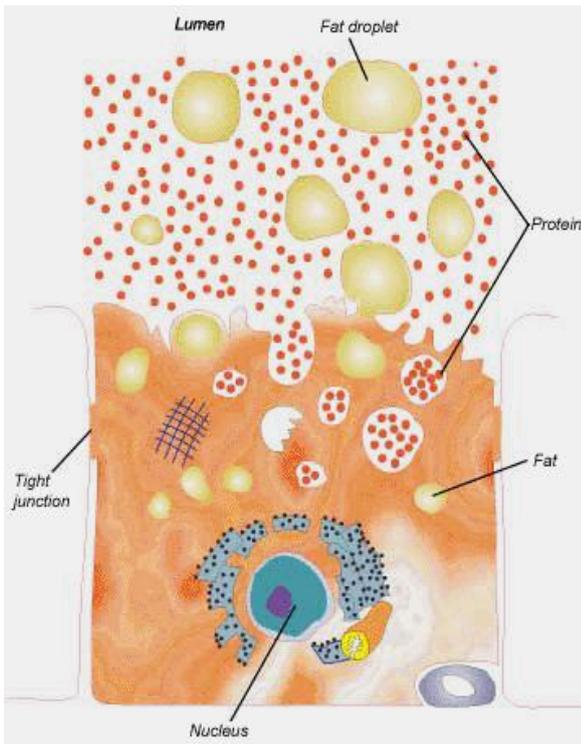


Figure 1.6 : Schéma de la structure d'une alvéole (ANONYME, 2005)

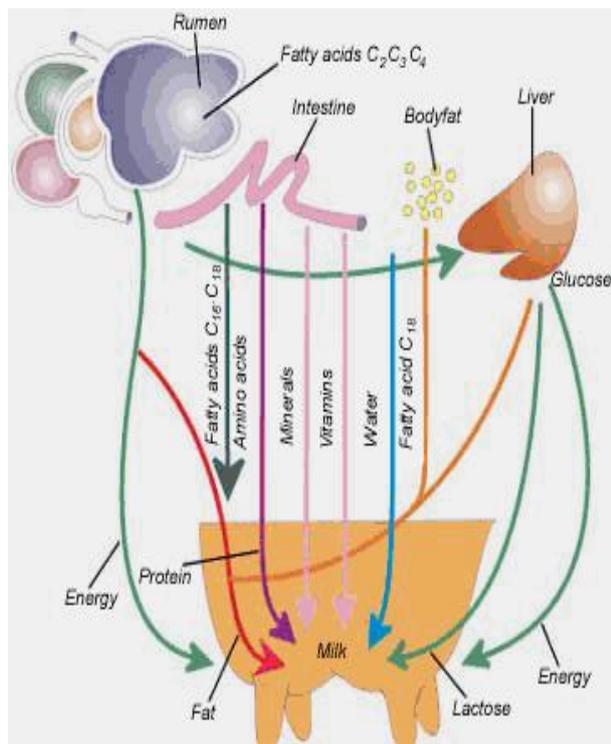


Figure 1.7 : Précurseurs du lait, transportés là où la synthèse du lait, des protéines et du lactose prend place dans la mamelle (ANONYME, 2005)

Les constituants du lait se répartissent dans trois compartiments de base, à savoir :

- \* Phase aqueuse : contient l'eau (87 % du lait) et les produits solubles pouvant donner naissance au lactosérum (lactose, sels protéines solubles, composés azotés non protéiques, vitamines hydrosolubles et enzymes).
- \* Suspension colloïdale micellaire (2.6 %) de caséine et de sels (phosphate de calcium).
- \* Emulsion (4.2 %) de matière grasse (triglycérides, phospholipides membranaires et cholestérol) et de composés liposolubles (vitamines liposolubles).

Mais cela ne révèle pas la finesse et la complexité de la composition du lait. On doit aussi y ajouter :

- \* Une suspension microbienne : Représentée par les bactéries lactiques, qui sont intéressantes pour la transformation fromagère (CAUTY et PERREAU, 2003) et d'autres microorganismes. Mais selon POUTREL (1981) (cité par RAMISSE et al, 1982), les quartiers sains n'hébergent aucune bactérie. Une flore totale élevée dans les laits sains signifierait donc soit un défaut d'hygiène de traite, soit une contamination au moment du prélèvement (ou mauvaise

conservation) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007), soit une infection latente (RAMISSE et al, 1982).

\* Une suspension cellulaire (cellules somatiques) : Représentée par les cellules épithéliales provenant de la desquamation de l'épithélium des canaux galactophores et des acini, et les leucocytes (les polymorphonucléaires, les monocytes, essentiellement les macrophages et les lymphocytes).

Un lait issu d'une traite totale d'un quartier non infecté contient moins de 50 000 cellules / ml (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

## II-1/ Définition :

La mammite est une inflammation d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle. L'origine peut être traumatique, chimique, physique ou biologique (LEBRET et al, 1990) (HANZEN, 2008). Le degré de gravité clinique ou subclinique, l'évolution aiguë ou suraiguë, chronique ou la terminaison (guérison apparente « clinique » ou réelle « bactériologique » ou la mort de l'animal) (DESCÔTEAUX, 2004) (HANZEN, 2008). Les infections de la mamelle de la vache laitière constituent la dominante pathologique des inflammations de cet organe. Elles entraînent des modifications physiques, chimiques, cytologiques et bactériologiques de la glande mammaire et du lait (BADINAND, 2001).

La mammite clinique est visible et dans 80 % des cas, elle est due à des pathogènes majeurs comme le staphylocoque doré, le streptocoque uberis ou encore *Escherichia coli*. On constate des modifications visibles du lait, de couleur et de composition (grumeaux). On a souvent également des symptômes locaux d'inflammation (gonflement, douleur, chaleur et couleur) et des symptômes plus généraux (abattement, anorexie, température, perte d'appétit et chute de la production laitière). Établir le diagnostic du type de bactérie en cause est souvent difficile en dehors de l'analyse.

La mammite subclinique est pratiquement « invisible » « asymptotique », l'état général de la vache est parfaitement normal, la mamelle est saine et le lait ne présente pas de modifications macroscopiquement visibles. Par contre, un examen cytologique (augmentation du nombre des polynucléaires), l'examen bactériologique (présence de germes) et des analyses biochimiques diverses mettent en évidence des modifications très importantes de ce lait.

Ce type de mammite résulte de l'évolution de foyers infectieux au sein du parenchyme, créés par des germes dont l'organisme n'arrive pas à se débarrasser. Elle peut évoluer sur plusieurs lactations et aboutir à une fibrose plus ou moins importante des quartiers atteints (un passage de stade clinique chronique) (HANZEN, 2008) (LEBRET et al, 1990) (WATTIAUX, 1996) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

## II-2/ Importance des mammites :

### II-2-1/ Importance économique :

Les mammites constituent une pathologie majeure de l'élevage laitier (selon une enquête dans la Bretagne-Pays de Loire, 1985, elles viennent en 3<sup>ème</sup> position après la rétention placentaire et les métrites) ; par leur fréquence et les pertes qu'elles entraînent (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

#### II-2-1-1/ Pour le producteur :

\* La diminution de la production laitière représente de loin le principal poste de perte (SERIEYS, 1995). La production lactée totale d'une vache atteinte de mammite peut chuter selon les cas, de 6 à 85 % et les pertes sont d'autant plus sensibles que l'affection survient généralement au moment où la mamelle a atteint la plénitude de son fonctionnement. Pour l'éleveur, il est difficile d'apprécier les pertes financières provoquées par ces affections, surtout dans leurs formes subcliniques

\* Les frais pour traiter les mammites cliniques représentent 10 à 12 % du préjudice ; Ils incluent le coût des produits de traitement ainsi que les honoraires du vétérinaire (SERIEYS, 1995).

\* Les mammites entraînent également des pertes (8-13%) dues aux réformes des vaches incurables et à la mortalité (SERIEYS, 1995) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007) (HANZEN, 2008).

\* Perte du potentiel génétique et les pertes indirectes liées aux prélèvements et le travail supplémentaire requis par l'ordre de traite, le traitement, l'identification des animaux et la notation des informations (HANZEN, 2008).

#### II-2-1-2/ Pour le transformateur :

Les mammites altèrent la composition du lait produit et son aptitude à la transformation ; elles entraînent :

\* Diminution de la qualité technologique du lait par diminution de sa teneur en matière utile : protéines insolubles (Caséines) et matières grasses. Ce qui entraîne des baisses de rendement de fabrication fromagère et des retards à la coagulation. Le passage de protéines sanguines dans le lait lors de mammite (Immunoglobulines, sérum albumine, plasmine...) réduit la stabilité du lait lors des traitements thermiques. L'augmentation de la protéolyse par la

plasmine sanguine réduit la stabilité lors du stockage du lait U.H.T (SERIEYS, 1997) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

\* Perturbation des fermentations bactériennes par la présence de résidus d'antibiotiques ou d'antiseptiques (inhibiteurs de la croissance bactérienne) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

### II-2-2/ Importance hygiénique et sanitaire :

En plus des conséquences sur la quantité et la qualité de la production laitière, les mammites présentent des risques potentiels sur la santé du consommateur. On peut en citer :

\* Risques d'allergie aux antibiotiques (Pénicilline) lors de la présence de résidus dans le lait (le non respect du délai d'attente).

\* Risque de transmission de maladies infectieuses (Listériose, fièvre Q, tuberculose, brucellose et les streptococcies) (TOLLEFSON et al, 1998) (TAYLOR, 1999).

Le danger pour le consommateur est d'autant plus important que lors de consommation de lait cru (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

### II-3/ Etiologie :

Plusieurs facteurs favorisent l'apparition des mammites. Ils peuvent être divisés en facteurs déterminants représentés par les germes microbiens et facteurs prédisposant liés à l'environnement et aux conditions d'élevage.

#### II-3-1/ Facteurs déterminants : Germes

La majorité des mammites sont dues à une seule espèce bactérienne (infection mono microbienne). On trouve rarement 2 bactéries dans un lait de mammite correctement prélevé et acheminé (POUTREL, 1985).

Toutes les espèces bactériennes sont à priori capables d'induire des mammites. Cependant, un petit nombre d'espèces prédominent (RIOLLET et al, 1999). Certaines espèces bactériennes ne provoquent presque jamais de mammites cliniques et sont considérés comme des pathogènes mineurs. A l'opposé, des bactéries souvent responsables de mammites cliniques sont considérées comme des pathogènes majeurs (POUTREL, 1985) (SANDHOLM et LOUTTI, 1991).

Les germes responsables de mammites peuvent être séparés en 2 catégories ; selon leurs sites privilégiés (réservoirs):

- Germes qui vivent sur la vache : C'est la mamelle infectée et les lésions des trayons qui sont les réservoirs de germes à Gram + comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* et *Streptococcus dysgalactiae* (LEBRET et al, 1990). Ils se transmettent d'un animal à un autre (ou de quartier à quartier) à l'occasion de la traite (gobelets trayeurs, lavettes...). Il a été établi qu'il existait une corrélation entre la présence de gerçures des trayons et les infections mammaires dues à ces germes (POUTREL, 1985). Ce réservoir primaire est redoutable car la forme subclinique de ces infections transforme les animaux atteints en porteurs asymptomatiques (HANZEN, 1999).
- Germes qui vivent dans l'environnement : La litière de la vache surtout qui est le réservoir pour les Gram- comme les coliformes et certains Streptocoques (*Streptococcus uberis* et *Streptococcus faecalis*), leur présence reflète une contamination du sol et l'eau par le fumier (Figure 2.1). Les formes subcliniques sont habituellement plus rares que les précédentes à l'exception de *Streptococcus uberis*, qui semble faire exception et paraît être un germe particulièrement répandu dans l'élevage, puisqu'on le retrouve en de nombreux sites, notamment dans les mamelles où il peut provoquer des infections subcliniques, voire chroniques, et donc entraîne un portage inapparent (Tableau 2.1) (POUTREL, 1985) (LEBRET et al, 1990)

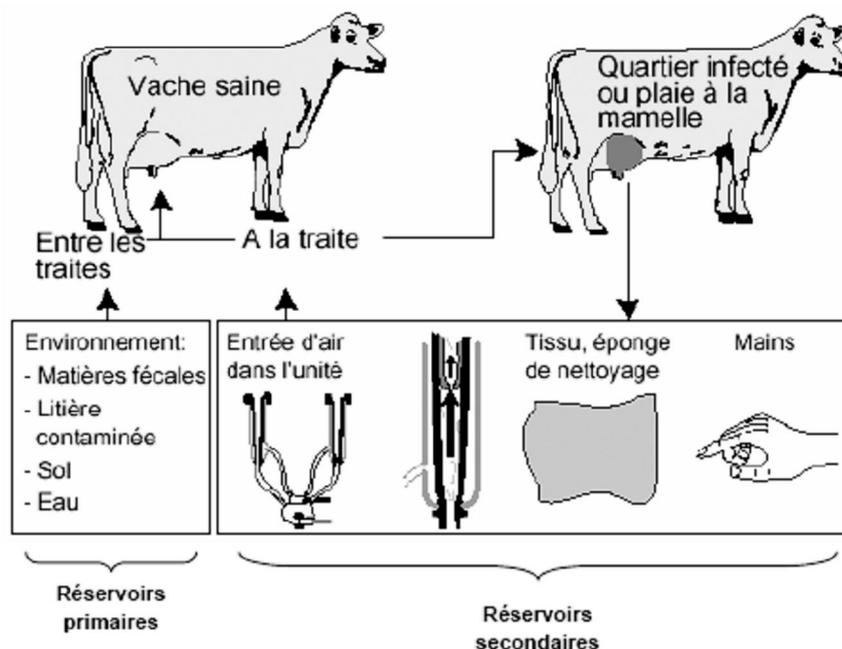


Figure 2.1 : Les voies de contamination (WATTIAUX, 2004)

Tableau 2.1 : Réservoirs de germes dans le troupeau (LEBRET et al, 1990)

Réservoirs	Mamelle infectée	Lésions des trayons	Litière
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	+++	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	+++	+++	-
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	+++	+++	-
<i>Streptococcus uberis</i>	++	+	+++
Streptocoques fécaux	+	+	+++
Entérobactéries	+	+	+++

Les germes le plus souvent isolés lors de mammites subcliniques sont représentés par les Staphylocoques et les Streptocoques :

\* *Staphylococcus aureus* : Bactérie Gram positif appartenant à la famille des MICROCOCCACEAE.

Staphylocoque à coagulase positive CPS ; est le germe pathogène le plus souvent responsable de mammites cliniques (26%) et subcliniques (30-80%) chez la vache. Il vit à l'extérieur du pis, à la surface des mamelles, la contamination se fait généralement au moment de la traite (mains du trayeur, résidus de lait contaminé, gobelets trayeurs, matériel de nettoyage commun à plusieurs vache,...) (SALAT, 2008)

*Staphylococcus aureus* produit des toxines et des enzymes qui expliquent sa progression et sa pathogénicité : toxine  $\alpha$ , coagulase, fibrinolytines, hyaluronodases, leucocidines (toxine qui attaque la membrane leucocytaire), hémolysines.

L'apparition occasionnelle de mammites suraiguës (mammite gangréneuse) s'explique par l'action de la toxine  $\alpha$  qui induit une nécrose cutanée due à une vasoconstriction prolongée.

En plus de sa capacité de pénétrer et de survivre dans les cellules épithéliales et de provoquer la formation de microabcès (poches d'infections) qui sont inaccessibles aux antibiotiques. Périodiquement, ces poches peuvent s'ouvrir et libérer les germes qui se répandent dans d'autres parties du pis (WATTIAUX, 1996) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

\* *Streptococcus agalactiae* : Bactérie Gram positif, appartenant à la famille des STREPTOCOCCACEAE. Elle est le plus souvent responsable des mammites subcliniques, mais provoque rarement des mammites aiguës. Elle vit uniquement dans le pis des vaches et ne survit que quelques minutes à l'air libre. La propagation se fait le plus souvent pendant la traite, par l'intermédiaire d'une contamination de la machine à traire, les mains du trayeur...

*Streptococcus agalactiae* peut être éradiqué d'un élevage grâce à un traitement approprié des vaches atteintes et une bonne hygiène de traite (WATTIAUX, 1996).

\* *Streptococcus uberis* : Bactérie Gram positif, responsable de mammites cliniques mais le plus souvent de mammites subcliniques qui se déclarent surtout au vêlage et pendant le tarissement. Les mesures de contrôle sanitaire basées sur la désinfection des trayons après chaque traite et l'antibiothérapie systématique au tarissement, ont une efficacité limitée en ce qui concerne les infections dues à *Streptococcus uberis* car la bactérie est largement présente dans l'environnement (sol et eau contaminée par les matières fécales) et dans les matériaux organiques utilisés comme litière (la paille et sciure de bois). La transmission se fait généralement de l'environnement aux mamelles entre deux traites, mais le transfert peut aussi se produire à la traite. Le nombre d'infections provoquées par cette bactérie tend à augmenter lorsque les conditions d'hygiène, de l'ambiance du logement et climatiques sont mauvaises (LERONDELLE, 1985) (WATTIAUX, 1996) (SERIEYS, 2003)

\* *Streptococcus dysgalactiae* : Bactérie Gram positif, présente dans l'environnement et sur la peau des vaches (mamelles et abdomen) et dans le système reproducteur. La transmission se fait comme pour *Streptococcus uberis* de l'environnement aux mamelles entre les traites mais aussi lors de traite. Elle est responsable de nombreuses mammites qui se produisent en début et en fin de la période de tarissement. Cette bactérie est difficile à éradiquer d'un élevage parce qu'elle fait partie de l'environnement normal des vaches (WATTIAUX, 1996).

\* Les coliformes : Les bactéries coliformes (principalement *Escherichia coli* et *Klebsiella*) sont de coloration Gram négatif et appartenant à la famille des ENTEROBACTEREACEAE. Elles se trouvent dans le sol et dans l'intestin des animaux. Elles se multiplient dans le fumier et sur les litières contaminées par des matières fécales. Elles provoquent des mammites seulement si une particule contaminée vient en contact avec une mamelle dont le trayon est ouvert. La pénétration de ces bactéries s'effectue donc au moment de la traite, dans l'intervalle entre les traites ou pendant la période sèche. Contrairement aux bactéries décrites précédemment, les coliformes ne peuvent pas s'attacher au tissu mammaire ou très peu (RAINARD, 1985), mais se multiplient dans le lait rapidement et y libèrent des toxines qui sont absorbées dans le courant sanguin. Ils peuvent donc provoquer des mammites cliniques aiguës. La température de la vache peut monter au delà de 40°C et le quartier infecté devient gonflé et sensible au toucher. Les mécanismes de défense de la vache peuvent éliminer les

bactéries du pis, mais les toxines restent dans le courant sanguin et la vache peut en mourir. Les vaches qui ne sont pas infectées par d'autres microorganismes (*Streptocoqueagalactiae* et *Staphylocoque aureus*) semblent plus susceptibles aux coliformes que celles qui le sont (WATTIAUX, 1996).

Les bactéries coliformes en général mais *Escherichia coli* en particulier sont essentiellement responsables de mammites cliniques au début et en fin de période sèche (le risque est 3 à 4 fois plus élevé en période sèche qu'en période de lactation) mais surtout au moment du vêlage (infections contractées pendant la période sèche) (HANZEN, 1999)

La mammite à *Klebsiella* est rare chez les bovins. Le plus souvent il s'agit de *Klebsiella pneumoniae*. Le mode de transmission n'est pas bien définie mais il est probable que la transmission s'opère par le moyen des équipements de traite contaminés (BLOOD et HENDERSON, 1976).

On peut distinguer une période privilégiée d'infection où la majorité des germes peuvent être contractés lors de la traite via le réservoir mammaire, donc peuvent infecter la vache lors de la lactation. Alors que théoriquement les germes à réservoir environnemental peuvent être contractés lors de la période sèche (période où la vache n'est plus traite) (Tableau 2.2)

Tableau 2.2 : Caractéristiques pathologiques et épidémiologiques des principales espèces bactériennes (POUTREL, 1985)

Microorganismes	Période d'infection		Expression de l'infection	
	Lactation	Période sèche	Sub-clinique	Clinique
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	+	+++	+
<i>Streptococcusagalactiae</i>	+++	+	+++	+++
<i>Streptococcusdysgalactiae</i>	++	++	+++	+
<i>Streptococcusuberis</i>	++	+++	++	+++
<i>Streptococcusfaecalis</i>	++	+	+	+++
<i>Escherichiacoli</i>	++	+++	+	+++
<i>Pseudomonas</i>	++	+	+++	+
<i>Arcanobacteriumpyogenes</i>	+	+++	+	+++
<i>Mycoplasmes</i>	+++	+	+	+++

On peut remarquer que les germes d'environnement sont plutôt responsables de mammites cliniques alors que les germes à réservoir mammaire sont à l'origine de mammites sub-cliniques.

### II-3-2/ Facteurs prédisposants :

La mammite est une maladie multifactorielle. Les facteurs associés à son développement sont habituellement classés en 3 groupes : Agents pathogènes (développés ci dessus), animal et environnemental (BOUCHARD, 2003).

#### II-3-2-1/ Liés à l'animal :

##### II-3-2-1-1/ Conformation et génétique :

Le risque d'infections mammaires augmente avec la conformation de la mamelle (Très développée « pendulaire ») et des trayons (allongés et de forme cylindrique). La distance entre ces derniers et le sol est un paramètre très important. Plus cette distance est grande, plus le risque de contamination et de traumatisme est important. De même, le diamètre du canal du trayon, l'asymétrie des quartiers induit la surtraite des quartiers les moins volumineux (risque d'infection élevé) (ROSENBERG, 1979) (ALEXANDRE, 2005) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

La sélection de vaches qui produisent de plus en plus de grandes quantités de lait a certainement joué un rôle dans l'évolution des infections mammaires, qui sont devenues la pathologie dominante des élevages laitiers. Toutefois, les taureaux sont de plus en plus sélectionnés en fonction des comptages des cellules somatiques (CCS) et les mammites de leurs filles.

L'héritabilité pour la mammite est d'environ 15%. Ceci signifie qu'environ 85% de la variabilité est expliquée par d'autres facteurs associés à la régée et l'environnement (MARIANI, 2004) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

#### II-3-2-1-2/ Âge et nombre de lactation :

Le risque des infections mammaires augmente avec l'âge des vaches et le nombre de lactation (jusqu'à la 5<sup>ème</sup> lactation). Cet accroissement de sensibilité serait dû à l'évolution de la morphologie de la mamelle (augmentation du diamètre du canal du trayon, perte d'élasticité du sphincter et au relâchement des ligaments suspenseurs de la mamelle), l'augmentation de la production laitière et les traumatismes cumulés des trayons (ALEXANDRE, 2005) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

#### II-3-2-1-3/ Stade de lactation :

Il existe deux périodes critiques pour l'apparition de nouvelles infections mammaires : le péri-partum et le début de la période sèche (ALEXANDRE, 2005).

Au début du tarissement, l'accumulation des fluides (arrêt de l'effet « chasse-lait ») entraîne une augmentation de la pression dans le pis pouvant entraîner une diminution des défenses du trayon (augmentation du diamètre et diminution de la longueur du canal), ce qui favorise l'entrée des bactéries (qui ne sont plus éliminées par la traite) (BOUCHARD, 2003) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

En début de lactation, le stress physiologique durant cette période diminue la résistance de la vache aux infections.

Mis à part le début de lactation, le risque de mammites subcliniques augmente avec la progression de la lactation ; ceci est dû à l'effet de la machine à traire et à l'exposition répétée aux bactéries (MARIANI, 2004) (BAREILLE et al, 2004).

#### II-3-2-1- 4/ Niveau de production laitière :

La fréquence des infections mammaires augmente avec le niveau de productions des animaux : Selon les études de HANZEN (1999), une augmentation annuelle de la production laitière de 54 Kg s'accompagnait d'une augmentation de l'incidence des mammites cliniques et cela malgré les mesures d'hygiène et la mise en place de plans de lutte (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

#### II-3-2-1-5/ Alimentation :

Une nutrition déficiente est un facteur prédisposant à la mammite. Une balance énergétique fortement négative peut avoir un effet immunodépresseur. De plus, le risque de mammite peut être influencé par la carence en certains nutriments (Vitamine E et Sélénium « protection contre l'oxydation par effet positif sur la phagocytose »), (Vitamine A « importante pour l'intégrité des épithéliums ») (BOUCHARD, 2003).

#### II-3-2-2/ Liés aux conditions d'élevage :

##### II-3-2-2-1/ Habitat :

Outre le type de logement (aire paillée ou logette), l'ambiance et la propreté sont des paramètres importants du risque d'infections mammaires.

Certaines conditions peuvent favoriser les traumatismes du trayons : la densité élevée augmente d'une part le risque de piétinement et d'autre part la vitesse de contamination de la litière, et l'insuffisance de paillage (BROUILLET et RAGUET, 1990) (NICKS, 1998).

##### II-3-2-2-2/ La traite et l'équipement utilisé :

La machine à traire peut augmenter la fréquence de nouvelles infections mammaires soit par un rôle de vecteur de germes pathogènes depuis les quartiers infectés vers les quartiers sains, soit par contamination active du trayon, soit par son rôle traumatisant sur le canal du trayon, ; amoindrissant alors son effet barrière.

La contamination de la mamelle se fait presque exclusivement par le canal de trayon. Le passage des germes à travers ce dernier est donc possible de deux manières :

- \* Voie de contagion : Les germes parviennent à contaminer l'extrémité du trayon, à adhérer à sa peau ou à être coller par la couche de kératine du canal. Si cette barrière protectrice est affaiblie ou que l'expulsion naturelle de la kératine contaminée n'est pas suffisante, il est possible aux germes pathogènes de coloniser ce canal par voie de multiplication ; une fois cette barrière franchie ils parviennent à gagner le sinus du trayon, la citerne du pis puis les canaux galactophores et les acini. Les moyens de défenses de la mamelle se mettront en place, avec un afflux de leucocytes sanguins, ce qui provoquera une augmentation des taux cellulaires individuels de la vache.

Cette voie de contagion est normalement limitée par les mesures d'hygiène du pis et de la traite. Le rôle vecteur étant commun à toutes les installations de traite, le rôle du vacher-trayeur et de l'éleveur est de limiter les risques de contamination de l'extrémité du pis par des germes pathogènes et ainsi l'apparition de nouvelles infections mammaires.

- \* Voie iatrogène : Les germes pathogènes sont injectés activement par une force physique ; par exemples dans les cas d'injection d'antibiotique par voie intramammaire réalisée dans des conditions d'hygiène inadéquates, dans les cas de traite humide (retour du lait) et le phénomène d'impact (entrée soudaine d'air atmosphérique).

Dans certains cas, on peut trouver des taux cellulaires élevés sur des mamelles ne contenant pas de germes. On peut alors penser que ces cellules inflammatoires apparaissent non pas pour lutter contre une infection mais pour contribuer à un phénomène inflammatoire qui pourrait être d'ordre strictement mécanique. La machine à traire peut être responsable de ce type de réaction par l'ensemble des forces appliquées sur le trayon durant la traite. Ce rôle traumatisant de la traite mécanique sur les trayons est mieux connu sous le terme de « stress de traite ».

Des altérations des tissus des trayons, plus particulièrement de la peau, de l'orifice externe et du canal du trayon, augmentent le risque des nouvelles infections mammaires et de mammites subcliniques. Des méthodes simples de quantification des effets à court et moyen terme de la traite sur les trayons sont facilement identifiables par simple inspection des trayons après le retrait de la griffe (juste après la dépose des faisceaux trayeurs).

Les erreurs techniques de traite et de fonctionnement de la machine sont la cause primaire des changements à court, moyen et long terme de l'intégrité des trayons :

- Changement de couleur
- Anneau de compression
- Œdème de l'extrémité du trayon
- Ouverture de l'orifice externe du trayon
- Etat de la peau des trayons (érosions, abrasions, crevasses, gerçures, gelures et blessures)
- Lésions vasculaires (érythèmes et pétéchies)

- L'hyperkératose de l'extrémité des trayons  
(CRAPLET et THIBIER, 1973) (BOUDRY, 2005) (SERIEYS et BROUILLET, 2007)  
(SERIEYS et al, 2007).

## II-4/ Pathogénie :

### II-4-1/ Les moyens de défense de la mamelle :

La mamelle bovine est protégée par différents mécanismes de défense ; on peut les classer comme suit :

#### II-4-1-1/ Défense passive (le canal du trayon) :

Le canal du trayon constitue la première protection et sans doute la plus efficace (POUTREL, 1985). Il constitue une réelle barrière anatomique : son diamètre est plus important en partie proximale (0.8 mm) qu'en partie distale (0.42 mm) d'où une opposition mécanique à la pénétration des germes, le pseudo-sphincter (fibres musculaires lisses et fibres élastiques) assure l'occlusion hermétique du canal, cette fermeture est renforcée par un enduit de kératine (épaisseur 0.09-0.4 mm).

La rosette des plis papillaires (Rosette de Fürstenberg) située en région supérieure du canal, elle est constituée de replis de muqueuses ; qui ont un rôle protecteur important contre les germes pathogènes qui ont été introduits dans le canal du trayon (Figure 2.2) . De plus, physiologiquement, l'enduit de kératine doué de propriétés antibactériennes absorbe les germes et associé à la desquamation cellulaire et épithéliale, il empêche l'adhésion des germes qui sont alors évacués lors de la traite grâce à l'effet « chasse-lait » (CRAVEN et WILLIAMS, 1985) (LEBRET et al, 1990) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

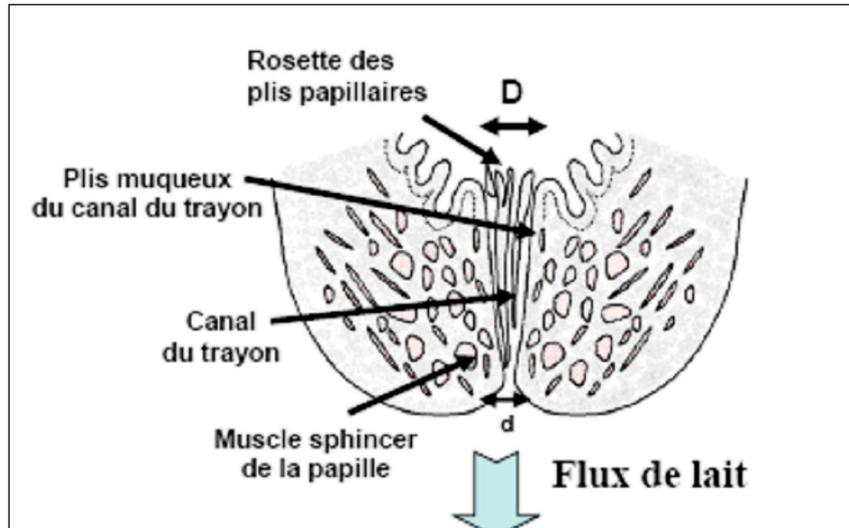


Figure2.2 : Coupe longitudinale du canal du trayon chez la vache (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

#### II-4-1-2/ Défense active (les cellules du lait, substances anti-microbiennes) :

Une fois les germes pathogènes ont réussi à franchir la première barrière (canal du trayon), ils sont confrontés à des mécanismes de défense plus actifs en première position se trouvent les cellules du lait.

Ces cellules sont constituées de macrophages, de lymphocytes, de polynucléaires et de cellules épithéliales. En absence d'infection, les macrophages constituent la population la plus importante des cellules du lait et les PNN (Poly Nucléaires Neutrophiles) sont minoritaires. En cas d'infection, la numération cellulaire est inversée : ce sont les PNN qui prédominent (LE PAGE, 1999) (Tableau 2.3).

\* **Les macrophages** : Leur aptitude à englober des débris cellulaires et des globules de gras diminue leur capacité à phagocyter des germes pathogènes. Ils peuvent phagocyter des bactéries mais leur aptitude à les lyser est plus faible que celle des polynucléaires neutrophiles du sang. Leur principal rôle serait l'élimination des débris cellulaires présents dans le lait et l'initiation de la réponse immunitaire spécifique en assurant la 1<sup>ère</sup> prise en charge des antigènes et leur présentation aux lymphocytes.

\* **Les lymphocytes** : Il existe dans le lait deux types de lymphocytes ; T (réaction immunitaire à médiation cellulaire) et B (production d'anticorps). Le contact des lymphocytes

avec l'antigène spécifique induit une libération des « lymphokines » responsables de l'afflux des polynucléaires dans le lait.

\* **Les polynucléaires neutrophiles** : ils affluent dans le lait lors de réaction inflammatoire. En provenance des capillaires sanguins dilatés par l'inflammation (diapédèse). Leur nombre dans le lait est fonction de la sévérité de l'infection et de l'intensité de la réaction inflammatoire qu'elle déclenche.

\* **Les cellules épithéliales** : retrouvées le plus souvent en amas et proviennent de la desquamation de l'épithélium des canaux galactophores et des acini. Leur présence reflète l'abrasion de l'épithélium mammaire dû à la traite mécanique.

Tableau 2.3 : Cellules somatiques, leur origine, rôle et proportions physiologiques  
(LE PAGE, 1999)

CELLULES SOMATIQUES	ORIGINE	ROLE	POURCENTAGE
Cellules épithéliales	Erosion du tissu glandulaire	Aucun	0-7
Polynucléaires neutrophiles (PNN)	Sang	+++ Phagocytose des bactéries	0-11
Lymphocytes		Mobilisation des PNN Phagocytose des débris cellulaires	10-27
Macrophages		Favorise le contact des bactéries avec les lymphocytes	66-88
Eosinophiles	Sang		rare
Diverses (cellules kératinisées, hématies)			rare

Le nombre total de cellules somatiques du lait est étroitement lié au nombre de PNN, selon l'équation de Waite :

$$\text{Nombre de PNN} = (0.79 \times \text{nombre total de cellules}) \div 74\,000$$

Ainsi la numération de l'ensemble des cellules somatiques du lait constitue une bonne estimation du nombre de PNN. Elle permet donc de caractériser l'état inflammatoire du quartier.

Le lait peut constituer un bon milieu de culture pour beaucoup de germes. Cependant, au sortir de la mamelle, et débarrassé de ses cellules, le lait possède des propriétés antibactériennes non spécifique vis-à-vis de nombreux germes ; on retrouve : le lysozyme, le système lactoperoxydase-thiocyanate-peroxyde d'hydrogène, les anticorps, le complément et la lactoferrine (ces deux derniers ont une activité plus importante que les autres) (LEBRET et al, 1990) (LE PAGE, 1999)

\* **Le complément** : Il participe à la phagocytose (attraction des PNN), agit par bactériolyse directe par le C9 (sur les germes Gram-). Son activation se fait par voie directe (complexes immuns) ou par voie alterne (endotoxine des Gram-). Le système anticorps-complément semble peu efficace dans le lait. Le complément ne joue pas un rôle important dans la défense contre les mammites sauf pendant la période sèche et la période colostrale (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

\* **La lactoferrine** : Elle fixe le fer ferrique en présence d'ions bicarbonates. Ce qui ralentit la croissance des bactéries dont les besoins en fer sont importants (*E.coli* surtout et *Staphylococcus aureus*). Son action n'est efficace que dans les sécrétions de la glande tarie (LEBRET et al, 1990) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

#### II-4-2/ Le déroulement du processus infectieux :

##### II-4-2-1/ Pénétration des germes dans la mamelle :

Mis à part le cas des mammites d'origine hématogène (mammite brucellique ou tuberculeuse), les germes pathogènes pénètrent dans la glande par le canal du trayon.

Le canal du trayon constitue la première barrière contre la pénétration des germes (cf. Figure 2.2). Le sphincter à sa base maintient le canal fermé entre les traites. Ensuite la muqueuse du canal est tapissée de cellules kératinisées possédant des propriétés bactériostatiques. Ces cellules desquament régulièrement, ce qui contribue à l'élimination des germes dans le lait en début de traite (cf. Défense passive « le canal du trayon »). Ainsi pour que les germes pénètrent, il faut d'abord que le sphincter soit ouvert. Son ouverture étant maximale à la fin de la traite, c'est lors de la traite et dans la demi-heure suivant la traite qu'a lieu la majorité des infections (NOIRETERRE, 2006). De même le canal du trayon voit son diamètre augmenter au vêlage et au tarissement, d'où une sensibilité accrue des vaches aux infections pendant ces périodes.

Le franchissement du canal peut avoir lieu selon trois grandes modalités :

- Soit par le phénomène d'impact lors de la traite mécanique : une entrée d'air intempestive au niveau d'un manchon trayeur provoque une baisse du niveau de vide dans la griffe, et le reflux de lait de la griffe vers les autres manchons trayeurs où le niveau de vide est plus élevé. Ce lait va alors déposer des germes au niveau des trayons sains (Figure 2.3).
- Soit par la multiplication de germes présents sur le trayon entre les traites : ces germes profitent de la fermeture différée du sphincter pour pénétrer dans le canal. Toute lésion du trayon (verruve, blessure, gerçure) favorise la multiplication des germes et par conséquent la fréquence des infections (SERIEYS, 1995) (Figure 2.4).
- Soit par l'introduction directe dans le sinus lactifère de germes lors de traitements intra mammaires mal conduits, ou de tout sondage du canal du trayon (SERIEYS, 1995).

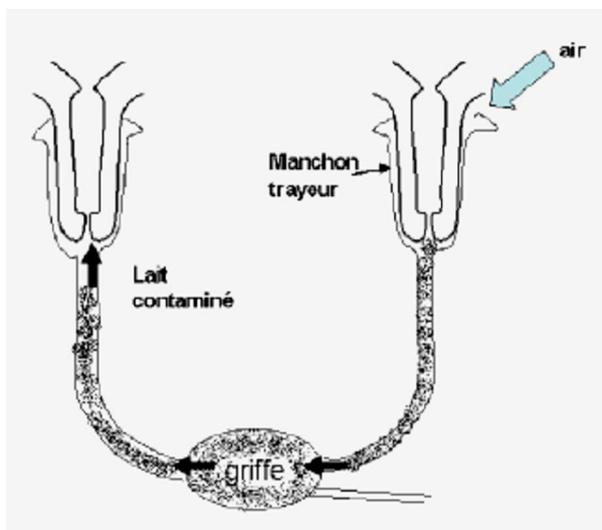


Figure 2.3 : Phénomène d'impact

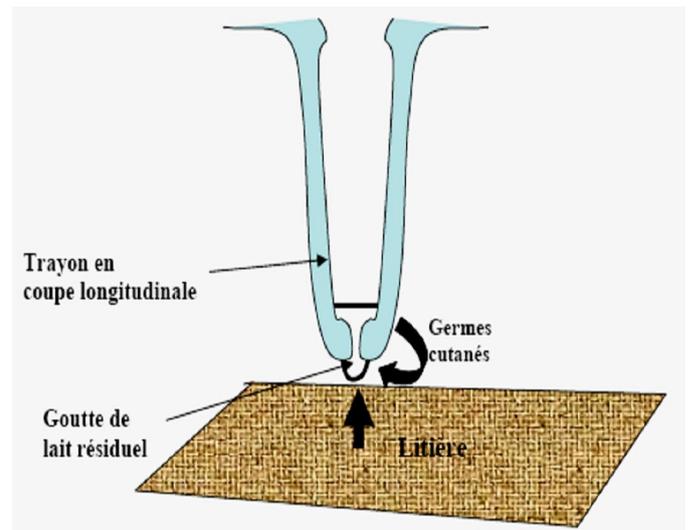


Figure 2.4 : Contamination entre les traites (par capillarité lors de contact avec litière contaminée et lésions du trayon)

(GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

#### II-4-2-2/ Infection de la glande :

Normalement la traite par son effet de vidange concourt à l'élimination des germes qui ont pu échapper aux différents systèmes de défense de la mamelle. L'adhésion à l'épithélium du sinus lactifère semble ainsi indispensable à leur survie. On a montré que *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae* adhèrent in vitro aux cellules épithéliales des canaux lactifères de la vache (NELSON et COLL, 1991 In GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007). Ces bactéries ont des adhésines de surface qui reconnaissent et lient la fibronectine, glycoprotéine présente dans la matrice extracellulaire du tissu mammaire (POUTREL, 1985) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

Ensuite les germes se multiplient rapidement et envahissent le tissu mammaire. La prolifération des germes s'accompagne de la production d'enzymes et de toxines qui vont léser le tissu sécrétoire (dégénérescence vacuolaire des cellules, d'où l'apparition de zones d'érosions des canaux lactifères) et provoquer une modification qualitative du lait produit. Les bactéries se multiplient d'autant plus facilement que la réaction de défense cellulaire de la glande est longue à se mettre en place.

#### II-4-2-3/ Inflammation de la glande mammaire :

Cette réaction se produit habituellement dans les douze heures qui suivent l'infection (SERIEYS, 1995).

La mamelle saine renferme normalement peu de cellules, leurs répartitions et leurs rôles sont représentés dans le Tableau 2.3

Lors d'infection, les lésions du tissu sécrétoire provoquent l'afflux massif de polynucléaires neutrophiles sanguins dans la glande par diapédèse (Figure 2.5). Cet afflux est plus au moins important selon l'espèce bactérienne en cause et l'importance de la contamination. Ils représentent de 50% des cellules lors d'une infection modérée, à 90% lors de mammite aiguë. Les polynucléaires, de par leur capacité de phagocytose, constituent la principale défense de la mamelle contre les infections. Cependant comme pour les macrophages leur capacité à phagocyter les germes est réduite par rapport aux polynucléaires sanguins (Figure 2.6).

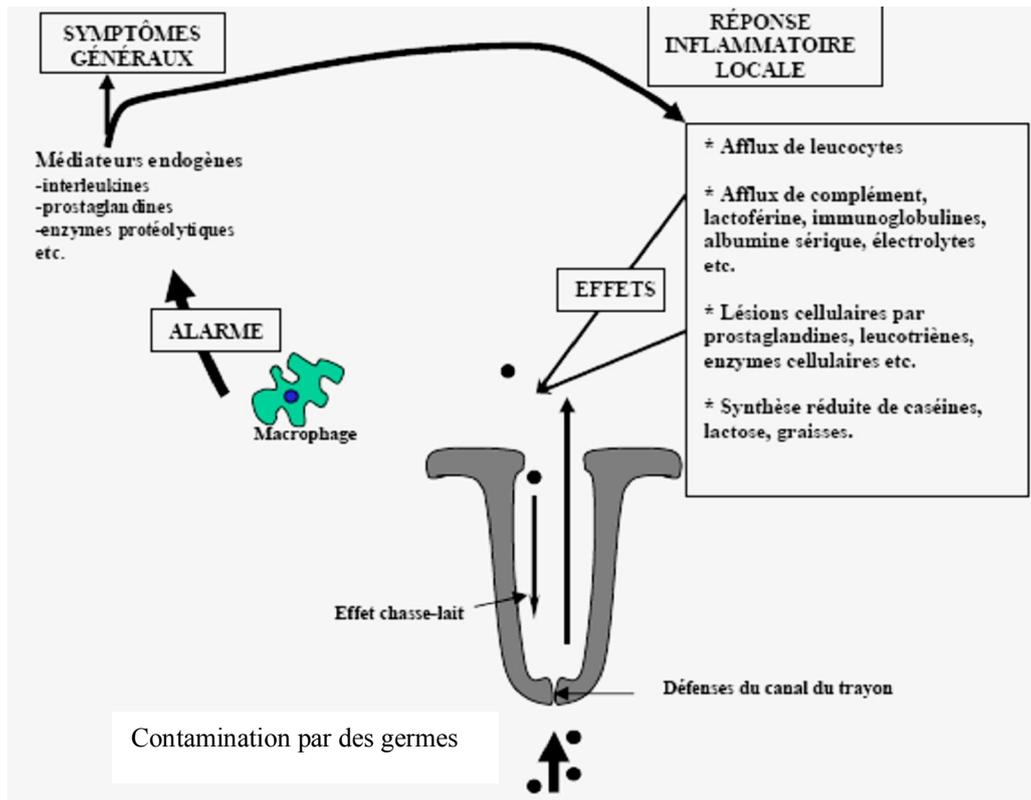


Figure 2.5 : Interactions entre les défenses mammaires et les bactéries (KREMER et al, 1990)

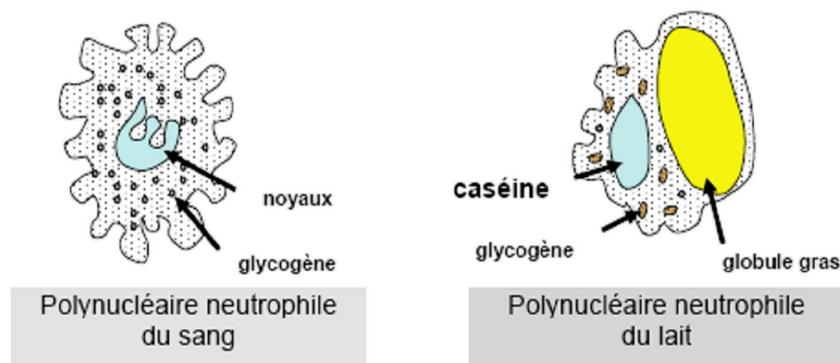


Figure 2.6 : Morphologie comparées de polynucléaires neutrophiles provenant du sang et du lait (modifié d'après NC.Jain In GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

Il n'existe pas de modification histo-pathologique typique d'une infection par une bactérie particulière à l'exception de *Staphylococcus aureus* qui peut donner lieu à une évolution spéciale : formation de granulomes (microabcès) dans l'ensemble du quartier, entourés de tissu fibreux et contenant des polynucléaires neutrophiles, des histiocytes, des cellules

lymphoïdes et des bactéries. Les zones interalvéolaires sont épaissies avec dépôts de tissu fibreux (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

#### II-4-2-4/ Evolution :

Selon le pouvoir pathogène du micro-organisme en cause et l'efficacité des défenses de la glande, trois issues sont possibles :

- La guérison spontanée :

Cette issue ne représente qu'environ 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,
- 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) (Figure 2.7).

- L'extension de l'inflammation et de l'infection

Cette issue, heureusement 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) (Figure 2.7).

- 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 polynucléaires neutrophiles qui s'opposent à cette multiplication. Lorsque l'équilibre se rompt, l'expression clinique reprend (NOIRETERRE, 2006) (Figure 2.7)

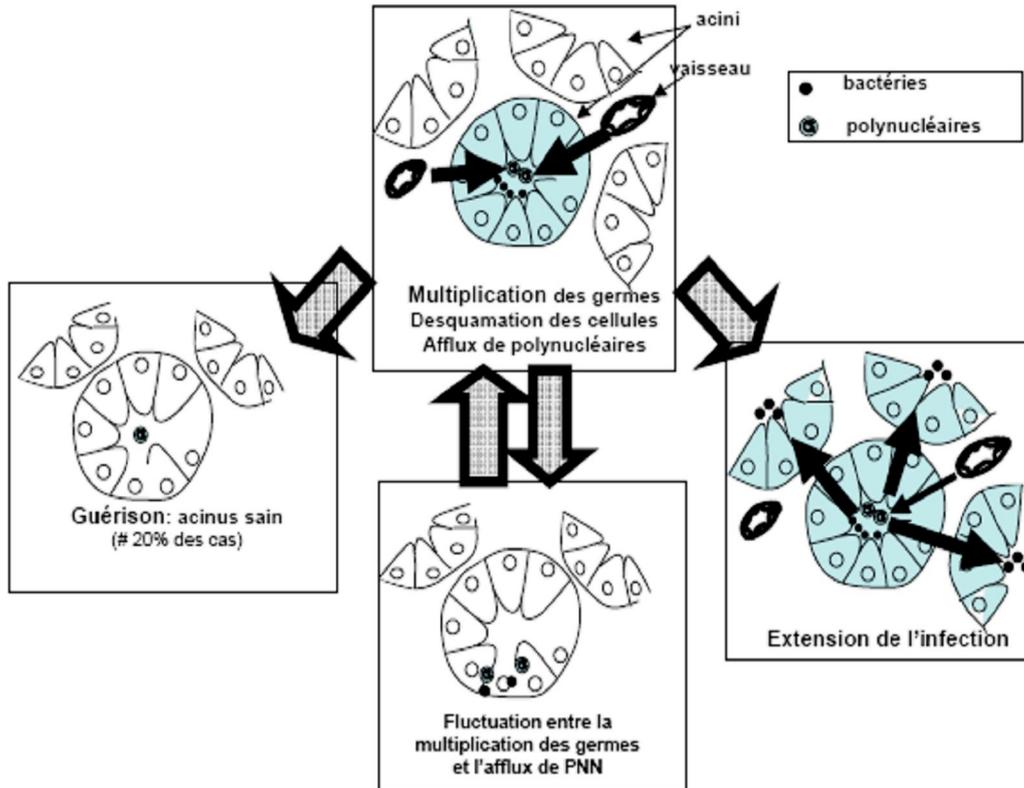


Figure 2.7 : Déroulement du processus infectieux (LEBRET et al, 1990).

## II-5/ Diagnostic et dépistage :

Les infections subcliniques sont caractérisées par des modifications de la composition du lait (non visibles à l'œil nu). De nombreuses méthodes et techniques ont été proposées pour mettre en évidence ces modifications cytologiques, chimiques et bactériologiques de l'état inflammatoire de la mamelle (NIELEN et FERTIER, 1992) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

### II-5-1/ Diagnostic non spécifique :

#### II-5-1-1/ Diagnostic biochimique :

Les modifications biochimiques de la composition du lait résultent d'une double modification de la fonction de synthèse et de filtration de la glande mammaire. La mise en évidence des modifications des taux de matières grasses, lactose et protéines ont fait l'objet de nombreuses recherches. Les variations individuelles (en fonction de la race, du numéro et du stade de lactation, de l'alimentation...) sont telles que ces techniques sont difficilement utilisables en pratique (HANZEN, 2008).

Globalement, lors d'épisodes de mammites, on observe :

- une augmentation de la teneur en protéines solubles (immunoglobulines) ; due à l'augmentation de la perméabilité vasculaire et à la réduction de la capacité de synthèse de la cellule mammaire.
- Une augmentation de la teneur en chlorure.
- Une augmentation du pH.
- Une diminution de pourcentage des caséines.
- Une diminution du taux de lactose dans le lait ; d'une part par l'altération du métabolisme des lactocytes et d'autre part sa fuite vers le sang causée par la destruction des jonctions serrées (mouvements passifs) (HANZEN, 2008).
- Une augmentation des activités enzymatiques protéolytiques et lipolytiques ; traduisant la lésion inflammatoire (NAGase, lipase, catalase, transaminase,...) (LE ROUX, 1999) (HANZEN, 2008)

## II-5-1-2/ Diagnostic immunologique :

Pour effectuer le dépistage des infections mammaires, il semble nécessaire de mettre au point des méthodes simples, rapides, sensibles et spécifiques, automatisables et peu coûteuses.

Deux éléments présent dans le lait et spécifiques du germe sont susceptibles d'être utilisés :

\* La bactérie : son identification peut se faire sur la cellule bactérienne et les composants présents à sa surface ou libérés dans le lait ainsi que sur les acides nucléiques.

\* Les anticorps : sont sécrétés en réponse à une infection. Ils sont présents dans le sérum ou dans le lait à des concentrations variables selon le statut physiopathologique de la glande mammaire (HANZEN, 2008).

Parmi les techniques utilisés:

➤ Les tests immuno-enzymatiques (ELISA) :

Ils peuvent mettre en évidence, soit un antigène, soit un anticorps (surtout les IgG) (MEUNIER, 1999). Le complexe anticorps-antigène formé est révélé par une réaction enzymatique colorée et quantitativement mesurable. La recherche peut se faire sur le lait entier ou sur le lactosérum après coagulation (HANZEN, 2008).

➤ Le test de l'anneau (Cream Rising Test):

Il permet la mise en évidence du réseau formé par les anticorps et les globules gras. Lors d'une infection, les IgA et IgM sécrétés localement vont se fixés à la surface des globules gras. Les bactéries préalablement colorées et mélangées au lait sont reconnues par ces anticorps et forment avec les globules gras un réseau qui remonte avec la crème formant un anneau coloré (méthode utilisée pour la détection des Brucelles) (HANZEN, 2008).

➤ Le test au latex :

La mise en contact de billes de latex (éventuellement colorées) sur lesquelles sont fixés soit des anticorps, soit des antigènes avec le lait contenant les anticorps ou antigènes correspondants, entraîne en quelques secondes une agglutination visible à l'œil nu. La détection d'antigènes n'est cependant possible que s'ils sont en concentration suffisante d'où la nécessité d'un enrichissement préalable (HANZEN, 2008).

➤ L'hybridation moléculaire :

C'est la technique la plus récente mais aussi la plus lourde. Elle consiste à identifier une fraction du génome de la bactérie en utilisant une sonde (fragment d'ADN ou d'ARN complémentaire de cette fraction), cette dernière est préalablement marquée à l'aide d'un isotope radioactif ou d'une enzyme. La réaction est révélée sur un film photographique ou par réaction enzymatique colorée. Cette méthode permet l'identification spécifique des bactéries impliquées (HANZEN, 2008).

### II-5-1-3/ Diagnostic par mesure de la conductivité électrique du lait :

La conductivité électrique se définit comme étant la mesure de la résistance d'un corps au courant électrique (BILLON et al, 2001)

Pour un lait normal et sain, les valeurs se situent généralement entre 4.0 et 5.5 milli-Siemens/ Centimètre (mS/cm) à 25°C. Il faut savoir, que le lait possède toujours une pression osmotique équivalente à celle du sang, le lactose représentant le composant le plus actif dans le maintien de cet équilibre et qu'il n'existe pas d'échange passif entre le lait et le sang à cause des jonctions serrées (Tight Junction) qui unissent les cellules (BILLON et al, 2001) (HANZEN, 2008).

Parmi les facteurs de variations de la conductivité du lait : on peut citer :

- \* La température du lait (entre 15 et 45°C, on observe une augmentation pratiquement linéaire de 0.113 mS/cm par degré Celsius).
- \* Les différences entre vaches liées à leur état de santé général et à leur stade de lactation.
- \* L'effet race.
- \* La fraction du lait
- \* La durée de l'intervalle entre deux traites semble aussi avoir une influence variable sur la conductivité du lait (BILLON et al, 2001).

Lors d'inflammation de la mamelle, on observe une altération de l'épithélium sécrétoire, une augmentation de la capillarité des vaisseaux sanguins, une destruction des liaisons entre les cellules (ce qui génère les mouvements passifs des cellules et des protéines de l'inflammation du sang vers le lait) et une altération du système de « pompe » ionique.

Ces destructions dues à l'action des agents pathogènes entraînent un déversement des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  dans la lumière des alvéoles, en même temps et afin de maintenir l'équilibre

osmotique, les concentrations en ions  $K^+$  et en lactose diminuent dans le lait. Il en résulte une augmentation de la conductivité électrique du lait. La mesure de cette dernière peut être réalisée en salle de traite et faire l'objet d'une automatisation (RENAUD, 2002), mais en comparant cette méthode de détection des mammites sur le lait des 4 quartiers avec les autres pratiques de détection, on se rend compte que celle-ci manque à la fois de spécificité et de sensibilité. Par contre la valeur prédictive (+) augmente si l'on passe à l'échelle du quartier (BILLON et al, 2001).

#### II-5-1-4/ Diagnostic par mesure de la concentration cellulaire du lait :

Les Comptages Cellulaires Somatiques Individuels (CCSI) sont utilisés comme indicateurs d'infections intra-mammaires depuis les années 60.

Lorsqu'il y a une infection au sein du parenchyme mammaire, comme partout ailleurs dans l'organisme, une réaction inflammatoire se met en place entraînant un afflux marqué de neutrophiles sanguins vers le lieu de l'infection (mamelle).

Les CCSI correspondent alors au dénombrement des leucocytes et, de façon minoritaire, des cellules épithéliales de la glande mammaire présentes dans le lait. Ils s'expriment en cellules/ml de lait.

D'après Serieys et al (1985) dans 80% des cas les mamelles saines ont des valeurs de comptage cellulaire ne dépassant pas les 100 000 cellules/ml et Schukken et al (2003) rapportent que le niveau des CCS dans un quartier sain est de 70 000 cellules/ml en moyenne.

Lors de mammite, ce sont les neutrophiles qui deviennent majoritaires (90%) et le comptage cellulaire augmente fortement (RIVAS et al, 2001) (PYORALA, 2003). L'augmentation peut être plus ou moins importante en fonction de l'agent pathogène responsable de l'infection et certaines valeurs de CCS dépassent le million de cellules /ml (Tableau 2.4).

Tableau 2.4 : Moyenne géométrique des CCS en fonction du pathogène mis en évidence  
(DJABRI et al, 2002)

Pathogènes mis en cause	Moyenne géométrique CCS (Cellules/ml)
Coliformes	1 151 000
<i>Streptococcus uberis</i>	1 024 000
<i>Streptococcus agalactiae</i>	857 000
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	547 000
<i>Staphylococcus aureus</i>	357 000
Staphylocoques autres que <i>S aureus</i>	138 000
<i>Corynebacterium bovis</i>	105 000

La numération de cellules somatiques peut être réalisée soit directement (sous microscope) ou (à l'aide d'appareil **automatisable**) soit indirectement (test CMT et test de la catalase).

#### II-5-1-4-1/ Méthodes de comptage directe :

Le comptage cellulaire du lait reste le critère de référence caractéristique de l'état inflammatoire local, aussi bien pour la vache isolée que pour la totalité des animaux du troupeau (RENAUD,2002).

##### II-5-1-4-1-1/ Comptage au microscope :

C'est la méthode de référence ou de Prescott et Breed (1910) qui consiste au dénombrement des cellules somatiques du lait ; cellules dont le noyau est distinctement coloré au bleu de méthylène (toutes les cellules leucocytaires et épithéliales) sur des échantillons de lait de 0.01 ml. Le comptage se fait au microscope à immersion sur une lame spéciale de 1 cm<sup>2</sup> appelée lame de BREED (LE FOL, 1990) (BADINAND, 1994).

Suite a la difficulté de mise en œuvre, elle a été délaissée au profit de comptage électronique qui est plus rapide (BADINAND, 1994).

##### II-5-1-4-1-2/ Comptage par le Fossomatic :

Le principe de la méthode fluoro-opto-électronique a été mis en application pour le comptage des cellules somatiques du lait par GRAPPIN et JEUNET en 1974 à l'aide du Fossomatic 180 (GRAPPIN et JEUNET, 1974)

Il peut être défini comme un microscope automatique à fluorescence. L'échantillon de lait à analyser est mélangé en premier lieu avec une solution tampon (solution à base de bromure d'éthidium qui se fixe sur l'ADN) puis avec une solution colorante.

Ce mélange est étalé sous forme de film très fin de 10 microns d'épaisseur sur un disque rotatif servant de plan au microscope. Chaque noyau, excité par la lumière d'une lampe au xénon (lumière bleu, 400-530 nm), renvoie une fluorescence rouge qui est captée par le photomultiplicateur lorsque le noyau passe sous l'objectif. Ce signal fluorescent est transformé en signal électrique, donc l'impulsion électrique produite par chaque cellule colorée est amplifiée et enregistrée. La fluorescence ainsi émise est proportionnelle à l'ADN du noyau.

Ce système ne détecte à peu près que les cellules inflammatoires puisque les amas de caséine et les particules inertes ne fixent pas le bromure d'éthidium (SERIEYS, 1985) (HANZEN, 2000) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

Les bactéries ont un ADN plus diffus qui émet une fluorescence moins intense ; et l'appareil est calibré pour que ces signaux de faible intensité ne soient pas comptés.

Si les échantillons ne sont pas examinés dans les 24 heures qui suivent la traite, il faut les additionner avec des agents conservateurs à savoir : l'acide borique, le bichromate de potassium et l'acide de sodium (FISHER, 1991).

#### II-5-1-4-1-3/ Comptage par le Coulter Counter :

Bien que les premières études relatives au comptage des cellules somatiques remontent à 1965 (CULLEN, 1965), la mise en application du « Coulter Counter » n'a été réalisée qu'en 1971 (GRAPPIN et JEUNET, 1971).

Le Coulter Counter, initialement conçu pour la numération des cellules sanguines, la précision de son utilisation pour le dénombrement des cellules somatiques du lait était insuffisante (SCHIPPER et BOOY, 1968) (ZEILDER et TOLLE, 1969) (READ et al, In GHARBI, 2002). Cet appareil a acquis une bonne exactitude suite aux travaux de TOLLE (1966) ; qui par traitement chimique a permis une très bonne dispersion des globules gras, en suspension dans le lait, qui interféraient avec les cellules lors des comptages.

Le Coulter Counter enregistre les impulsions électriques qui résultent du passage de particules à travers un orifice situé entre deux électrodes. Lors du passage, la résistance électrique entre les deux électrodes est modifiée, produisant une impulsion électrique proportionnelle au volume de la particule. L'appareil est calibré de telle façon que les particules (bactéries,

particules diverses) d'un diamètre inférieur à celui des cellules (seuil de 4 à 4,5 microns) ne soient pas comptabilisées. Ce système suppose au préalable le traitement du lait par un conservateur à base de formaldéhyde pendant 16 à 26 heures, qui va permettre aux cellules de résister à l'action d'un agent tensio-actif, qui dissout la matière grasse à chaud, puis la préparation est placée dans un liquide électrolytique (SERIEYS, 1985) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007) (HANZEN, 2008).

#### II-5-1-4-2/ Méthodes de comptage indirecte :

Parmi les nombreuses techniques indirectes d'appréciation du nombre des cellules du lait, on distingue les méthodes basées sur une **réaction de gélification** induite par l'addition d'un détergent ou d'un alcalin (test de Whiteside, **Californian mastitis test** et dérivés), le **test de la catalase**.

##### II-5-1-4-2-1/ Californian mastitis test (CMT):

Le CMT encore appelé Schalm test est le plus pratique et le plus utilisé pour le dépistage précoce des mammites. Le principe de ce test repose sur le mélange à parties égales d'un agent tensio-actif (solution de Na-Teepol renfermant 96g de Na-Lauryl-Sulfate/5 litres) et de lait, provoque la lyse des cellules du lait et la libération de l'ADN qui est constitué par de longs filaments, formant un réseau qui enrobe les globules gras, la caséine et d'autres particules. Plus les cellules sont nombreuses, plus le réseau est dense et l'aspect de flocculat est visqueux et épais. L'addition au Teepol d'un indicateur de pH coloré (pourpre de bromocrésol) facilite la lecture de la réaction (FISHER, 1991) (BOUDRY, 2005) (HANZEN, 2008).

Après lavage, essuyage et élimination des premiers jets de lait des quatre trayons, l'opérateur recueille 2 ml de lait de chaque quartier sur les quatre coupelles d'un plateau, auquel il rajoute 2 ml de Teepol à 10%. La lecture doit être immédiate après mélange des deux liquides par des mouvements de rotation dans un plan horizontal. L'interprétation des résultats se fait selon la grille de notation établie par Schalm et Noorlander (1957) et Schneider et al (1966) (POUTREL et al, 1999) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007) (HANZEN, 2008).

De plus, il ne doit pas être réalisé sur du colostrum (physiologiquement acide) ou la sécrétion de la période sèche (HANZEN, 2000)

Tableau 2.5 : Paramètres d'interprétation du CMT

Schalm et Noorlander (1957) et Schneider et al (1966)

<b>CMT</b>	<b>Interprétation</b>	<b>CCI (cellules x 1000/ml) Schalm et Noorlander (1957)</b>	<b>CCI (cellules x 1000/ml) Schneider et al (1966)</b>
-	Mélange liquide sans précipitation	0-200	40-200
Traces	Floculat léger visible par transparence disparaissant après une dizaine de secondes	150-500	200-600
1	Floculat visible par transparence, persistant	400-1000	500-2000
2	Epaississement immédiat avec début de gélification et adhérence au fond en filaments visqueux	800-5000	1700-8000
3	Formation d'un gel épais (blanc d'oeuf)	>5000	>8000

Le CMT ; lorsqu'il est réalisé régulièrement, présente les mêmes indications que le comptage cellulaire individuel. Il a l'avantage, par rapport à celui-ci, d'être moins coûteux, de pouvoir être réalisé par les éleveurs et de délivrer une image plus précise des infections en donnant des résultats quartier par quartier.

Ce test a surtout une valeur ponctuelle comme complément de la détermination du taux cellulaire lorsqu'il s'agit de décider de la réforme d'un animal ou du traitement spécifique de l'un au l'autre des quartiers. Il permet également de vérifier la guérison de l'animal (HANZEN, 2008)

#### II-5-1-4-2-2/ Epreuve de la catalase:

Ce test repose sur l'apparition d'oxygène induite par l'action de la catalase des leucocytes et des bactéries présentes dans le lait sur le peroxyde d'hydrogène. La formation de 20 - 30 et 40% de gaz correspondant respectivement à la présence de 50 000,  $1.10^6$  et 2 à  $3.10^6$  cellules par ml de lait. Cette méthode nécessite 3 heures de temps et un matériel assez coûteux. Par ailleurs, après 24 heures de conservation, la formation de gaz s'accroît (HANZEN, 2008)

#### II-5-2/ Diagnostic spécifique : L'Analyse bactériologique du lait

Le diagnostic bactériologique a pour but d'isoler et d'identifier le ou les germes responsables de mammites et fournit l'échelle de sensibilité de ces derniers aux divers antibiotiques. Par ailleurs, il est coûteux, requiert du temps et une bonne technicité tant pour le prélèvement que pour l'examen, un esprit critique compétent pour l'interprétation et l'exploitation des résultats. Il faut savoir limiter son utilisation :

- Pour isoler et identifier les agents bactériens ou mycosiques responsables de mammites cliniques ou subcliniques après échec des mesures préventives ou curatives ;
- Lors de cas de mammites cliniques si l'exploitation est confrontée à une augmentation brutale de leur incidence ;
- Pour contrôler l'origine infectieuse et l'efficacité des mesures préventives utilisées, en cas de mammites subcliniques ;
- Pour confirmer une hypothèse de diagnostic et affiner un diagnostic épidémiologique ;

A des fins d'enquêtes épidémiologiques ou d'évaluation de l'efficacité d'un médicament (BERTHELOT et BERGONIER, 2001) (HANZEN, 2008)

Les prélèvements de lait doivent être prélevés dans des conditions aussi aseptiques que possible. La méthodologie sera décrite dans la partie expérimentale. Les échantillons ainsi prélevés seront acheminés au laboratoire sous couvert du froid (+4°C) en (24h-48h maximum) pour prévenir la multiplication bactérienne. En cas d'impossibilité de respect de ce délai, les prélèvements peuvent être conservés à (-20°C) pendant plusieurs semaines (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007) (HANZEN, 2008)

Il faut savoir qu'il n'existe pas de flore normale de la mamelle, donc tout isolement bactérien mérite d'être pris en compte à condition que les prélèvements aient été réalisés dans de bonnes conditions :

- Dans 90% des cas, une seule espèce bactérienne est responsable de l'infection ;
- L'association de deux espèces bactériennes différentes est généralement rare ;
- L'isolement de trois espèces bactériennes différentes ou plus témoigne d'une contamination de l'échantillon au cours du prélèvement

(GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007) (HANZEN, 2008)

#### \*Interprétation des résultats :

Pour juger de l'état de santé de la mamelle d'une vache, il est préférable d'effectuer plusieurs contrôles. Une augmentation de la Concentration Cellulaire Individuelle (CCI) par rapport au contrôle précédent signe une nouvelle infection.

En cas de mammite environnementale sur une mamelle saine (< 100 000 cellules/ml) les cellules augmentent brusquement et fortement puis reviennent habituellement à leur valeur initiale en un ou deux contrôles. Alors que dans le cas de mammite contagieuse, le CCI fluctue habituellement au dessus de 300 000 cellules /ml (FERROUILLET et al, 2004).

Pour utiliser les CCS dans l'objectif de distinguer un quartier sain d'un quartier infecté, il faut décider d'une valeur seuil au-delà de laquelle on considèrera le quartier comme infecté.

D'après la littérature, il apparaît que le seuil permettant de minimiser le risque d'erreur serait de l'ordre de 200 000 à 250 000 cellules/ml. Avec ce seuil, on obtiendrait une sensibilité (Se) de détection d'environ 75% et une spécificité (Sp) de 90% (SCHUKKEN et al, 2003) . Si un lait présente un comptage inférieur à 300 000 cellules/ml, celui-ci est considéré comme sain, alors que s'il est supérieur à 800 000 cellules/ml, il sera considéré comme atteint de mammite subclinique. Entre 300 et 800 000 cellules/ml, le quartier est considéré comme douteux.

#### II-6 / Traitement des mammites subcliniques:

Contrairement au traitement des mammites cliniques en lactation qui présente un intérêt économique, celui des mammites subcliniques n'est généralement pas justifié, il s'adresse en priorité aux primipares et aux vaches à forte valeur économique qui se trouvent généralement

infectées en début de lactation, surtout dans les élevages où les comptages cellulaires sont proches des seuils de pénalités et de non commercialisation du lait (ABRIC et SERIEYS, 2001)

Les mammites subcliniques ne doivent pas être traitées en lactation : (FABRE et al, 1999)

- Pour des raisons techniques liées au faible taux de guérison (diffusion de la préparation d'antibiotique limitée par l'effet chasse lait) ; le taux de guérison bactériologique lors d'un traitement des mammites subcliniques en lactation varie entre 25 et 50% pour *Staphylococcus aureus* (FABRE et al, 1999) (ABRIC et SERIEYS, 2001)

- Pour des raisons économiques liées au coût du traitement et au délai d'attente de 4-5 jours (lait écarté de la commercialisation), qui ne sont pas compensées par une amélioration de sa qualité.

Néanmoins, le traitement des mammites subcliniques en lactation peut être envisagé dans deux cas particuliers :

- La « *Blitz Therapy* » qui consiste à évaluer l'effet à long terme d'une réduction initiale des mammites subcliniques par antibiothérapie.
- Le « *Traitement en parallèle* », protocole expérimenté par FABRE et al (1999) consiste à traiter les vaches qui présentent simultanément une mammite clinique (en début de lactation) et des mammites subcliniques atteignant les autres quartiers détectées par le CMT ou par NCI (Numération Cellulaire Individuelle) ; vu que le lait des quatre quartiers est jeté, le seul coût est celui du traitement administré et cela pour des taux de guérison supérieurs à 25%. Ce traitement déjà réalisé dans certains pays, est une pratique rentable qui peut compléter les plans de lutte classiques à savoir : traitement au tarissement, désinfection en fin de traite et hygiène de la traite.

Des taux de guérison supérieurs et l'absence de lait écarté font du tarissement la période privilégiée pour traiter les mammites subcliniques (LHERMIE, 2008). En effet, le traitement pendant la période sèche permet d'agir à **titre curatif** sur les infections intra-mammaires préexistantes (on retrouve surtout le *Staphylococcus aureus* et le *Streptococcus uberis*) et à **titre préventif** sur celles pouvant apparaître pendant le tarissement où la mamelle est particulièrement exposée aux infections (SERIEYS, 1997) (SERIEYS, 1999) (FABRE et al, 1999)

Il faut rappeler que 90% des mammites sont dues à des streptocoques, à des staphylocoques ou à des entérobactéries (HANZEN, 1999). La question de l'activité des antibiotiques se pose

donc à l'encontre de ces trois espèces. Les injections intra mammaires à base d'oxacilline ou de céphalosporines sont les plus indiquées (MORVAN et al, 1997)

- *Staphylococcus aureus* est le germe qui offre le plus de résistance à l'antibiothérapie, il a la capacité de pénétrer et de se loger profondément dans les tissus. La concentration tissulaire en antibiotiques peut être fortement différente de celle mesurée dans le lait (EICHER et al, 2002). Pour cela l'antibiotique doit être non seulement actif mais il doit posséder un bon pouvoir de diffusion intracellulaire pour atteindre les germes. Le taux de guérison bactériologique intra mammaire pour ce germe est plus élevé au tarissement qu'en lactation (DOSOGNE et al, 2000).
- Les streptocoques se multiplient sur la paroi des canaux galactophores provoquant des galactophorites. Ces germes sont donc plus faciles à atteindre par l'antibiotique. En général, si un antibiotique est actif contre les *Staphylococcus aureus* il l'est aussi contre *Streptococcus uberis* et les autres streptocoques (FAROULT, 1998).
- *Escherichia coli* étant mal tolérée par la mamelle (résistance naturelle aux germes Gram-) et ayant peu de tendance à y persister, les mammites qu'elle entraîne sont celles pour lesquelles on observe le taux le plus élevé de guérisons bactériologiques spontanées (FAROULT, 1998).

## II-7/ Moyens de lutte (prophylaxie) :

La prévention des infections mammaires au niveau d'un élevage est possible en appliquant quelques mesures (curatives et préventives) et dont le but est de diminuer le taux des nouvelles infections et d'éliminer systématiquement les infections existantes (WATTIAUX, 1996) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

### II-7-1/ Mesures curatives :

Les médicaments utilisés dans le traitement des mammites sont essentiellement des antibactériens associés parfois à des corticoïdes. Ils sont administrés soit pendant la lactation par voie parentérale ou intra mammaire, soit au moment du tarissement (hors lactation) dans un but curatif ou préventif (FABRE et al, 1999) (SERIEYS, 2004)

Malgré les antibiorésistances qui apparaissent de plus en plus, l'antibiothérapie reste le traitement de choix, vu que la mise en place de vaccins efficaces est difficile de part la

diversité des espèces bactériennes, des souches et des sérotypes rencontrés dans un élevage (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)

## II-7-2/ Mesures préventives :

Elles doivent s'appuyer sur les résultats des CCI ainsi que sur l'enregistrement des cas cliniques pour déterminer les réservoirs dominants et prendre les mesures nécessaires pour les éliminer.

En général la prophylaxie repose sur :

- \* Le respect des normes et conditions de logement (surface de couchage, ambiance, ventilation, taux d'humidité...)
- \* Le maintien d'une litière propre (paillage 2x /jour)
- \* Une alimentation équilibrée pour maintenir la capacité naturelle à combattre les infections (riche en Vitamine E et Sélénium) (WATTIAUX, 1996) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)
- \* Une réduction des stress
- \* Le respect des normes d'hygiène de traite :
  - Utilisation de lavette individuelle à usage unique pour le nettoyage de la mamelle avant la traite
  - Le trempage ou la pulvérisation des trayons avant et après la traite à l'aide d'un désinfectant (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007)
  - Hygiène de la machine à traire (entretien et la désinfection du matériel de traite après chaque utilisation)
- \* Le bon fonctionnement de la machine à traire (éviter le phénomène d'entrée d'air « sifflement » en vérifiant régulièrement le niveau de vide) (WATTIAUX, 1996)
- \* La réforme des vaches à mammites chroniques incurables (SERIEYS et FAROULT, 2001)
- \* La sélection pour l'amélioration génétique de la résistance aux mammites, fondée sur une diminution des numérations cellulaires du lait. Elle doit permettre une réduction des mammites subcliniques ainsi qu'une réponse indirecte favorable sur les cas cliniques (RUPP et BOICHARD, 2001)

### III-1/ Objectif :

Parmi les pathologies majeures liées à la production laitière bovine, les mammites (cliniques) entraînent une perte de production considérable, cependant, celle liée aux mammites subcliniques passe généralement inaperçue.

Pour cela, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- \* Faire un état des lieux des infections mammaires cliniques dans nos exploitations.
- \* Estimation de la prévalence des mammites subcliniques; en utilisant le CMT, le Comptage des Cellules Somatiques et la mesure de la conductivité électrique du lait comme moyens de dépistage.
- \* La recherche, l'isolement et l'identification des différentes espèces bactériennes en cause.

### III-2/ Caractéristiques générales de la région d'étude :

#### III-2-1/ Situation géographique :

La Mitidja est une zone symbole de l'Algérie, de part la richesse de ses ressources naturelles et par la diversité qu'elle offre par ses activités économiques et agricoles (terre fertile, climat, industrie), elle recèle un potentiel de production important.

La plaine de la Mitidja est uniforme. Elle a une superficie de 130 à 140 000 ha. Elle est divisée en trois unités hydro agricoles :

- La Mitidja ouest, à l'ouest de l'Oued de Chiffa.
- La Mitidja centre, entre les oueds de Chiffa et el Harrach.
- La Mitidja est, entre les oueds d'El Harrach et Boudouaou.

Notre étude a concerné deux exploitations de production laitière situées au Centre Ouest de la Mitidja ; dans la wilaya de Blida (Beni Tamou et Chiffa) (Figure 3.1)

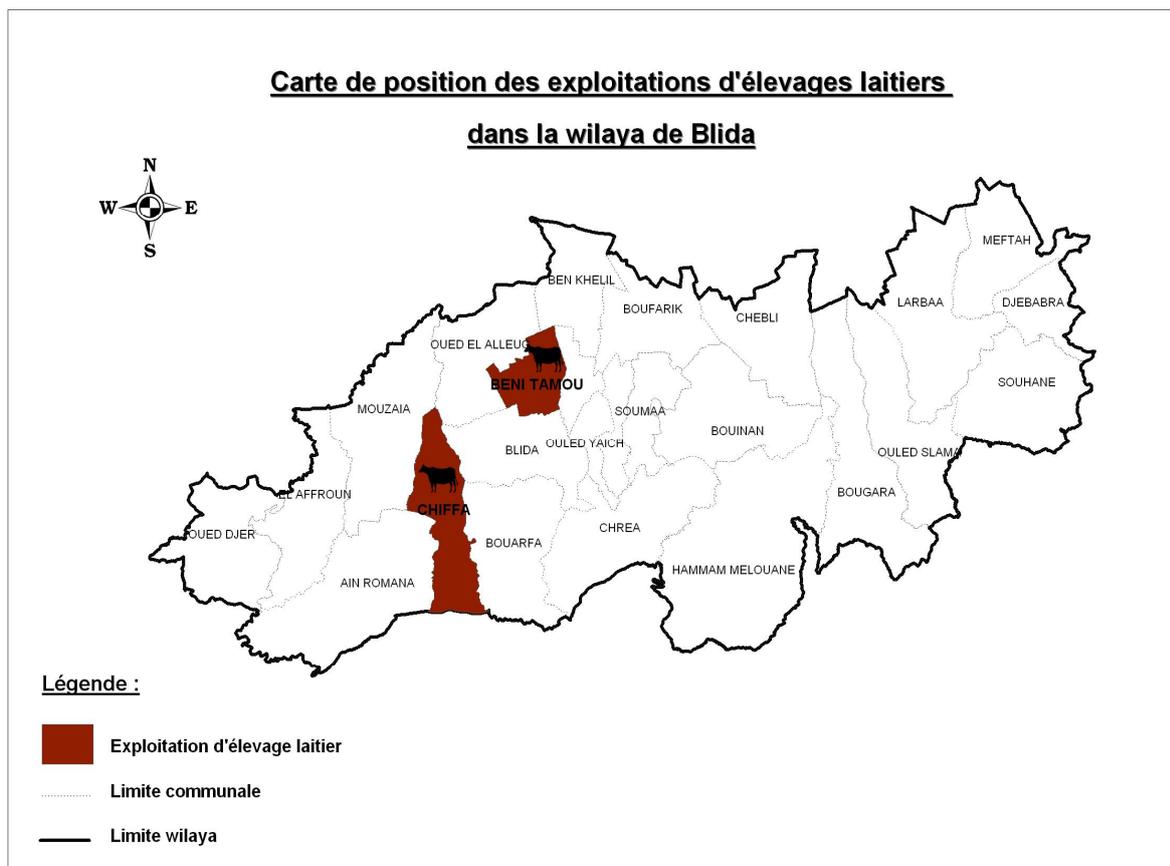
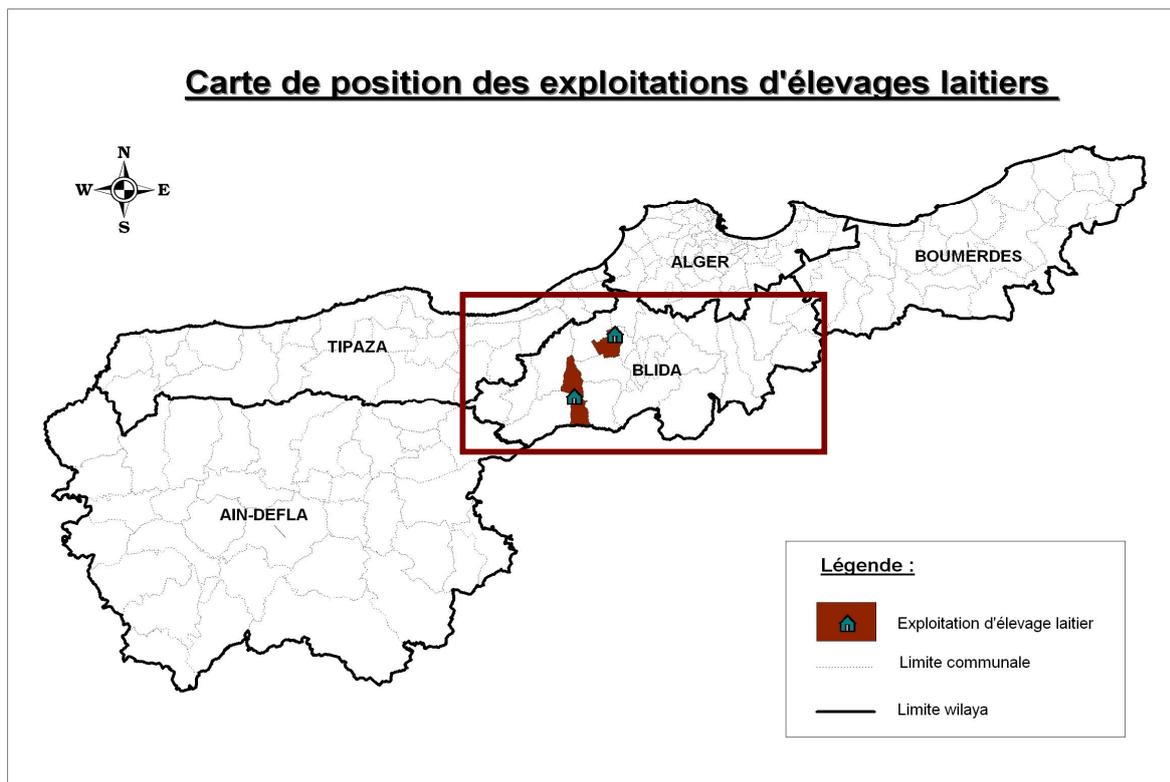


Figure 3.1 : Situation géographique

## III-2-2/ Climat :

Le climat de la Mitidja est de type méditerranéen : doux et humide en hiver, chaud et sec en été, avec, néanmoins des variations climatiques importantes qui déterminent le potentiel agricole, permettant la culture des fourrages (vert et sec) et des céréales, nécessaires pour l'élevage laitier.

## III-2-3/ Exploitation laitière :

Les informations relatives à chacune des fermes ont été recueillies dans le tableau ci-dessous (Tableau 3.1).

Tableau 3.1 : Renseignements concernant le troupeau :

<b>Exploitations</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>
<b>Région</b>	Beni Tamou	Chiffa
<b>Effectif total</b>	190	328
<b>Effectif de Vache Laitière</b>	124	170
<b>Système (mode) de traite</b>	Chariot trayeur	Chariot trayeur
<b>Type de stabulation</b>	Semi-entravée	Libre (Sauf lors de la traite)
<b>Hygiène de l'étable</b>	Bonne	Bonne
<b>Litière (fréq de renouvellement)</b>	Paille + Sciure de bois. 2x/j	Paille + Sciure de bois.
<b>Diagnostic de mammite</b>	Aspect du lait	Aspect du lait/ Mastotest
<b>Traitement au tarissement</b>	MASTIGET <sup>ND</sup>	Produit
<b>Durée moyenne du tarissement</b>	2 Mois (arrêt complet au bout de 8j (1x/j))	2 Mois

<b>(désinfection) Lavage et essuyage des trayons avant la traite</b>	Eau tiède + Eponge	Produit (Germiod <sup>ND</sup> )
<b>Trempage des trayons après la traite</b>	-	Produit
<b>Hygiène de la machine à traire</b>	Eau+savon après chaque traite	Produit désinfectant après chaque traite

### III-3/ Echantillonnage et Conditions expérimentales :

Notre étude a porté sur un effectif de 165 vaches de race différentes (Prim' Holstein, Holstein pie rouge, Montbéliarde et Fleckvieh), âgées de 2 à 7 ans, qui étaient en pleine lactation (hors période colostrale), ne présentant pas de symptômes cliniques de mammites et qui n'avaient pas subi de traitement antibiotique (minimum 7 jours) (Tableau en annexe 1 : renseignements individuels)

Les prélèvements de lait ont été effectués à un intervalle d'un mois durant la période de Mai à Juillet 2009.

### III-4/ Matériels et Méthodes :

Les techniques utilisées :

#### III-4-1/ Détection des mammites cliniques : « Epreuve du bol de traite »

Ce test est réalisé systématiquement sur tous les quartiers de toutes les vaches lors de la préparation de la mamelle à la traite.

#### \* **Principe :**

Recueillir dans un bol à fond noir les premiers jets de lait après avoir nettoyé les trayons.

#### \* **Objectif :**

Mettre en évidence les grumeaux dans le lait qui signent une atteinte de la mamelle.

**NB / Le cas mammite clinique :**

Dans notre enquête l'unité utilisée est le **quartier**, un cas de mammite est défini comme un quartier qui présente au minimum une modification de sa sécrétion. C'est-à-dire la présence de grumeaux dans le lait détectée lors de l'observation des premiers jets de lait dans un bol à fond noir.

Chaque cas de mammite clinique ainsi détecté est alors enregistré ensuite isolé du troupeau.



Figure 3.2 : Epreuve du bol à fond noir

### III-4-2/ Détection des mammites subcliniques :

#### III-4-2-1/ Epreuve CMT (Californian Mastitis Test):

**\* Matériels :** (Figure 3.3)

- Teepol (agent tensio-actif)
- Plateau avec 4 coupelles
- Pompe doseuse
- Dispositif de marquage des cas positifs
- Lavettes individuelles



Figure 3.3 : Matériels pour le CMT

**\* Principe :**

Lyse des cellules du lait par l'action de l'agent tensio-actif ; qui se manifeste par une viscosité du mélange qui est proportionnelle au nombre de cellules.

**\* Technique :**

Recueillir quelques jets de lait de chaque quartier dans la coupelle correspondante, incliner le plateau afin de ne conserver que la quantité nécessaire à savoir 2 ml (jusqu'à ce que le trait horizontal soit visible), ajouter 2 ml du réactif ensuite agiter doucement la solution par des mouvements circulaires horizontaux pendant quelques secondes (Figure 3.4)



Figure 3.4 : La réalisation du CMT

**\* Lecture :**

Observer la modification de couleur qui est un indicateur de pH (Pourpre de bromocrésol) et la consistance du mélange en inclinant le plateau. (Voir Tableau 2.5 : Paramètres d'interprétation du CMT) (Figure 3.5 a et b)



Figure 3.5 a : Résultat CMT négatif



Figure 3.5 b : Résultat CMT positif

### III-4-2-2/ Comptage des cellules somatiques du lait de quartier (CCSQ) :

Les quartiers à CMT positif ( $\geq ++$ ) ont fait l'objet d'un prélèvement pour la numération des cellules somatiques.

➤ **A la ferme :**

**\* Matériels :**

- Serviettes et lavettes individuelles
- Flacons stériles de 60 ml étiquetés (marqueur indélébile)
- Glacière (contenant des pains de glace)

**\* Réalisation du prélèvement :**

Après lavage et essuyage de la mamelle, le quartier en question sera identifié ensuite prélevé. Le lait est recueilli dans des flacons stériles de 60 ml ensuite acheminé au laboratoire de biologie clinique de l'université de Blida dans une glacière à 4°C (Figure 3.6)

Au total, 155 échantillons de lait ont été prélevés et analysés (prélèvement de lait de quartier) Chaque prélèvement est fixé au formol puis analysé dans les 24 heures.

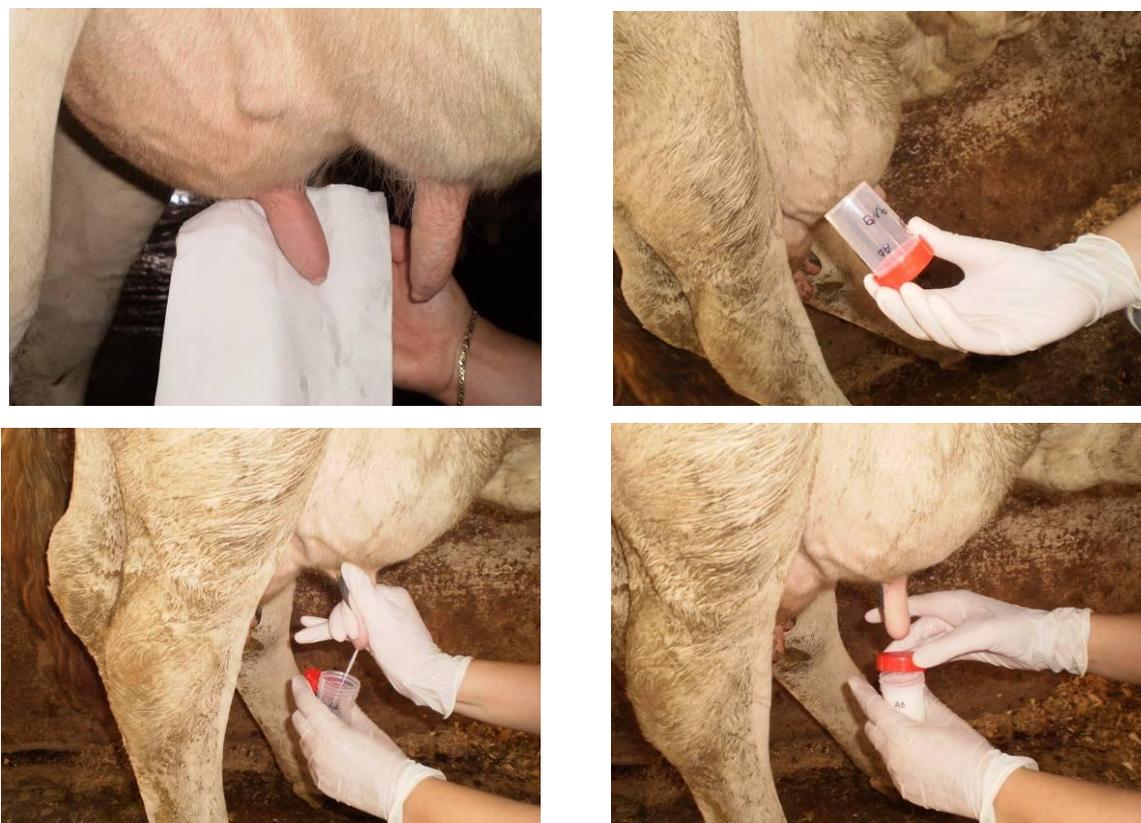


Figure 3.6 : Etapes de réalisation du prélèvement pour la numération cellulaire

➤ **Au laboratoire :**

**\* Matériels :**

L'appareil utilisé est un compteur électronique de particules et analyseur de tailles de type COULTER, modèle Z2 (Figure 3.7)

- Tubes en verre de 125 ml
- Flacons de 60 ml
- Triton x100
- Tris
- Formol à 35 %
- Ethanol à 96 %
- Chlorure de Sodium
- Eau distillée
- Filtres stériles de 0.22 µm
- Micropipette (100 µl) et embout
- Pipette graduée en verre
- Bain marie



Figure 3.7 : Coulter Counter modèle Z2 (avec son clavier à gauche)

**\* Principe de fonctionnement :**

Le COULTER est un appareil qui détermine, en fonction de leurs dimensions, le nombre de particules en suspension dans un électrolyte. Un dispositif d'aspiration est relié à la sonde oblige la suspension d'électrolyte à analyser, à passer par l'orifice situé entre les deux électrodes entre lesquelles passe un courant électrique. Lorsqu'une particule passe par cet orifice elle déplace son propre volume d'un liquide fortement conducteur par rapport à une conductivité inférieure. (Figure 3.8)

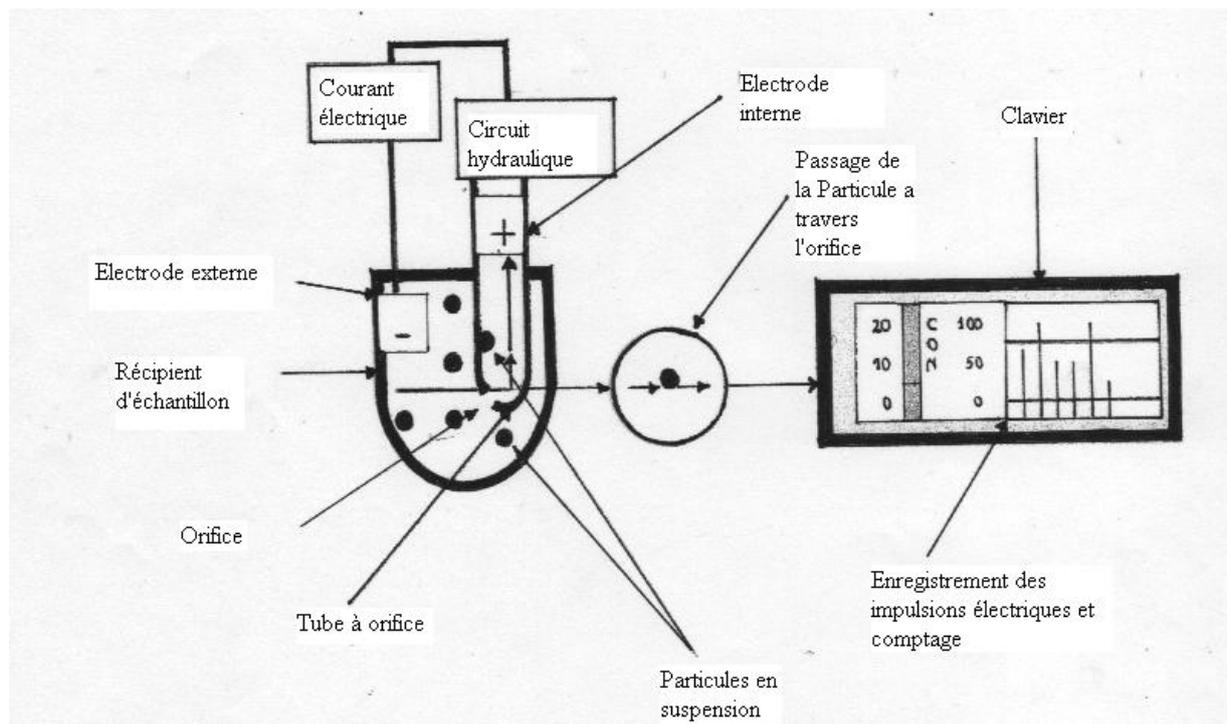


Figure 3.8 : Schéma du principe de fonctionnement du COULTER (In GHARBI, 2002)

Ce passage permet de modifier la résistance électrique du milieu et par conséquent l'intensité du courant entre les électrodes, qui se traduit par une impulsion dont l'intensité est proportionnelle au volume de la particule. Chaque impulsion est comptée électroniquement.

Un autre dispositif spécial commande la durée du comptage correspondant à un volume exactement connu de la suspension.

**\* Préparation des échantillons de lait :**

La méthode utilisée est celle rapportée par la FIL (1995), appliquée au COULTER par GRAPPIN et JEUNET (1971).

Le principe de la technique repose sur la suppression de l'influence de la matière grasse par la dispersion des globules gras dont la taille est supérieure ou égale à 5  $\mu\text{m}$  qui peuvent interférer avec les cellules présentes en suspension dans le lait lors du comptage.

➤ Fixation des échantillons de lait prélevé : (Figure 3.9)

- Bien homogénéiser le lait avant utilisation
- Prélever 9,8 ml de lait dans un tube à essai à l'aide d'une pipette graduée
- Prélever 0,2 ml de formol à 3,5 % à l'aide d'une micropipette
- Homogénéiser la préparation ensuite placer les tubes au bain-marie à 60°C pendant 30 minutes
- Laisser refroidir quelques minutes à T° ambiante.

Cette première étape permet à la membrane cytoplasmique des cellules d'acquérir une certaine résistance pour éviter d'éventuelle destruction lors du traitement à la chaleur

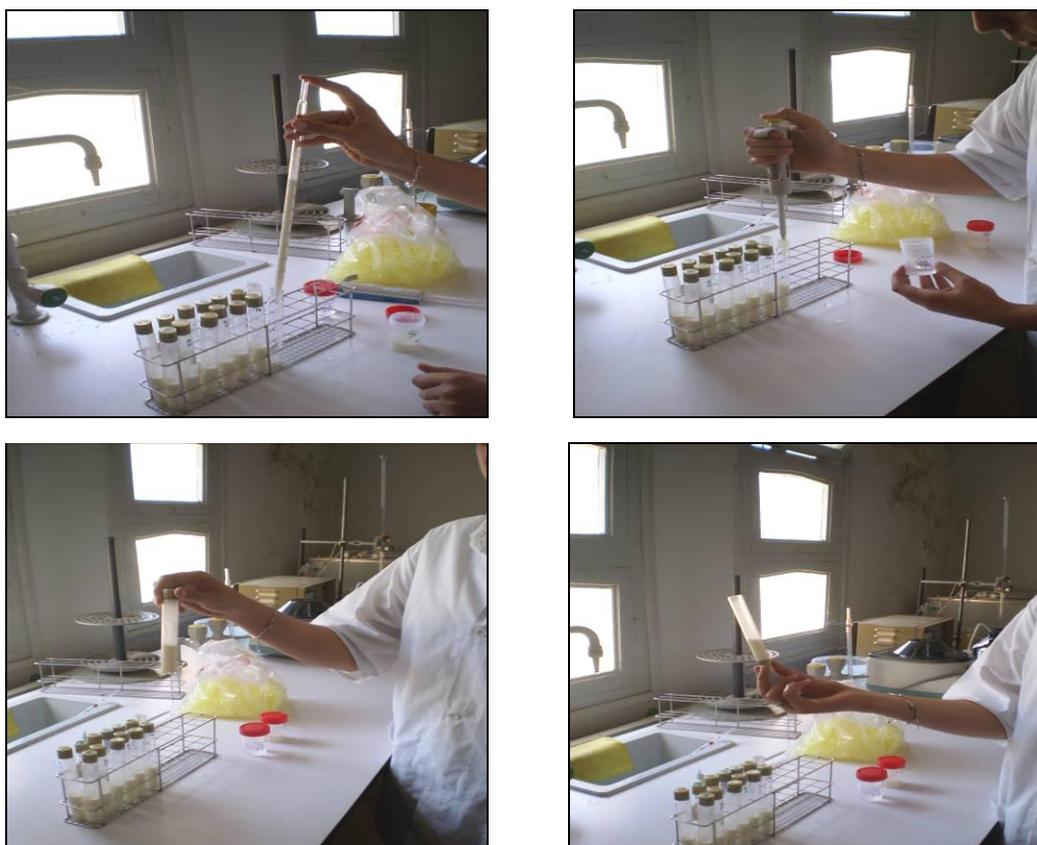


Figure 3.9 : Fixation des échantillons de lait

➤ Clarification des échantillons : (Figure 3.10)

- Pipeter 0,1 ml de lait fixé dans 2 tubes à essai
- Ajouter dans chaque tube 9,9 ml de la solution d'électrolyte filtrée (Voire Annexe 2).
- Remuer la solution obtenue pour bien homogénéiser
- Mettre au bain-marie à 80°C ±1 pendant 10 minutes
- Laisser refroidir quelques minutes à T° ambiante
- Après refroidissement, remettre le contenu du tube à essai dans un flacon de 60 ml pour procéder à la lecture à l'aide du COULTER
- Entre chaque lecture (échantillon), il faut rincer l'appareil (extrémité de la sonde) avec une solution isotonique pour éliminer tout débris (moins de 4000 cellules/ml).

L'action conjuguée de l'éthanol, de l'émulsifiant (Triton x100) et de la chaleur entraînent une clarification du milieu par dispersion des globules gras en particules très fines, stables rendant le comptage sélectif des cellules possible.



Figure 3.10 : Etapes de clarification des échantillons de lait fixé

**\* Lecture :**

Avec 0,1 ml comme volume de mesure et une dilution de 0,1 ml de lait dans 10 ml de mélange électrolytique ; la numération est indiquée en lecture directe, en milliers de cellules somatiques par ml de lait (Figure 3.11 a et b)

Chaque dilution est lue deux fois au COULTER (Voire annexe 3).



Figure 3.11 a : Lecture du résultat

Figure 3.11 b : Résultat après rinçage de l'extrémité de la sonde avec la solution isotonique

### III-4-2-3/ Mesure de la conductivité électrique du lait :

Les quartiers à CMT positif ( $\geq ++$ ) ont fait l'objet d'un prélèvement pour la mesure de la conductivité électrique du lait.

➤ **A la ferme :**

Le matériel et la réalisation du prélèvement sont identiques à ceux du COULTER.

➤ **Au Laboratoire :**

**\* Matériel :**

Il s'agit d'un appareil électronique portable (type DRAMINSKI®) (Figure 3.12) constitué d'un récipient jaugé, d'un écran de lecture à cristaux liquides et d'une poignée avec un interrupteur marche/arrêt. Le mode d'emploi préconise de faire l'analyse sur les premiers jets de lait. Au fond du récipient se trouvent deux électrodes permettant l'analyse. Cet appareil ne mesure pas directement la conductivité du lait, mais sa résistivité qui est l'inverse de la conductivité. Les mesures se font sur chacun des quartiers, les valeurs chiffrées sont lisibles sur l'écran et sont gardées en mémoire. En plus des mesures absolues, l'appareil calcule l'écart relatif des valeurs des quatre quartiers d'une même vache.



Figure 3.12 : Conductimètre type DRAMINSKI®

**\* Technique :**

Lors de la mise en marche de l'appareil, quatre zones de mesures apparaissent à l'écran. Une des zones clignote et nous indique quel quartier il faut prélever. Extraire les premiers jet de lait du trayon jusqu'au trait de jauge (quantité minimale environ 1 cm au-dessous du bord supérieur). Attendre environ une minute et appuyer de nouveau sur l'interrupteur pour afficher le résultat. On déverse ensuite le lait, on rince le récipient avec de l'eau tiède, on presse l'interrupteur pour que la zone suivante clignote puis on prélève le trayon suivant de la même manière que précédemment et ainsi de suite pour l'ensemble des quartiers. (Figure 3.13)

**\* Lecture :**

La lecture se fait directement sur l'écran (tableau d'affichage) (Figure 3.14)



Figure 3.13 : Technique de réalisation



Figure 3.14 : Lecture du résultat

**\*Interprétation des résultats :**

Tableau 3.2 : Interprétation des résultats de l'appareil DRAMINSKI®

Valeurs chiffrées	Interprétation
Inférieure à 250 unités	Quartier infecté (mammite subclinique)
Entre 250 et 300 unités	Etat intermédiaire (prendre en compte d'autres valeurs)
Supérieure à 300 unités	Quartier sain

### III-4-2-4/ Analyse bactériologique du lait :

Certains quartiers à CMT positif ( $\geq +++$ ) ont fait l'objet d'un prélèvement pour l'analyse bactériologique du lait.

#### ➤ A la ferme :

##### \* Matériels :

- Matériels pour le nettoyage et la désinfection de la mamelle
- Coton et Alcool à 70°
- Tubes en verre stériles étiquetés (marqueur indélébile)
- Glacière (Figure 3.15)



Figure 3.15 : Matériels nécessaire pour les prélèvements

##### \* Réalisation du prélèvement aseptique du lait:

Les prélèvements ont été réalisés selon la méthode classique (MIALOT, 1983) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007) (POUTREL, 2008)

- Identifier le flacon au feutre indélébile : Numéro de la vache, quartier AD, AG, PD, PG.
- Après lavage et essuyage de la mamelle et élimination des premiers jets de lait.
- Désinfecter l'extrémité du quartier infecté avec du coton imbibé d'alcool à 70° pendant 10 à 20 secondes en insistant sur l'orifice du canal du trayon
- Ouvrir le flacon stérile en maintenant l'ouverture dirigée vers le bas. Le bouchon étant tenu dans la même main sans toucher l'intérieur
- Prélever quelques ml de lait en maintenant le flacon incliné

- Reboucher le flacon avant de le redresser (Figure 3.16)



Figure 3. 16 : Etapes de réalisation du prélèvement pour l'analyse bactériologique

**Remarque /**

L'ordre de désinfection est très important : si la vache est abordée à droite, afin d'éviter la contamination des trayons précédemment désinfectés, l'ordre de désinfection est le suivant : Postérieur gauche, antérieur gauche, postérieur droit et antérieur droit. L'ordre de prélèvement est l'ordre inverse à celui de la désinfection, ce qui évite de toucher un trayon avant de le prélever.

Au total, 87 échantillons de lait ont été prélevés et analysés (prélèvement de lait de quartier)

**\* Conservation et acheminement des prélèvements :**

Les échantillons de lait prélevés sont placés immédiatement sous couvert du froid (4°C), pour limiter la multiplication d'éventuels contaminants. Ils sont ensuite acheminés dans les 24 à 48 heures au laboratoire de bactériologie (Laiterie TREFLE). Une partie des échantillons a été analysée juste après son arrivée au laboratoire et l'autre partie a été congelée (- 20°C) pour être analysée 4 semaines après (par manque de temps)

➤ **Au laboratoire :**

Les échantillons de lait conservés à (4°C) sont traités dans les 24-48 heures après leurs arrivées. Alors que ceux conservés à (-20°C) sont d'abord décongelés à température ambiante homogénéisés puisensemencés

Les méthodes utilisées dans notre travail ont été choisies selon les techniques de référence (méthode AFNOR : Agence Française de Normalisation) à savoir :

- La préparation des solutions décimales en vue de l'examen microbiologique à partir de suspensions mères : Méthode NF EN ISO 6887-1.
- Le dénombrement des microorganismes (méthode par comptage des colonies obtenues à 30°C) : Méthode NF V 08-051.
- Le dénombrement des coliformes fécaux : Méthode NF V 08-017 (annexe à NF V 08-015 et NF V08-016)
- La recherche de *Staphylococcus aureus* après enrichissement sur milieu Giolliti Cantoni et isolement sur gélose de Chapman et Baird Parker.
- Le dénombrement des Streptocoques fécaux en milieu liquide par la technique du nombre le plus probable utilisant le milieu de Rothe S/C (Simple Concentration) et milieu d'Eva Litsky.
- La recherche des Streptocoques en milieu liquide Rothe S/C et l'identification des souches après purification en utilisant les Galeries API 20 Strep.

**\* Matériels :**

Matériels de laboratoire (Voir annexe 4)

**\* Préparation des dilutions décimales:**

A partir des prélèvements de lait homogénéisés considérés comme solutions mères (SM), nous avons réalisé une série de dilutions.

- ✓ Dilution au 1/10 ou  $10^{-1}$  : à partir de la SM prélever 1ml et déposer dans un tube à essai à vis contenant 9ml de TSE ; bien homogénéiser à chaque fois.
- ✓ Dilution au 1/100 ou  $10^{-2}$  : à partir de la dilution  $10^{-1}$  prélever 1ml et déposer dans un tube contenant 9ml de TSE.
- ✓ Dilutions au 1/1000 ou  $10^{-3}$ , ...,  $10^{-6}$  : Refaire l'opération citée précédemment (Figure 3.17)

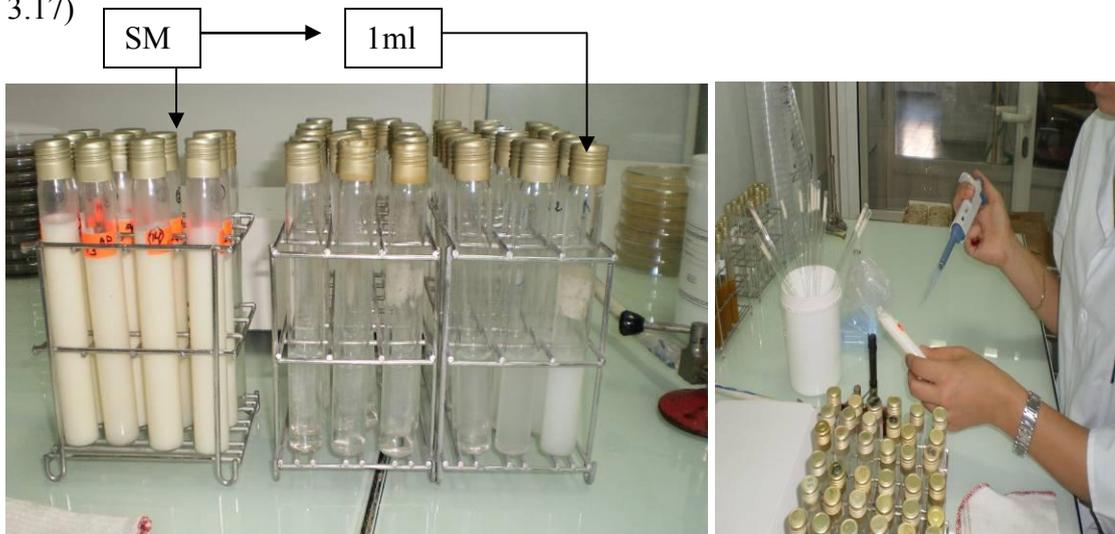


Figure 3.17 : Préparation des dilutions décimales

**\* Recherche et dénombrement des Germes Totaux (GT) :**

Le dénombrement des germes totaux reflète la qualité microbiologique générale du lait. Prendre 1ml des dilutions ( $10^{-4}$ ), ( $10^{-5}$ ), ( $10^{-6}$ ) et le mettre dans des boîtes de Pétri vides préalablement marquées (N° Echantillon, Date, Dilution), ajouter 15ml de gélose PCA (Plate Count Agar) fondue et refroidie à  $45 \pm 1^\circ\text{C}$ . Afin de bien homogénéiser l'inoculum à la gélose, on effectue des mouvements rotatoires et en 8, ensuite laisser solidifier sur la paillasse. En fin incuber à  $30^\circ\text{C}$  pendant 24-48 heures. (Figure 3.18 a)

**\* Recherche et dénombrement des Coliformes Fécaux (CF) :**

Prendre 1ml des dilutions ( $10^{-4}$ ), ( $10^{-5}$ ), ( $10^{-6}$ ) et le mettre dans des boîtes de Pétri vides préalablement marquées (N° Echantillon, Date, Dilution), ajouter 15ml de gélose VRBL (Violet Rouge Bromocrésol Lactosé) fondue et refroidie à  $45 \pm 1^\circ\text{C}$ . Afin de bien homogénéiser l'inoculum à la gélose, on effectue des mouvements rotatoires et en 8, ensuite laisser solidifier sur la paillasse. Enfin incuber à  $44^\circ\text{C}$  pendant 24-48 heures (pour inhiber la croissance des Coliformes Totaux) (Figure 3.18 b)



Figure 3.18.a : Recherche des GT sur PCA



Figure 3.18.b : Recherche des CF sur VRBL

❖ **Interprétation :**

Le dénombrement des boîtes se fait sur la base de la norme fixée par la législation.

On dénombre la boîte de la dilution ( $10^{-6}$ ) :

- Si la boîte est négative (absence de colonies lenticulaires dans la masse), on dénombre la suivante ( $10^{-5}$ )
- Si la boîte est positive (présence de colonies lenticulaires dans la masse), le nombre retrouvé est multiplié par l'inverse de la dilution (Figure 3.19)

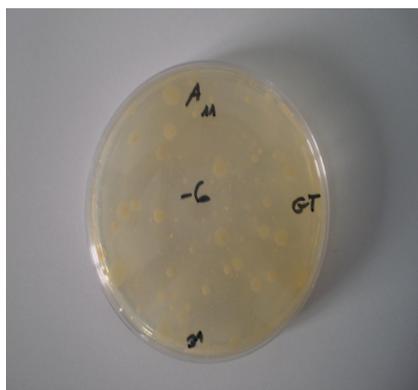


Figure 3.19 : Dénombrement des GT et des CF

\* **Recherche de *Staphylococcus aureus*** : Méthode d'enrichissement sur milieu «Giolliti Cantoni »

Dans un tube à vis stérile ; verser  $\approx 9$ ml du milieu Giolliti Cantoni préalablement additionné de Tellurite de Potassium, ensuite ajouter les 9 ml de la dilution  $10^{-2}$ , homogénéiser la préparation et en fin incuber à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures.

❖ **Lecture :**

Les tubes ayant virés au noir ou présentant un sédiment noir au fond du tube sont supposés positifs (Figure 3.20)



Figure 3.20 : Virage du milieu « Giolliti Cantoni » après incubation

A partir des tubes supposés positifs, faire un isolement sur gélose Chapman ou Baird Parker fondues, coulées en boîte de Pétri, séchées et incuber à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures

✓ **Gélose Chapman :**

- Les boîtes avec colonies blanches avec ou sans fermentation du Mannitol ; sont considérées comme des Staphylocoques non pathogènes (Figure 3.21)

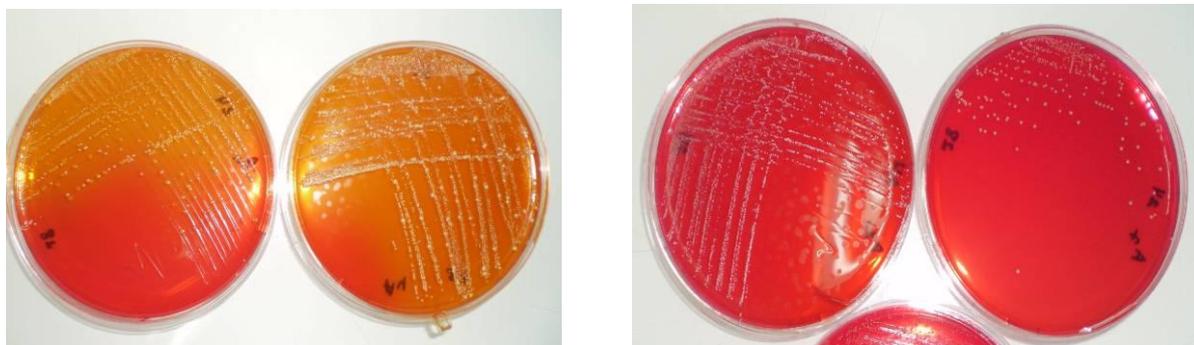
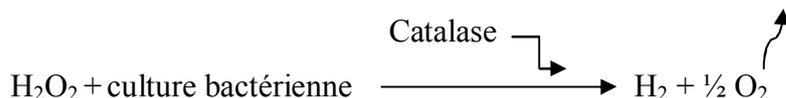


Figure 3.21 : Colonies de Staphylocoques sur Chapman avec ou sans utilisation du Mannitol

- Les boîtes avec colonies pigmentées en jaune avec fermentation du Mannitol qui vire au jaune, feront l'objet de deux autres tests :

// Test de la catalase :

Sur une lame ou boîte de Pétri, déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 Vol, ajouter une colonie préalablement caractérisée sur gélose Chapman, mélanger et attendre quelques minutes avant d'interpréter.



La libération de l'oxygène se traduit par l'apparition de bulles de gaz .

La souche examinée est donc catalase positive (Staphylocoques). (Figure 3.22)

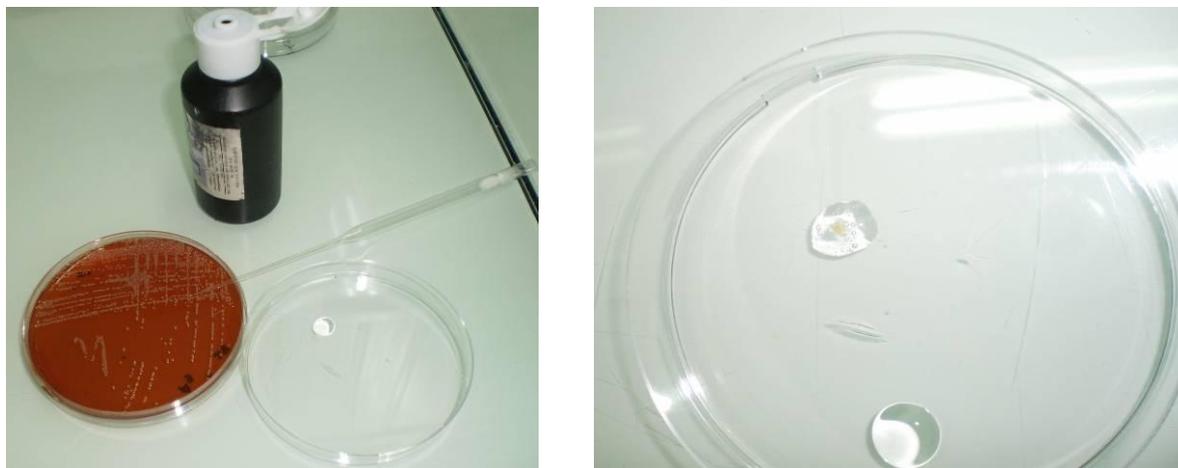


Figure 3.22 : Test de la catalase

// Test de la coagulase :

La Staphylocoagulase est une enzyme qui peut coaguler le plasma de lapin, elle est utilisée pour distinguer le *Staphylococcus aureus* qui possède cette enzyme des autres Staphylocoques qui en sont dépourvus.

Après avoir ensemencer une colonie pigmentée sur bouillon nutritif en tube et incuber à 37°C pendant 24 heures, prélever 0,5 ml du bouillon et déposer dans un tube à hémolyse. Ajouter 0,5 ml de plasma humain ou de plasma de lapin citraté, lyophilisé, reconstitué. Incuber à 30°C pendant 24 heures.

Lorsqu'on observe une prise en masse totale du plasma, le test est considéré positif.

Lorsque les deux tests sont positifs ; Staphylocoque pathogène (SCP)

✓ Gélose Baird Parker :

- Les boîtes avec colonies noires sans lyse des protéines du milieu ; sont considérées comme des Staphylocoques non pathogènes.
- Les boîtes avec colonies de coloration noire avec lyse des protéines du milieu au tour d'elles ; feront l'objet de deux autres tests (Cf : Gélose Chapman) (Figure 3.23)

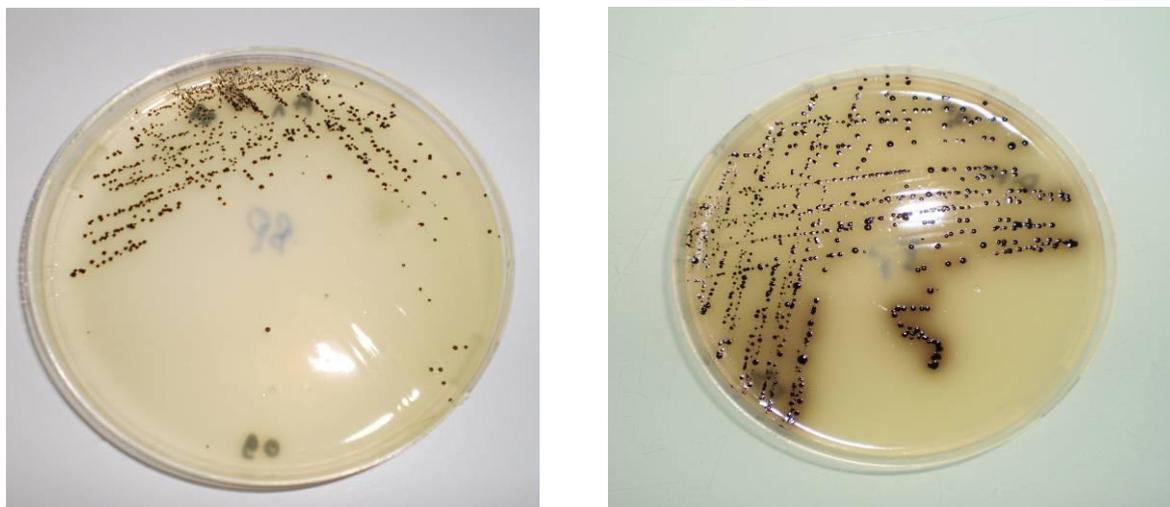


Figure 3.23 : Colonies de Staphylocoques sur Gélose Baird Parker

\* **Recherche des Streptocoques** : Sur milieu sélectif « Rothe S/C »

Dans le tube contenant le milieu sélectif « Rothe S/C » (9 ml), ajouter les 9 ml de la dilution  $10^{-1}$ , homogénéiser la préparation ensuite incuber à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures.

❖ **Lecture** :

Le milieu devient trouble, cela signe la présence d'éventuels Streptocoques. Alors que si le milieu reste inchangé, donc absence de Streptocoques (Figure 3.24 a et b)



Figure 3.24 a : Réaction positive (présence d'éventuels Streptocoques)



Figure 3.24 b : Réaction négative (absence de Streptocoques)

A partir des tubes positifs, effectuer un repiquage sur milieu Eva Litsky (milieu liquide de coloration jaune clair) pour la recherche d'*Enterococcus faecalis*, homogénéiser puis incubé à 30°C pendant 24-48 heures.

La présence et la formation d'une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube signe la présence d'*Enterococcus faecalis* (Figure 3.25)



Figure 3.25 : Formation d'une pastille violette au fond du tube

A partir des tubes supposés positifs, faire un ensemencement en surface sur PCA solide et incubé à 30°C pendant 24-48 heures.

Après croissance des colonies, on procède à la purification des souches de Streptocoques (constituée d'un clone de bactérie) (Figure 3.26)

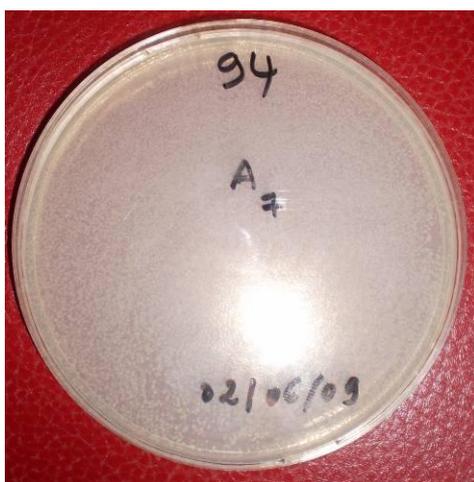


Figure 3.26 : Souche de Streptocoque purifiée

Dans notre étude, quelques souches pures ont fait l'objet d'une étude microscopique (coloration de Gram et l'état frais) pour confirmer la disposition en diplocoque ou le plus souvent en courtes chaînettes des Streptocoques (Gram+) (Figure 3.27)

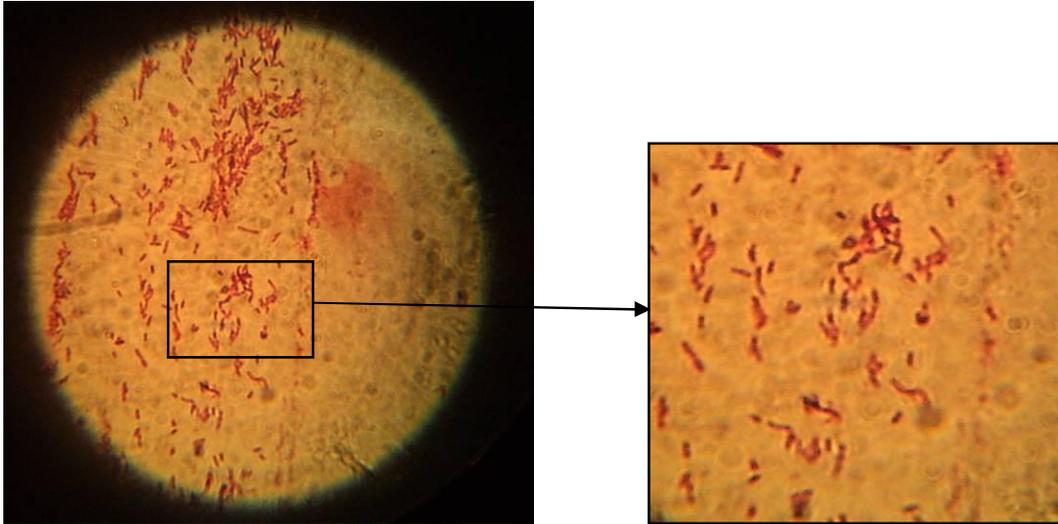


Figure 3.27 : Aspect microscopique d'une colonie de Streptocoque

Après purification des souches, on procède à l'étude biochimique pour l'identification des Streptocoques par l'utilisation des Galerie API 20 Strep.

❖ **Recherche du pouvoir hémolytique :**

La mise en évidence du pouvoir hémolytique se fait sur gélose contenant du sang frais, par l'observation d'une zone d'hémolyse autour des colonies (Figure 3.28).

- Les colonies des Streptocoques hémolytiques s'entourent d'une auréole claire d'hémolyse complète toujours à contour net.
- Les colonies des Streptocoques hémolytiques s'entourent d'un halo étroit d'hémolyse verdâtre incomplète.
- Les colonies des Streptocoques hémolytiques (absence d'hémolyse).

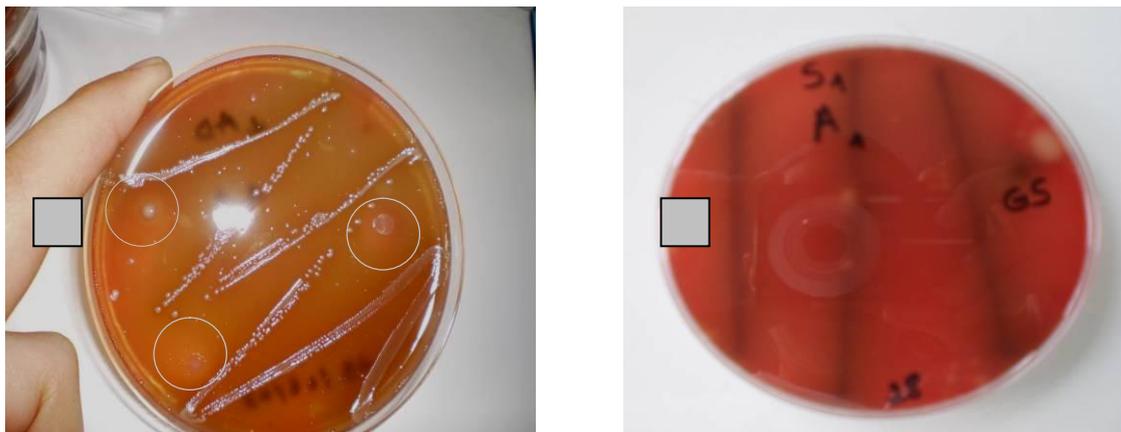


Figure 3.28 : Hémolyse et

❖ **Identification des souches par l'utilisation des Galeries API 20 Strep :**

API 20 Strep est un système standardisé qui permet le diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plus part des Streptocoques, entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants. La galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres (Figure 3.29)



Figure 3.29 : Galerie API 20 Strep

En utilisant un écouvillon, on prélève toute la culture bactérienne préalablement préparée et on réalise une suspension très dense (opacité supérieure à 4 McFarland) dans 2 ml d'eau distillée stérile.

On répartie une partie de cette suspension dans la première moitié de la Galerie alors que le reste est transféré dans l'ampoule d'API GP Medium qui servira à inoculer la deuxième moitié de la Galerie.

On remplit les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de la paraffine, on remet la Galerie à l'intérieur de la boîte d'incubation préalablement remplie d'eau distillée (créer de l'humidité pour éviter la déshydratation du contenu des cupules lors de l'incubation).

On incube à  $36^{\circ}\text{C} \pm 2$  en aérobiose pendant 4 heures à 4h 30 pour une première lecture (on ajoute les réactifs suivants : VP1, VP2, NIN, ZYM A et ZYM B) et 24 heures ( $\pm 2$  heures) si nécessaire pour une deuxième lecture.

La lecture se fait à l'aide du tableau de lecture, sur la fiche des résultats on notera le type d'hémolyse (21<sup>ème</sup> test) (seule la hémolysine est considérée comme positive).

L'identification est obtenue à partir du profil numérique (7 chiffres), elle est réalisée à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (apiweb TM) (Figure 3.30)

### III-4-3/ Analyse Statistique :

Le traitement statistique des données et les représentations graphiques ont été réalisés à l'aide de Logiciel Microsoft Office Excel 2007.

L'analyse statistique a été réalisée à partir des valeurs obtenues et pour les CCS des moyennes par l'application des tests non paramétriques ( $\text{Chi}^2$ , Mann - Whitney) pour la comparaison entre les différents paramètres étudiés.



Figure 3.30 : Etapes d'utilisation de la Galerie API 20 Strep

#### IV-1/ Informations générales :

L'analyse des renseignements à partir des fiches établies pour chaque vache a permis de montrer la répartition du cheptel expérimenté en fonction des critères suivants : la Race, l'Age , le Rang de lactation et le Stade de lactation.

##### ➤ La Race :

Les informations relatives à la répartition du cheptel expérimenté (vache) en fonction de la race sont rapportées dans le tableau 4.1

Tableau 4.1 : Répartition des vaches en fonction de la Race

Race/ Nb	E1		E2	
	Nb	%	Nb	%
<b>HPN</b>	101	75,37	51	70,83
<b>HPR</b>	14	10,45	12	16,67
<b>FLK</b>	2	1,49	6	8,33
<b>MB</b>	17	12,69	3	4,17
<b>Total</b>	<b>134</b>	<b>100</b>	<b>72</b>	<b>100</b>

HPN : Holstein pie noire, HPR : Holstein pie rouge, FLK : Fleckvieh, MB : Montbéliarde

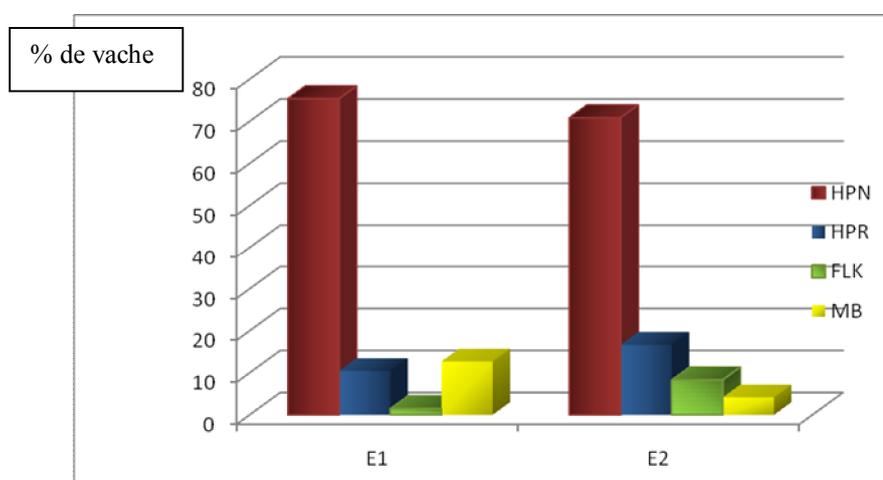


Figure 4.1 : Répartition des vaches en fonction de la Race

Les résultats montrent que :

La Prim'Holstein (HPN) est la race prédominante avec 75,37% (E1) et 70,83% (E2)

➤ L'Age :

L'âge a été calculé à partir du registre de l'exploitation, le tableau 4.2 montre la répartition des vaches en fonction de l'âge.

Tableau 4.2 : Répartition des vaches en fonction de l'âge

Age	E1		E2	
	Nb	%	Nb	%
[2-3]	18	13,43	18	25,00
]3-5]	99	73,88	30	41,67
]5-8[	17	12,69	23	31,94
>8	0	0	1	1,39
<b>Total</b>	<b>134</b>	<b>100</b>	<b>72</b>	<b>100</b>

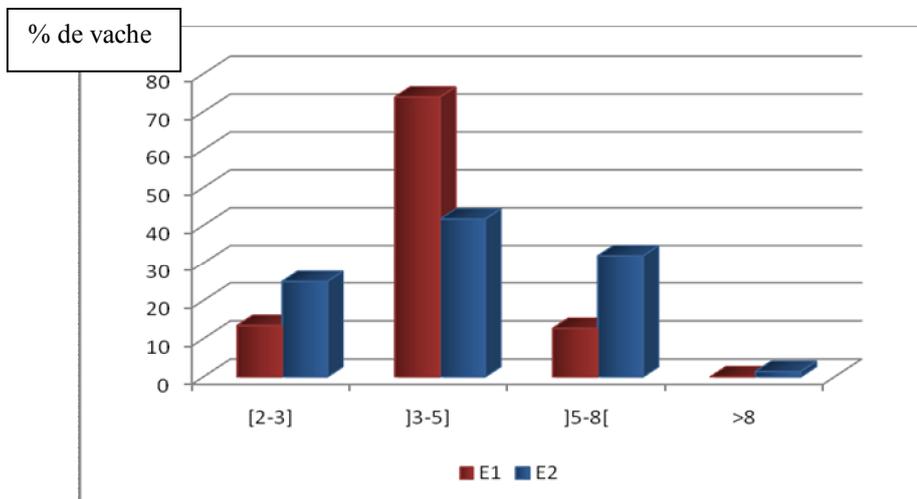


Figure 4.2 : Répartition des vaches en fonction de l'âge

Les résultats montrent que :

l'âge est :

- Compris entre 2 et 3 ans pour 18 vaches, soit 13,43% (E1) et 25% (E2)
- Compris entre 3 et 5 ans pour 99 vaches, soit 73,88% (E1) et 30 vaches, soit 41,67% (E2)
- Compris entre 5 et 8 ans pour 17 vaches, soit 12,69% (E1) et 23 vaches, soit 31,74% (E2)
- Supérieur à 8 ans pour 1 vache, soit 1,39% (E2)

## ➤ Le Rang de lactation :

La répartition du cheptel expérimenté en fonction du rang de lactation est représentée dans le tableau 4.3

Tableau 4.3 : Répartition des vaches en fonction du Rang de lactation

Rang de lactation	E1		E2	
	Nb	%	Nb	%
<b>Primipares</b>	14	10,45	21	29,17
<b>Multipares</b>	120	89,55	51	70,83
<b>Total</b>	<b>134</b>	<b>100</b>	<b>72</b>	<b>100</b>

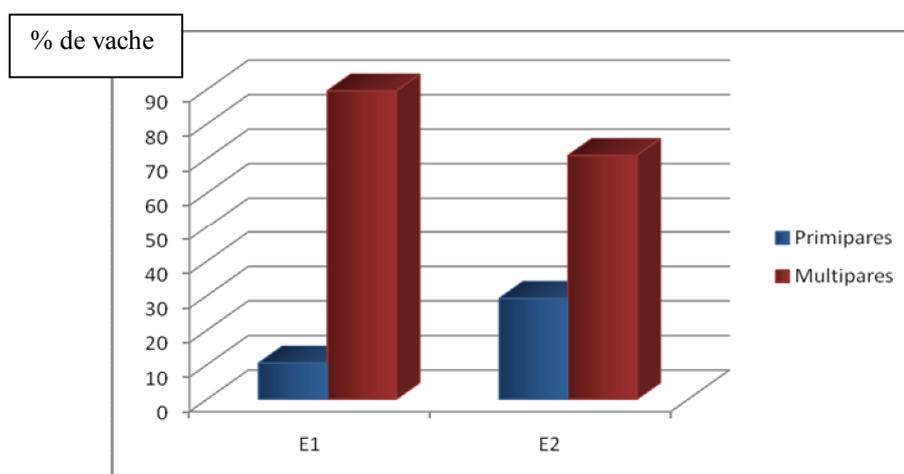


Figure 4.3 : Répartition des vaches en fonction du Rang de lactation

Les résultats montrent pour le rang de lactation que :

- 14 vaches, soit 10,45%(E1) sont primipares contre 21 vaches, soit 29,17%(E2)
- 120 vaches, soit 89,55%(E1) sont multipares contre 51 vaches, soit 70,83%(E2)

➤ Le Stade de lactation :

La répartition du cheptel expérimenté en fonction du stade de lactation est représentée dans le tableau 4.4

Tableau 4.4 : Répartition des vaches en fonction du Stade de lactation

Stade de lactation	E1		E2	
	Nb	%	Nb	%
<b>0-3 mois</b>	14	10,45	15	20,83
<b>4-6 mois</b>	45	33,58	16	22,22
<b>&gt; 7 mois</b>	38	28,36	33	45,83
<b>1 année et plus</b>	28	20,90	7	9,72
<b>Tarie</b>	9	6,72	1	1,39
<b>Total</b>	<b>134</b>	<b>100</b>	<b>72</b>	<b>100</b>

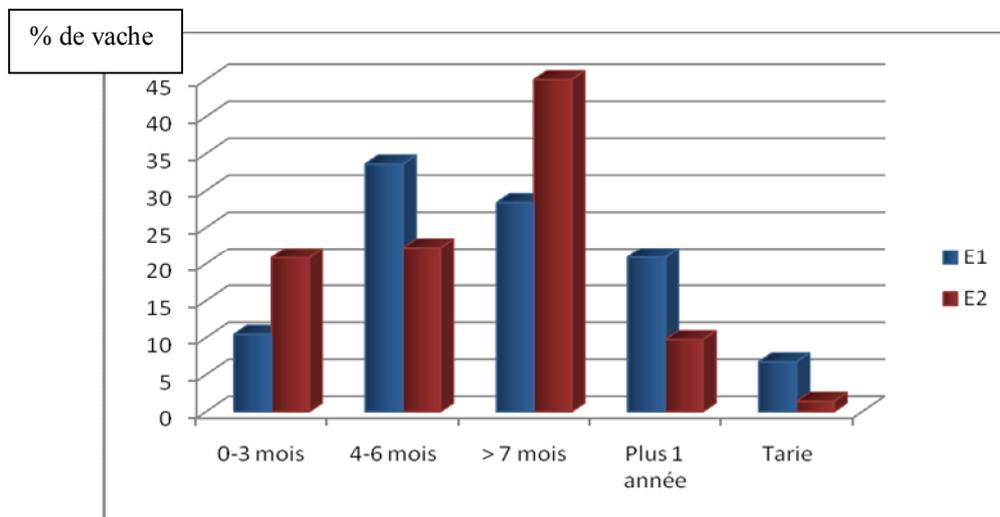


Figure 4.4 : Répartition des vaches en fonction du Stade de lactation

Les résultats montrent pour le stade de lactation que :

- 14 vaches, soit 10,45% (E1) sont en début de lactation contre 15 vaches, soit 20,83%(E2)
- 45 vaches, soit 33,58% (E1) sont en milieu de lactation contre 16 vaches, soit 22,22%(E2)
- 38 vaches, soit 28,36% (E1) sont en fin de lactation contre 33 vaches, soit 45,83%(E2)

- 28 vaches, soit 20,90% (E1) ont une lactation de plus d'une année contre 7 vaches, soit 9,72% (E2)
- 9 vaches, soit 6,72% (E1) sont tarées contre 1 vache, soit 1,39% (E2)

IV-2/ Enregistrement des cas cliniques :

Sur les 166 vaches testées au 1<sup>er</sup> et au 2<sup>ème</sup> passages, la prévalence de mammite clinique (détectée par le bol à fond noir) est représentée dans le tableau 4.5

Tableau 4.5 : Prévalence de mammites Cliniques

Passages/ Exploitations	Mammites cliniques	E1	E2	P
1er passage	Nombre de cas (+)	24	5	
	Total	99	66	
	<b>Prévalence 1</b>	<b>24,24%</b>	<b>7,58%</b>	<b>0,0031</b>
2ème passage	Nombre de cas (+)	41	11	
	Total	95	71	
	<b>Prévalence 2</b>	<b>43,16%</b>	<b>15,49%</b>	<b>0,0003</b>
<b>Prévalence Globale</b>		<b>33,51%</b>	<b>11,68%</b>	<b>0,00012</b>
<b>Prévalence des mammites cliniques</b>		<b>24,47%</b>		

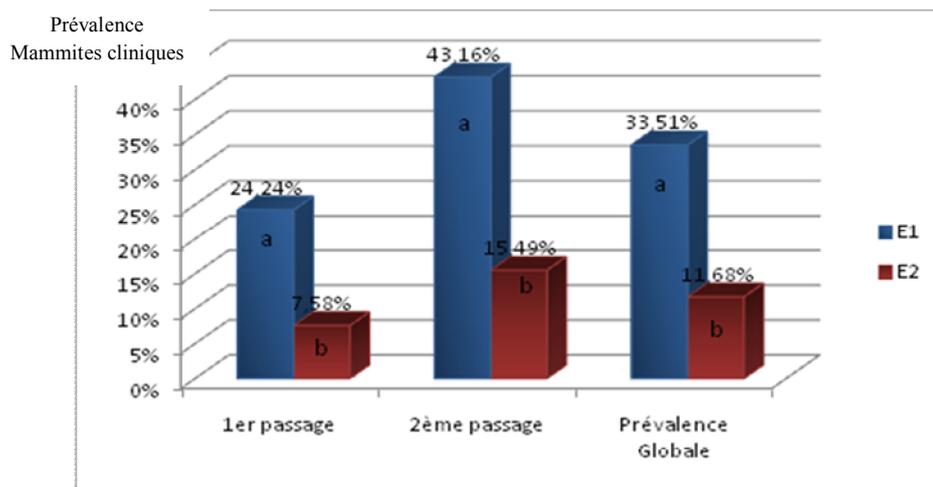


Figure 4.5 : Prévalence de mammites Cliniques

Les résultats montrent que :

\*Dans l'exploitation (E1) : les mammites cliniques sont diagnostiquées chez 24 vaches soit une prévalence de 24,24% au 1<sup>er</sup> passage contre 41 vaches soit une prévalence de 43,16% au 2<sup>ème</sup> passage.

\*Dans l'exploitation (E2) : les mammites cliniques sont diagnostiquées chez 05 vaches soit une prévalence de 7,58% au 1<sup>er</sup> passage contre 11 vaches soit une prévalence de 15,49% au 2<sup>ème</sup> passage.

Ainsi la prévalence globale des mammites cliniques (détectée par le bol à fond noir) est de 33,51% (E1) contre 11,68% (E2) .

#### IV-3/ CMT :

Le test CMT a été réalisé sur les vaches n'ayant pas présenté des signes d'atteinte clinique à l'épreuve du bol à fond noir. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 4.6

Tableau 4.6 : Prévalence d'atteinte des quartiers déterminée par le test CMT

Exploitations	Passages	Nb Quartiers Non Fonctionnels	Nb Quartiers Fonctionnels	Nb de cas CMT positifs	Résultats CMT (Prévalence)	
					CMT (+)	CMT (-)
E1	1 <sup>er</sup> passage	19	281	71	25,27 %	74,73 %
	2 <sup>ème</sup> passage	11	209	69	33,01 %	66,99 %
	<b>Total</b>	30	490	140	<b>28,57%</b>	<b>71,43%</b>
E2	1 <sup>er</sup> passage	18	226	26	11,5 %	88,5 %
	2 <sup>ème</sup> passage	10	230	45	19,57 %	80,43 %
	<b>Total</b>	28	456	71	<b>15,57%</b>	<b>84,43%</b>

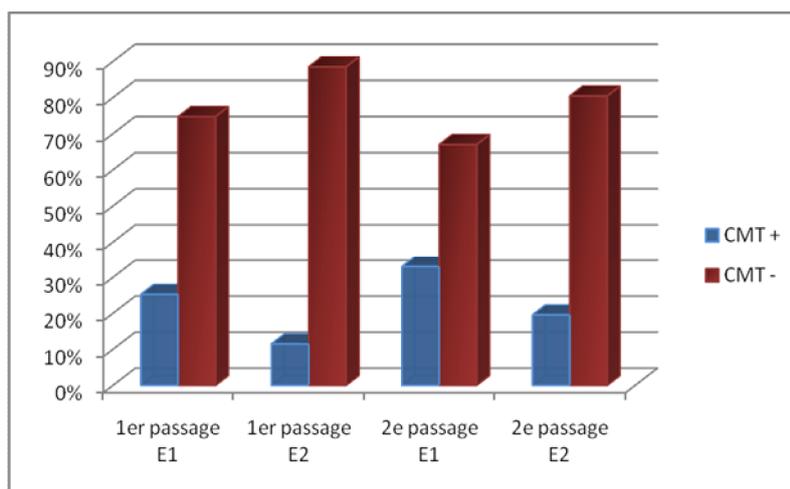


Figure 4.6 : Prévalence d’atteinte des quartiers déterminée par le test CMT

Les résultats montrent que :

Pour l’exploitation (E1) sur un total de 281 quartiers fonctionnels au 1<sup>er</sup> passage, 25,27% se sont avérés positifs à ce test. Alors que sur 209 quartiers fonctionnels au 2<sup>ème</sup> passage, 33,01% d’entre eux sont positifs.

Pour l’exploitation (E2) sur un total de 226 quartiers fonctionnels au 1<sup>er</sup> passage, 11,5% se sont révélés positifs à ce test. Alors que sur 230 quartiers fonctionnels au 2<sup>ème</sup> passage, 19,57% sont positifs.

La fréquence d’atteinte des quartiers CMT (++) et CMT (+++) sont représentées dans le tableau 4.7 pour les deux exploitations.

Tableau 4.7 : Fréquence des CMT (++) et CMT (+++)

Exploitations	Résultats CMT	
	CMT (++)	CMT (+++)
E1	16,28%	28,95%
E2	7,74%	17,31%

## IV-4/ Concentration cellulaire de lait de quartier (CCIQ):

- La répartition des vaches (CMT ++ et +++) en fonction de leur concentration en cellules somatiques (CCIQ) est représentée dans le tableau 4.8

Tableau 4.8 : Répartition des valeurs du taux cellulaire individuel de lait de quartier

CCS (Cellules / ml)	E1		E2		Nb	%
	1 <sup>er</sup> passage	2 <sup>ème</sup> passage	1 <sup>er</sup> passage	2 <sup>ème</sup> passage		
< 300 000	1	2	2	0	<b>5</b>	<b>3,23</b>
300 000 – 800 000	6	12	5	6	<b>29</b>	<b>18,71</b>
> 800 000	43	36	15	27	<b>121</b>	<b>78,06</b>
Total	50	50	22	33	<b>155</b>	<b>100</b>

Les résultats de la concentration cellulaire individuelle de lait de quartier (CCIQ) à partir des prélèvements de lait des 2 passages et dans les 2 exploitations ont montré que les taux moyens varient de 92 750 à 104 800 000 Cellules/ml.

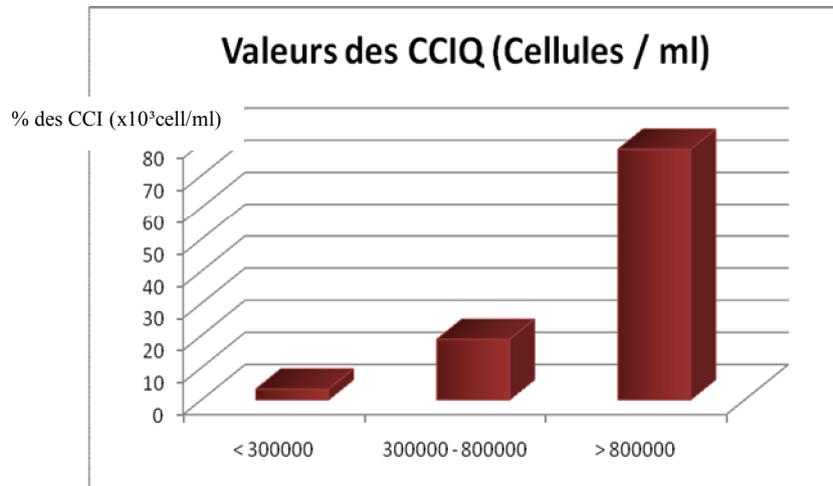


Figure 4.7 : Répartition des valeurs du taux cellulaire individuel de lait de quartier

La répartition des taux obtenus a révélé que :

- 3,23% (n=5) des valeurs sont inférieures à 300 000 cellules /ml.
- 18,71% (n=29) des valeurs sont comprises entre 300 000 et 800 000 cellules/ml.

- 78,06% (n=121) des valeurs sont supérieures à 800 000 cellules /ml.
- Répartition des Concentrations en Cellules Somatiques en fonction des quatre critères :

Tableau 4.9 : Répartition des CCS par rapport à la Race

CCS (Cellules / ml)	HPN	HPR	MB	FLK
< 300 000	2,52	9,09	4,54	0
300 000 - 800 000	19,32	9,09	13,63	66,66
> 800 000	78,15	81,81	81,81	33,33

Tableau 4.10 : Répartition des CCS par rapport à l'âge

CCS (Cellules / ml)	2-3 ans	4-5 ans	6-7 ans
< 300 000	4,16	4,08	0
300 000 – 800 000	25	17,34	18,18
> 800 000	70,83	78,57	81,81

Les tableaux 4.9 et 4.10 montrent respectivement l'effet de la race et de l'âge sur les Concentrations en Cellules Somatiques de lait de quartier (CCS).

Tableau 4.11 : Répartition des CCS par rapport au Rang de lactation

CCS (Cellules / ml)	Primipares	Multipares
< 300 000	5,55	2,91
300 000 – 800 000	33,33	16,78
> 800 000	61,11	80,29

Tableau 4.12 : Répartition des CCS par rapport au Stade de lactation

CCS (Cellules / ml)	0 - 3 mois	4 - 6mois	> 7 mois	1 année et +
< 300000	3,70	5,55	2,94	0
300000 - 800000	11,11	22,22	20,58	17,50
> 800000	85,18	72,22	76,47	82,50

Les tableaux 4.11 et 4.12 montrent respectivement l'effet du rang et du stade de lactation sur les Concentrations en Cellules Somatiques de lait de quartier(CCS).

#### IV-5/ Conductivité électrique du lait de quartier :

La répartition des vaches (CMT ++ et +++) en fonction de leur conductivité électrique est représentée dans le tableau 4.13

Tableau 4.13 : Répartition des vaches en fonction de leurs conductivités électriques

Moyen de dépistage	Valeurs de CE en Unités	Exploitation (E1)		Exploitation (E2)		Total
Conductivité Electrique du lait (CE)	>300 unités	50	100%	63	95,45%	97,41%
	250 – 300 unités	0	0	3	4,54%	2,58%
	< 250 unités	0	0	0	0	0%

Les résultats de la conductivité électrique (CE) montrent que :

\*Pour l'Exploitation E1 ; la totalité des prélèvements (50) ont une valeur de CE > 300 unités.

\*Pour l'Exploitation E2 ; 63 prélèvements, soit 95,45% ont une valeur CE > 300 unités et uniquement 3 prélèvements, soit 4,54% ont une valeur CE comprise entre 250-300 unités.

## IV-6/ Analyse bactériologique:

Les résultats de l'analyse bactériologique des prélèvements de lait qui ont été réalisés sur la base des CMT positifs sont représentés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 4.14 : Nombre de germes isolés par quartier à CMT positif

	Nb de quartiers	Fréquence %
Stériles	6	6,90
1 seul germe	54	62,07
2 espèces bactériennes	27	31,03
Total	87	100

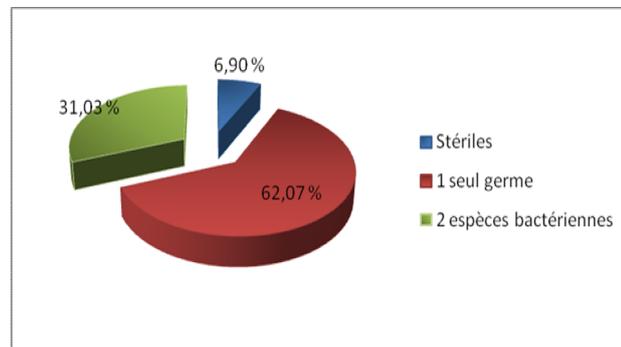


Figure 4.8 : Nombre de germes isolés par quartier

Les résultats montrent que sur les 87 quartiers positifs au CMT, la majorité est atteinte par une seule espèce bactérienne, soit 62,07%. Alors que la fréquence des quartiers atteints par deux espèces bactériennes est de 31,03% et celle des échantillons bactériologiquement stériles est de 6,9%.

Les valeurs du dénombrement des Germes Totaux varient entre  $2 \times 10^3$  et  $10^6$  germes/ml.

Tableau 4.15 : Fréquence d'isolement des germes

Germes	Nb de quartiers	Fréquence %
Staphylocoques	36	44,44
Streptocoques	19	23,46
<i>Aerococcus viridans</i>	6	7,41
Coliformes Fécaux	13	16,05
Souches perdues	7	8,64
Total	81	100

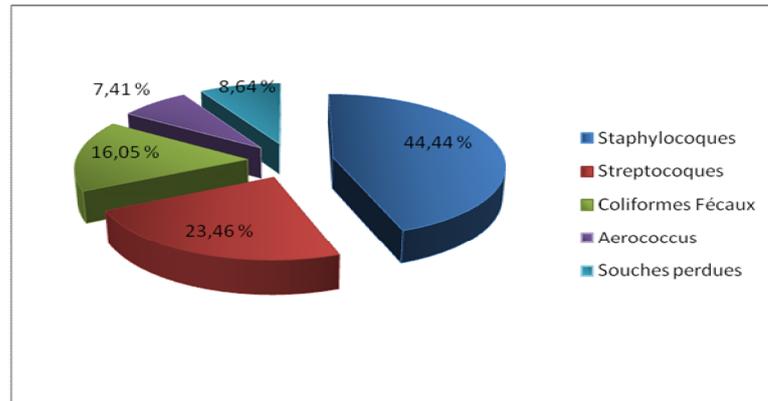


Figure 4.9 : Fréquence d'isolement des germes

Les résultats révèlent la dominance des Staphylocoques avec une fréquence de 44,44% contre 23,46% pour les Streptocoques, suivis par les Coliformes fécaux avec 16,05%.

Il est a noté la perte de 7 souches bactériennes (8,64%) au cours de l'étude, cette perte est due au temps d'attente nécessaire à l'acquisition des galeries Api 20 Strep (contamination fongique).

➤ Fréquence d'isolement des espèces bactériennes appartenant aux Staphylocoques :

Dans notre étude, les Staphylocoques Coagulase Négative (SCN) représentent la totalité de la population Staphylococcique ;qui sont considérés comme pathogènes mineurs. Contrairement aux Staphylocoques Coagulase Positive (SCP) qui n'ont pas été retrouvés et qui sont considérés comme pathogènes majeurs.

➤ Fréquence d'isolement des espèces appartenant aux Streptocoques :

Les espèces appartenant à la famille des Streptocoques retrouvés sont représentées dans le tableau 4.16

Tableau 4.16 : Fréquence d'isolement des espèces appartenant aux Streptocoques

Germes	Nb	Fréquence %
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	5,26
<i>Streptococcus dysgalactiae ssp equisimilis</i>	1	5,26
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	5,26
<i>Streptococcus uberis</i>	4	21,05
<i>Streptococcus bovis II 1</i>	1	5,26
<i>Enterococcus faecalis</i>	7	36,84
Souches non identifiées	4	21,05
Total	19	100

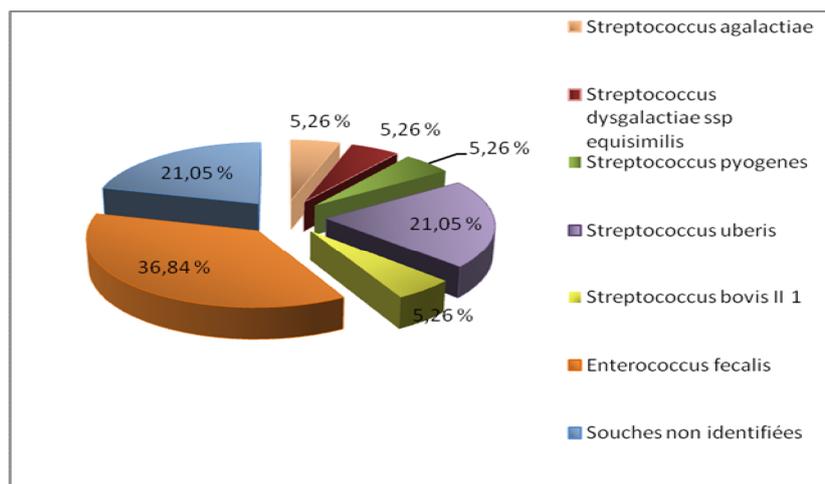


Figure 4.10 : Fréquence d'isolement des espèces appartenant aux Streptocoques

Les résultats montrent que parmi les *Streptococaceae* incriminés dans les mammites bovines, on retrouve *Streptococcus uberis* (21,05%), *Streptococcus bovis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* et *dysgalactiae* avec chacun une fréquence de (5,26%).

Quatre souches appartenant à cette famille n'ont pas pu être identifiées.

➤ Fréquence d'isolement des Coliformes :

Dans notre étude, les coliformes fécaux ont été isolés dans 13 prélèvement à savoir 16,05%.

## V-1/ Informations générales sur le cheptel expérimenté :

En fonction des quatre (4) critères retenus, les résultats montrent que :

La race Holstein pie noire (HPN) est prédominante avec 152 vaches, soit 73,78%, suivie respectivement de l'Holstein pie rouge (HPR) et la Montbéliarde avec 26 vaches (12,62%) et 20 vaches (9,7%) et enfin arrive la Fleckvieh avec 8 vaches, soit 3,88%.

Les vaches âgées de 3 à 5 ans viennent en 1<sup>ère</sup> position avec 62,62%, suivies respectivement de celles âgées de 2 à 3 ans et de 5 à 8 ans avec 17,47% et 19,42%.

Au rang de lactation : la majorité des vaches (83%) sont des multipares, alors que 17% uniquement sont primipares.

L'effectif des vaches qui sont en milieu et en fin de lactation est presque à part égale avec 29,61 et 34,47% respectivement, suivi des vaches en début de lactation (14,07%).

17% des vaches ont plus d'une année de lactation ce qui est anormal, vu que la durée moyenne est de 10 mois. Cela révèle une mauvaise gestion de la reproduction (des écarts vêlage-vêlage très importants qui peuvent avoir différentes raisons) et donc de la production (vaches vides, le non respect du tarissement).

## V-2/ Enregistrement des cas cliniques :

Les résultats de l'examen clinique (Epreuve du bol à fond noir) montrent que :

Pour les deux exploitations et pour les deux passages effectués pendant la durée de l'expérimentation, le taux des mammites cliniques (détectées par le bol à fond noir) est de 24,47%.

Nos résultats se rapprochent de ceux de HORTET et SEEGERS (1998) où ils estiment qu'environ 20% des vaches connaissent au moins un épisode de mammite clinique au cours de leur lactation. FERROUILLET (2004) fixe l'objectif d'avoir moins de 25% de vaches atteintes de mammites cliniques par an et DESCÔTEAUX (2004) est du même avis avec 24%.

Ces taux sont plus faibles par rapport à ceux de DJELLATA (2009) et de KEBBAL (2002) qui les estiment à 35,41% et 31,84% respectivement. Cela peut être expliquer par le fait que

dans notre étude nous avons pris en considération uniquement les mammites avec changement macroscopique de la sécrétion lactée détectées par le bol à fond noir sur les 1<sup>ers</sup> jets de lait.

Par passage, la prévalence des mammites cliniques montre qu'il existe une différence significative entre les deux passages pour la 1<sup>ère</sup> exploitation (E1) avec 24,24% au 1<sup>er</sup> passage contre 43,16% pour le 2<sup>ème</sup>. Ces résultats, sont proches de la moyenne globale par passage estimée par KEBBAL (2002) à 23,66% (min : 19,55% et max : 32,43%).

Alors que pour la 2<sup>ème</sup> exploitation (E2), l'analyse statistique des résultats des cas cliniques ne révèle pas de différence significative entre les deux passages, la prévalence est de 7,58% au 1<sup>er</sup> passage contre 15,59% au 2<sup>ème</sup> passage.

En ce qui concerne l'évolution des mammites cliniques détectées par le bol à fond noir, 11 vaches dépistées positives lors du 1<sup>er</sup> passage se sont révélées encore positives au 2<sup>ème</sup> passage pour l'Exploitation (1) et 1 vache pour l'Exploitation (2), ce qui peut s'expliquer soit par une résistance des vaches aux traitements, soit qu'elles n'ont pas été traitées dès l'apparition des signes cliniques.

Par exploitation, la prévalence des mammites cliniques montre qu'il existe une différence significative entre les passages pour les deux exploitations ( $P < 0,05$ ), il est de même pour la prévalence globale pour les deux exploitations (E1 : 33,51% contre E2 : 11,68%)

### V-3/ CMT :

Sur les 946 quartiers fonctionnels soumis au test CMT, les résultats montrent d'une part que 22,30% des quartiers sont atteints de mammites subcliniques et d'autre part que 6,13% des quartiers sont non fonctionnels. Ces derniers peuvent être dus aux séquelles des mammites cliniques mal soignées ou le plus souvent à des anomalies de développement mammaire, ce qui engendrerait une perte économique importante due à la diminution de la production laitière.

Notre prévalence moyenne est proche de celle rapportée par PHELPS (1989) et LE ROUX (1999) qui varient de 15 à 20%.

Elle est proche aussi de celle rapportée par GHOURI (2006) qui est de 11,66% (chez les primipares) par rapport à l'exploitation E2 (15,57%), et très faible par rapport à sa prévalence

chez les multipares qui est respectivement de 49,73% et de 50% (en fin et en début de lactation) ; Supérieure à celle de KEBBAL (2002) qui est de 13,03% (min : 5,56% et max : 21,62%) et celle de BELKHIRI (1993) qui est de 9,91% et inférieure à celle de ZOUAGUI et al (1995) qui ont trouvé que 31% des quartiers sont atteints de mammites subcliniques dans les Huit (8) exploitations de la région de Meknes (Maroc) (min : 5% et max : 59%).

Par ailleurs, l'analyse de l'évolution des mammites subcliniques entre les deux passages montre une légère fluctuation de ces taux (25,27% - 33,01% pour (E1) et 11,5% - 19,57% pour (E2)) sans pour autant qu'elle soit significative. Elle peut être due à des facteurs intrinsèques (Stade de lactation, rang de lactation) ou extrinsèques (niveau d'hygiène, déroulement de la traite).

Ces différences entre exploitations (28,57% pour E1 et 15,57% pour E2) montrent que les mammites subcliniques peuvent revêtir des aspects différents correspondant à des situations propres à chaque élevage. Ainsi le faible taux enregistré dans l'exploitation E2 pourrait être expliqué par son effectif contrôlable, dans la mesure où les mesures d'hygiène et de prophylaxie sont plus facilement applicables.

#### V-4/ Comptage Cellulaire Individuel de lait de quartier (CCIQ):

- Sur les 155 prélèvements effectués sur la base de CMT positif pour le comptage cellulaire individuel du lait de quartier, les résultats montrent que :
  - 3,23% des quartiers ont une valeur CCS < 300 000 Cellules/ml, et sont donc considérés comme quartiers sains.
  - 18,71% des quartiers ont une valeur CCS comprise entre 300 000 et 800 000 Cellules/ml, et sont donc considérés comme douteux.
  - 78,06% des quartiers ont une valeur CCS > 800 000 Cellules/ml, et sont donc considérés comme quartiers infectés durablement. Ces résultats sont proches de ceux de JACQUINET (2009) qui a trouvé 26 cas/ 32 (81,25%) qui ont une valeur CCS > 800 000 Cellules/ml (quartiers infectés).

Alors que les valeurs du taux cellulaire individuel moyen estimées par GHARBI (2002) sont de 36% inférieures à 300 000 Cellules/ml et 64% supérieures à 300 000 Cellules/ml (52,5% comprises entre 300 000 et  $10^6$  et 12% supérieures à  $10^6$  Cellules/ml).

L'analyse statistique de nos résultats montre qu'il existe une différence significative entre les valeurs des trois catégories du Comptage Cellulaire ( $P < 0,05$ ). Ce qui montre que les seuils de 300 000 et 800 000 cellules permettent une bonne discrimination des quartiers (vaches) infectés et non infectés durablement par des pathogènes majeurs.

➤ Répartition des Concentrations en Cellules Somatiques en fonction des quatre critères :

Le nombre de cellules somatiques est sujet à des variations d'ordre physiologique selon le stade de lactation, la race et le rang de lactation (LE PAGE, 1999).

En absence d'infection mammaire (clinique ou subclinique), les concentrations cellulaires de lait de quartier varient selon une courbe de lactation inversée, qui peut suggérer l'intervention d'un phénomène de dilution du nombre des cellules dans un volume de lait plus au moins grand.

Le rang de lactation, présente une influence spécifique puisque le niveau d'infection des quartiers augmente également avec l'âge (temps passé à la ferme) (SERIEYS, 1985)

L'analyse statistique des résultats montre :

- L'existence d'une influence significative de la race (HPN et HPR – HPN et MB), et de l'âge (4-5 et 6-7 ans) sur les CCS ( $P < 0,05$ ).

Cet effet race peut être dû à une fréquence plus élevée de mamelles infectées chez les Holsteins, en relation avec des caractéristiques physiques des trayons (canal du trayon large) plus favorables à la pénétration des microbes. Et qui selon des auteurs cela est complètement indépendant de son niveau de production laitière (SERIEYS, 1985) (COULON et al, 1996).

En ce qui concerne l'âge, les taux cellulaires élevés rencontrés chez les vaches âgées auraient été dus à la baisse des défenses naturelles au niveau de la glande mammaire. Le canal du trayon devient plus dilaté après chaque lactation, prédisposant davantage la vache aux infections mammaires (GAMBO et ETCHIKI, 2001).

-Le rang de lactation n'a pas d'influence significative sur les CCS, par contre le stade de lactation (0-3 et 4-6mois) présente une influence significative sur les CCS ( $P < 0,05$ ). Nos résultats sont similaires à ceux de TRAORE et al (2004) concernant le rang de lactation alors que les travaux de GAMBO et ETCHIKE (2001) ont mis en évidence l'effet significatif du rang de lactation et du stade de lactation.

Certains auteurs attribuent l'élévation du taux cellulaire du début de lactation à la perte excessive des cellules épithéliales dans un volume réduit de lait suite à la reprise l'activité de la glande mammaire après une période de repos. Tandis que le taux cellulaire élevé de la fin de lactation aurait été dû à l'augmentation de la concentration cellulaire dans un faible volume de lait suite à une baisse physiologique de la fin de lactation (MILLET, 1988) (ELVINGER et NATZKE, 1992).

#### V-5/ Conductivité électrique du lait de quartier :

Sur les 116 prélèvements effectués sur la base de CMT positif pour l'estimation de la conductivité électrique du lait de quartier, les résultats montrent que :

\*Pour l'Exploitation E1 ; la totalité des quartiers prélevés (50) sont considérées comme sains.

\*Pour l'Exploitation E2 ; 63 quartiers, soit 95,45% sont considérées comme sains et uniquement 3 quartiers, soit 4,54% sont considérées comme douteux. Nos résultats sont très faibles par rapport à ceux annoncés par KEBBAL (2002) qui estime la fréquence moyenne des vaches douteuses à 64,57% (min : 10,37% et max : 88,89%). Selon le même auteur, la fréquence moyenne des vaches malades (atteintes de mammites cliniques) est seulement de 5,29%. Il explique ce faible taux par le faite que cet appareil soit conçu pour le diagnostic des mammites subcliniques. Alors que pour notre étude qui porte sur le dépistage des mammites subcliniques, le même appareil n'a donné aucun résultat positif concernant les quartiers infectés ( $< 250$  unités).

En utilisant le même type d'appareil, JACQUINET (2009) estime la fréquence des quartiers infectés à 51,85% (14 cas/27).

#### V-6/ Analyse bactériologique:

➤ Sur les 87 prélèvements effectués sur la base de CMT positif pour l'analyse bactériologique du lait de quartier, les résultats montrent que :

\* Les prélèvements bactériologiquement négatifs (Stériles) sont retrouvés aussi bien en début qu'en fin de lactation, avec une fréquence de 6,9%.

Nos résultats concordent avec ceux annoncés par GHOURI (2006) (8,75% de mammites subcliniques) et GHARBI (2002) (7,5% « lait de Tank ») qui ont travaillé sur des élevages de la région de la Mitidja.

D'autres études algériennes portant cette fois-ci sur les mammites cliniques rapportent des fréquences de prélèvements stériles plus élevées de 26,13% pour BELKHIRI (1993) et de 23,08% pour BEROUAL (2003).

Notre fréquence de prélèvements stériles est proche de celle de BERG (2001) qui est de 10% pour les mammites subcliniques, toutes-fois elle est faible de celles obtenues par FABRE et al (1997), ZOUAGUI et al (1995), HANZEN (2008), NOIRETERRE (2006) et ROY et al (2007) qui est de 52,7%, 44%, 30%, 25 à 30% et 23,3% respectivement.

L'Explication de l'absence d'isolements de germes dans les prélèvements de lait dont le quartier présentait un CMT positif peut être due à :

- La variabilité d'excrétion des germes dans le lait,
- La perturbation de la croissance des germes en cause par des contaminants exogènes,
- Aux conditions d'acheminement et de conservation du prélèvement : selon des études ; la congélation (-20°C) diminue le nombre des entérobactéries (E.coli) contrairement à celui des Staphylocoques (paroi constituée d'un important peptidoglycane), qui peut même augmenter, cette dernière est due aux forces de cisaillement provoquées par la congélation dissociant ainsi les « grappes » de Staphylocoques (POUTREL, 2008),
- Traitement Antibiotique modifiant considérablement le tableau bactériologique (HANZEN, 2008)

- Certains états inflammatoires de la mamelle peuvent ne pas s'accompagner de la présence d'un pathogène,
- Techniques de bactériologie utilisées sont insuffisantes pour l'isolement des germes fragiles difficilement cultivables sur milieu ordinaire (exigence de milieux spéciaux) comme c'est le cas des Mycoplasmes.

\* Sur les 81 prélèvements positifs, la majorité (62,07%) est atteinte par un seul germe, le reste c'est-à-dire 31,03% sont atteints de deux espèces bactériennes. Ces résultats sont proches de ceux de GHOURI (2006) qui estime la fréquence d'atteinte des quartiers par un seul germe entre 60 à 75% et celle des quartiers atteints par deux espèces bactériennes entre 25 à 33,68% selon le stade de lactation.

Nos résultats sont inférieurs à ceux de FABRE et al (1991) qui estiment la fréquence des quartiers infectés par une seule espèce bactérienne à 87%.

- Sur les 81 quartiers dont la culture est positive, la majorité est représentée par les Staphylocoques avec une fréquence de 44,44% suivie des Streptocoques avec 23,46% et enfin les Coliformes avec 16,05%.

Nos résultats sont proches de ceux annoncés par l'enquête sur les mammites menée par le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (2002) en ce qui concerne la fréquence des Staphylocoques (48,4%), mais sont supérieurs concernant la fréquence des Streptocoques (10,8%) (BOUGHALEM, 2009).

- Les résultats bactériologiques de notre étude placent les SCN comme les agents étiologiques Staphylococciques les plus fréquemment rencontrés dans les infections mammaires avec une fréquence de 44,44% contrairement aux SCP où on n'a rencontré aucun cas.

Ces résultats sont proches de ceux de GHOURI (2006) avec une fréquence de 33,33% de SCN sur le total des germes isolés chez les primipares, mais sont inférieurs à ceux obtenues par Ben Hassen et al (2003) avec une fréquence de 79,7% pour les SCN contre 17,5% pour les SCP.

La fréquence d'isolement des SCN (44,44%) est légèrement supérieure à celle de FABRE et al (1997), GHOURI (2006) et BELKHIRI (1993) qui est de 41%, 34,78% et 30,18% respectivement. Et supérieure à celle rapportée par l'enquête Québécoise portant sur 67642 examens dont 63% de culture positive (16,5% SCN) (HANZEN, 2008)

Différents auteurs rapportent que les SCN induisent des taux cellulaires élevés dans le lait et sont responsables de mammites subcliniques (48% des vaches sont infectées en début de lactation par SCN) . Ils étaient auparavant considérés comme peu importants dans le cadre des mammites bovines, d'ailleurs désignés par pathogènes mineurs. Cependant, les recherches effectuées au cours des 10 dernières années font apparaître l'importance des SCN en tant que germes pathogènes, responsables de plus en plus de mammites (FABRE et al, 1991) (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

Le nombre élevé de SCN serait dû aux mauvaises conditions d'hygiène de la traite, plusieurs travaux montrent que l'application d'une désinfection des trayons contribue à la diminution de la prévalence des SCN.

Différentes études, montrent que les SCP sont incriminés à des fréquences différentes dans les mammites bovines :

En Algérie : GHOURI (2006), BELKHIRI (1993), BEROUAL (2003) rapportent des fréquences de 13,53%, 18,85% et 26,67% respectivement.

Ailleurs : BERG, 2001 et FABRE et al, 1997 rapportent des fréquences de 10% et 26% respectivement.

Parmi les SCP, *Staphylococcus aureus* est l'espèce dominante, il est isolé à des fréquences de 77,33%, 78,57%, 80% (GHARBI, 2002) (GHOURI, 2006) (BELKHIRI, 1993).

ZOUAGUI (1995) l'estime à 24,8% et BRADLEY (2004) à 14% (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

Il est prouvé que les SCN exerce sur la mamelle un effet protecteur contre *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* et *Staphylococcus aureus*. Ce qui peut être une des explications de l'absence de *Staphylococcus aureus* dans notre étude (GUERIN et GUERIN-FAUBLEE, 2007).

L'autre explication pourrait être la variation d'excrétion du *Staphylococcus aureus* au cours du temps, elle est inversement proportionnelle à celle des polynucléaires neutrophiles (recrutés pour s'opposer à la multiplication des bactéries) (POUTREL, 2008).

➤ Fréquence d'isolement des espèces appartenant aux Streptocoques :

La fréquence d'isolement des Streptocoques montre que parmi les *Streptococaceae* incriminés dans les mammites bovines, on retrouve *Streptococcus uberis* (21,05%), *Streptococcus agalactia* et *dysgalactiae*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus pyogenes* avec chacun une fréquence de (5,26%). Nos résultats sont proches de ceux de SERIEYS (2003) avec 20 à 25% de mammites subcliniques dues à *Streptococcus uberis*, mais sont supérieurs à ceux de GHARBI (2002) avec uniquement 3,66% (max : 6% de *Streptococcus uberis*) et ceux de HANZEN (2008) avec 16,54% et 4,9% de *Streptococcus uberis* (selon les deux enquêtes : française portant sur 5485 souches et Québécoise portant sur 67642 examens).

La fréquence des résultats des autres Streptocoques (5,26%), est proche de celle de HANZEN (2008) pour *Streptococcus agalactia*, *dysgalactiae* et *bovis* avec 6,82%, 8,15% et 1,24% respectivement (selon l'enquête française portant sur 5485 souches); et plus faible par rapport à celle de ZOUAGUI (1995) qui l'estime à 33,51% (Streptocoques hémolytiques).

Le taux élevé de *Streptococcus uberis* montre encore une fois la prédominance des germes dits environnementaux.

Les faibles taux de *Streptococcus agalactia* et *Streptococcus dysgalactiae* peuvent être dus à l'emploi de traitement antibiotique au tarissement.

➤ Fréquence d'isolement des Coliformes :

Dans notre étude, l'appellation coliformes désignant *Escherichia coli* (pathogène majeur), est de 16,05%; proche de celle rapportée par FABRE et al (1997) qui est de 18% et faible par rapport à celle de GHARBI (2002) qui est de 4% (max : 9%). Cette fréquence peut être due aux conditions de propreté de l'animal (arrière train et mamelle souillés).

## Conclusion

Les mammites constituent une des pathologies majeures de l'élevage bovin laitier, de part leurs fréquences élevées et les pertes qu'elles induisent.

Plusieurs méthodes existent pour diagnostiquer les formes cliniques, et dépister les formes subcliniques.

Dans notre étude, La mammite clinique (cas détectée par le bol à fond noir) a atteint un taux moyen de 24,47%, il faut souligner que certaines vaches se sont avérées positives aux deux contrôles, ce qui peut s'expliquer par la résistance aux traitements des germes en cause.

La proportion des quartiers présentant un CMT positif est un bon indicateur de la prévalence des mammites subcliniques (22,30%).

Pour ce qui est du suivi des comptages cellulaires, il reste le meilleur indicateur du niveau d'infection de la mamelle et donc du troupeau, puisque il nous a permis une bonne répartition des quartiers infectés et non infectés durablement par un pathogène majeur. Contrairement au test de Conductivité Electrique du lait, qui ne nous a pas été d'une grande utilité vu le taux très faible de détection (surtout concernant les vaches douteuses et malades).

Selon des études publiées, il n'existe pas à l'heure actuelle d'appareil capable de détecter efficacement les mammites subcliniques sur la simple valeur de la conductivité électrique ponctuelle du lait par rapport aux comptages cellulaire ou au test CMT. Cela est dû essentiellement aux facteurs non infectieux qui peuvent intervenir en faussant les résultats.

D'une manière générale, les conductimètres portatifs sont plus fiables pour affirmer qu'un quartier est sain plutôt qu'infecté.

Concernant l'analyse bactériologique, nos résultats ont révélé la dominance des germes à réservoir environnemental avec une fréquence de 44,44% pour les Staphylocoques Coagulase Négative, *Streptococcus uberis* avec 21,05% et suivis des coliformes avec 16,05%.

Malgré les avantages pratiques des conductimètres portatifs, ils ne peuvent prétendre au remplacement du test CMT du point de vue de l'efficacité, de la facilité et la rapidité d'utilisation et sans doute du coût, ni du Comptage des Cellules Somatiques du lait qui reste le meilleur indicateur du niveau d'infection de la mamelle et ce après la bactériologie qui est considérée comme la méthode de référence en mettant en évidence l'agent causal.

## Recommandations

Au cours de notre étude, nous avons relevé diverses contraintes d'ordre sanitaire et technique.

Nous préconisons les mesures suivantes :

- Appliquer les mesures d'hygiène adéquates, particulièrement lors de traite (lavage et séchage des trayons), en insistant sur l'usage unique des lavettes et serviettes. Après la traite procéder au post- trempage des trayons pour éviter la pénétration de germes dans le canal du trayon encore ouvert.
- Respecter l'ordre de traite.
- Nettoyage et désinfection du matériel de traite (machine, ustensiles de traite) après chaque utilisation.
- Traitement systématique des mammites cliniques dès leurs apparitions en respectant les règles de base (traitement antibiotique précoce, massif et soutenu effectué après des traites complètes, nettoyage et désinfection du trayon des quartiers à traiter)
- Respect du délai d'attente des antibiotiques avant la commercialisation du lait afin d'éviter les antibio-résistances chez les consommateurs d'une part et d'autres part la perturbation des industries fromagères.
- Vulgariser l'utilisation régulière du CMT sur les quartiers de toutes les vaches en lactation pour dépister précocement les cas subcliniques et pour contrôler la guérison après traitement.
- Réforme des vaches incurables ou à mammites récidivantes (réservoirs de germes) et à quartiers non fonctionnels (éviter le manque à gagner).
- Vulgariser l'utilisation du comptage cellulaire comme moyen de dépistage systématique et régulier dans un programme de lutte contre les mammites.
- Respecter la période de tarissement pour optimiser la lactation suivante
- Assurer un bon planning de reproduction pour atteindre les objectifs souhaités de production.
- Dans le but d'améliorer la production laitière nationale, en agissant sur les mammites subcliniques, il serait souhaitable d'élargir la recherche sur d'autres régions d'Algérie.

## *Références Bibliographiques*

- **Abric J. L et Serieys F. 2001.** Traitement en lactation des mammites subcliniques de la vache laitière : Efficacité de l'association cloxacilline-gentamycine et d'un traitement complémentaire par les AINS. GTV N° 12 Septembre- Novembre 2001 : 59-64
- **Alais C. 1984.** Science du lait. Sépaic. Paris.
- **Alexandre A. 2005.** Utilisation des comptages cellulaires dans la comparaison de deux préparations hors lactation. Thèse ENV Lyon. 88p.
- **Anonyme. 2005.** Delaval. Anatomie de la glande mammaire. Page Web.
- **Badinand F. 1994.** Maîtrise du taux cellulaire du lait. Recueil de médecine Vétérinaire, numéro spécial : qualité du lait, 491-427.
- **Badinand F. 2001.** Cours de pathologie de la reproduction ENV Lyon.
- **Bareille N ; Fourichon C.H ; Beaudeau F et Seegers H. 2004.** Les facteurs de risques des mammites : Etat des lieux dans 237 exploitations laitières des pays de la Loire. Dossier spécial : Hygiène de la mamelle et traitement des mammites, Bulletin des GTV N° 24.
- **Barone R. 1990.** Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 4 : Splanchnologie II. 449-465.
- **Belkhiri A. 1993.** Contribution à l'étude étiologique des mammites, des qualités des laits et mise en œuvre d'un plan de prophylaxie. Mémoire pour le diplôme d'ingénieur en Agronomie, Université de Blida. 150p.
- **Ben Hassen S ; Messadi L et Ben Hassen A. 2003.** Identification et caractérisation des espèces Staphylococciques isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammites. Ann. Méd. Vét. 147, 41-47.
- **Berg C. 2001.** Infections intra-mammaires des vaches laitières en fin de lactation : Nature et sensibilité aux antibiotiques des bactéries pathogènes isolées. Thèse de doctorat vétérinaire, ENV Nantes. 101.
- **Beroual K. 2003.** Caractérisation des germes d'origine bactérienne responsables des mammites bovines dans la région de la Mitidja. Mémoire de Magister, ISV, Université de Blida. 134p.
- **Berthelot X et Bergonier D. 2001.** Fiche diagnostic bactériologique des mammites : pourquoi, comment et qu'en attendre ? Bulletin des GTV N°12 Septembre- Octobre 2001 : 31-33

- **Billon P ; Menard J. L ; Berny F et Vaudin V. 2001.** La détection des mammites par la mesure de la conductivité électrique du lait. Bulletin des GTV N° 12 Septembre- Novembre 2001 : 35-39.
- **Blood D. C et Henderson J. A. 1976.** Médecine Vétérinaire. Edition Vigot Frère. Paris, 14 : 293-333
- **Bouchard E. 2003.** Cours de pathologie mammaire, Faculté de Médecine Vétérinaire de Montréal.
- **Boudry B. 2005.** Traire un lait de qualité: Attention de tous les jours. Qualité de lait et gestion du troupeau. Journée d'étude des AREDB d'Aubel de Herve- Fléron- Visé et de Montzen et de la région Wallonne- DGA- Direction du Développement et de la Vulgarisation. Henri Chapelle le 29 Novembre 2005 (13P).
- **Boughalam K. 2009.** Situation et programme de surveillance et de contrôle de la Brucellose, de la Tuberculose et les mammites. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
- **Bradley. 2004.** In Guerin et Guerin- Faublee. 2007
- **Brouillet P et Raguet Y. 1990.** Logement et environnement des vaches laitières et qualité du lait. Bulletin des GTV N°4 : 13-33.
- **Cauty I ; Perreau J. 2003.** La conduite du troupeau laitier. Edition France Agricole : 49-62.
- **Coulon J-B ; Dauver F et Garel J-P. 1996.** Facteurs de variation de la numération cellulaire du lait chez des vaches laitières indemnes de mammites cliniques. INRA. Prod. Anim, 9 (2), 133-139.
- **Crapelet C et Thibier M. 1973.** La vache laitière, Edition Vigot Frère. Paris. 647-656.
- **Craven N et Williams M. R. 1985.** Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement. Vet Immunol. Immunopath 10 : 71-127
- **Cullen G. A. 1965.** The use of electric counters for determining the number of cells in milk. Vét Rec, 17, 858.
- **Derivaux J et Ectors F. 1980.** Physio-pathologie de la gestation et obstétrique vétérinaire. Edition du Point Vétérinaire,123-130
- **Descôteaux L. 2004.** La mammite clinique : Stratégies d'intervention. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ (centre de référence et d'agroalimentaire du Québec). Jeudi 21 Octobre 2004. Hôtel des Seigneurs, Saint-Hyacinthe. 23p.
- **Djabri B ; Bareille N ; Beaudreau F ; et Seegers H. 2002.** Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. Vet. Res. 33: 335-357

- **Djellata N. 2009.** Approche préliminaire du contrôle sanitaire laitier et facteurs de risqué dans quelques élevages de la région de la Mitidja. 114p.
- Dosogne H., Arendt J., Gagrial A. et Burvinich C. 2000.** Aspect Physiologique Maladie dans l'exploitation : 51-59.
- **DSV- MADR. 2010** : Sous direction des filières animales. Evolution des effectifs et de la production laitière.
- **Eicher R ; Sutter-Lutz B et Germer L. 2002.** Contrôler les mammites à *Staphylococcus aureus*. Le Point Vétérinaire N° 228 Septembre 2002 : 50-54.
- **Elvinger F et Natzke R.P. 1992.** Elements of mastitis control. Large dairy herd management. Am. Dairy. Scien. Assoc., 440-447.
- **Fabre J.M ; Berthelot X ; Lebret P ; Blanc M.F et Blanc M.C. 1991.** Estimation de la fréquence des différents germes responsables d'infection mammaires en élevage bovin laitier dans le sud-ouest de la France. Rev. Méd. Vét. 142, 823-829.
- **Fabre J. M; Morvan H; Lebreux B; Houffscmitt P et Berthelot X. 1997.** Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France. Bulletin des GTV.5-B- 573, 9-15.
- **Fabre J. M ; Berthelot X ; Bouquet E ; Bousquet G ; Laumonier G et Seegers H. 1999.** Traitements en parallèle. Bulletin des GTV N°1 mai 1999 : 49-58.
- **Faroult B. 1998.** Stratégies de traitement des mammites cliniques chez la vache laitière ? Bulletin GTV N°5 : 27-33.
- **Ferrouillet C; Bouchard E et Carrier J. 2004.** Diagnostic indirect des mammites subcliniques. Le Point Vétérinaire N° 248. Août-Septembre 2004.
- **Fisher J. M. 1991.** Conséquences des mammites subcliniques bovines sur la quantité et la qualité du lait dans un grand troupeau. Thèse de doctorat Vétérinaire ENV Alfort. 51p.
- **Gambo H et Etchike C Agnem. 2001.** Dépistage des mammites subcliniques chez des vaches Goudali en lactation au nord Cameroun. Revue. Elev. Med. Vet. Pays trop, 54 (1) : 5-10.
- **Gharbi I. 2002.** Essai de dépistage des mammites au moyen d'un coulter counter : Etude préliminaire dans la région de la Mitidja. Thèse de Magistère. Université Saad Dahlab de Blida. 135p.
- **Ghoury I. 2006.** Etude des mammites subcliniques avec suivi des vaches pendant le tarissement dans la région de la Mitidja. Thèse de Magistère. Université de Blida. 200p.

- **Grappin P et Jeunet R. 1971.** Essais de l'appareil compteur coulter utilisé pour la détermination du nombre total des laits de troupeaux. INRA Station expérimentale laitière (39) Poligny. Extrait de la Revue « le lait », 273-293.
- **Grappin P et Jeunet R. 1974.** Premiers essais de l'appareil Fossomatic pour la détermination automatique des numérations des cellules du lait, 54 : 624-644.
- **Guerrin P ; Guerrin Faublée. 2007.** Les mammites de la vache laitière. ENV Lyon. Page Web et pdf. [www.vet-lyon.fr/ens/path-mam/](http://www.vet-lyon.fr/ens/path-mam/)
- **Hanzen C. H. 1999.** Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière. Aspects individuelles et d'élevage. 163.
- **Hanzen C. H. 2000.** Propédeutiques et pathologies de la reproduction mâle et femelle, biotechnologie de la reproduction et pathologie de la glande mammaire. 4<sup>ème</sup> Edition, Université de Liège.
- **Hanzen C.H. 2008.** Propédeutique de la glande mammaire : Approche individuelle. (Avec la collaboration de Pluvinage P. Assistant). 1-18.
- **Hollmann K. H . 1974.** Cytologic and fine structure of the mammary gland. In Larson B. L and Smith V. R (eds) Lactation J. A. Comprehensive Treatise. Academic press: New York. 93- 95
- **Hortet P et Seegers H. 1998.** Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. Prev. Vet. Med. 37: 1-20.
- **Jacquinet S.A. 2009.** Evaluation du dépistage des mammites par la conductivité électrique du lait. Thèse ENV Toulouse. 134p.
- **Kebbal S. 2002.** Méthodes de diagnostic des mammites et facteurs de risque. Enquête dans la région de la Mitidja. 144p.
- **Kremer et al. 1990.** In Guerrin et Guerrin Faublée.
- **Le Fol P. 1990.** Inflammation mammaire et production lactée : enquête dans un grand troupeau laitier de la région parisienne. Thèse de Doctorat Vétérinaire ENV Alfort. 100p.
- **Le Page P. H. 1999.** Les cellules du lait et de la mamelle. Cellules somatiques du lait. Journées Nationales des GTV INRA Nantes (26-27 et 28 mai 1999).
- **Le Roux Y. 1999.** Les mammites chez la vache laitière; Diagnostic et contrôle de la Sécrétion laitière par la mamelle bovine. Inn, Med, Vét., 144: 357-382.
- **Lebret P ; Berthelot X et Petit C. 1990.** Connaissances fondamentales. Les infections mammaires de la vache laitière.
- **Lerondelle C. 1985.** Les mammites à *Streptococcus uberis*. Rec. Méd. Vét. Tome 161. N° 6-7.

- **Lhemie G. 2008.** Traitement en lactation des infections intra mammaires subcliniques : pertinence économique et thérapeutique . bulletin des GTV N° 46 Octobre 2008 : 65-68.
- **Mariani S. 2004.** Effets des infections bactériennes de la mamelle en début de la lactation sur les comptages cellulaires somatiques et sur la production laitière en fonction du rang de lactation. Thèse ENV Lyon. 95p.
- **Meunier D. 1999.** Infection mammaire à *Staphylococcus aureus* : considération et évaluation d'antigènes pour le diagnostic immunologique. Thèse de Doctorat INRA Santé Animale Liste 1999 Vol 34
- **Mialot J. P. 1983.** Technique de prélèvement de lait pour l'examen bactériologique. Recueil de Médecine Vétérinaire. 159, (11), 1057 ;
- **Millet V. 1988.** Mammites : Attention danger ! Revue. Fr. Génét. Repro. 50 : 42-44.
- **Morvan H ; Parez V et Cosson C. 1997.** Comparaison des concentrations minimales inhibitrices de la céfopérazone, de la céfalexine, de la cloxacilline, de la spiramycine et de la combinaison amoxicilline + acide clavulinique vis-à-vis de germes de mammites bovines. Renc. Rech. Ruminants, 4 : 261-264.
- **Morvan H. 1997.** Activité in vitro de cinq antibiotiques couramment utilisés vis-à-vis de bactéries isolées en France à partir de mammites cliniques bovines.
- **Nelson et coll. 1991.** In Guerrin et Guerrin Faublée. 2007
- **Nicks b. 1998.** Le logement des vaches laitières. Ann Méd Vét 142.
- **Nielen L et Fertier H. 1992.** Influence de stade de lactation sur le nombre de cellules par millilitre. Dairy science, 55 : 1256-1260.
- **Noireterre P. H. 2006.** Suivi de comptages cellulaires et d'examens bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. Etude expérimentale au centre d'élevage Lucien Bizet de Poisy. Thèse ENV Lyon. 94p.
- **ONIL. 2009- 2010.**
- **Phelps A. 1989.** Survey shows global extent of mastitis incidence, costs. Feedstuffs, 61: 11
- **Poutrel B. 1981.** In **Ramisse J ; Brement A. M ; Lamarre C ; Viaud M. A et Breard A.** Résultats d'une enquête sur les mammites en Vendée. Point Vét Vol 13 N° 63 : 63-73
- **Poutrel B. 1985.** Mammites: Généralités sur les mammites de la vache laitière. Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. Rec. Méd. Vét. Tome 161. N°6-7 : 497-511.
- **Poutrel B. 2008.** Prélever du lait pour rechercher *Staphylococcus aureus*. Le Point Vétérinaire Mars 2008 N°283 : 47-49.

- **Poutrel B; Vermesse R et Verneau D. 1999.** Utilisation du CMT pour le diagnostic des infections mammaires. Maîtrise des statuts infectieux de la qualité cellulaire du lait de chèvre par l'utilisation du post trempage : résultats expérimentaux et données de terrains. Journées Nationales des GTV. INRA Session antibiothérapie et antibio-résistance.
- **Prescot T. C et Breed R. S. 1910.** The determination of number of body cells in milk by a direct method. J Inf. Dis. 7, 632-640.
- **Pyoralas S. 2003.** Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. Vet. Res, 34.
- **Rainard P. 1985.** Les mammites colibacillaires. Recueil de Médecine Vétérinaire Juin-Juillet 1985. 525-537.
- **Renaud T. 2002.** Méthodes de diagnostic des mammites. L'Action Vétérinaire, 1614.
- **Riollet C ; Rainard P et Poutrel B. 1999.** Cinétiques de recrutement cellulaire et de multiplication bactérienne après infection. Cellules somatiques du lait. Nantes, 26- 27- 28 Mai 1999. Journées nationales GTV- INRA.
- **Rivas A.L; Quimby F.W; Blue J et Coksaygan O. 2001.** Longitudinal evaluation of bovine mammary gland, health status by somatic cell counting, flow cytometry and cytology. J. Vet. Diagn. Invest, 13.
- **Rosenberg. 1979.** Examen sémiologique (clinique) des animaux domestiques, 405-420.
- **Rossion P et Moinet M. L. 1986.** La vache pharmacienne. Science et Vie N° 822. 402-409.
- **Roy J. F ; Wallace J. A et Vézina. 2007.** Colloque sur la santé des troupeaux laitiers, 12 Décembre. Québec. Atelier mammite.
- **Rupp R et Boichard D. 2001.** Comment améliorer la résistance génétique aux mammites chez les bovins laitiers en France par la sélection. Bulletin des GTV N° 12 Septembre-Novembre 2001. 47-51.
- **Salat O. 2008.** Gestion des mammites à *Staphylococcus aureus* en élevage. Le Point Vétérinaire Janvier-Février 2008.
- **Sandholm et Loutti. 1991.** Mammites bovines : pourquoi y'a-t-il des limites à l'antibiothérapie ? Dans : Mammites des vaches laitières, Société Française Buiatrie. 88-97.
- **Sanguanserms I ; Gyorgi et Zillike N. 1974.** FAO. Compte rendu des discussions de la journée vétérinaire.
- **Schalm et Noorlander. 1957.** Journal of veterinary American medicine. 130: 199-204.
- **Schipper C. P et Booy C. J. 1968.** Estimation for cell count of assessment of milk, quality official Org. K Ned Zuiveland, 60, 466- 68J. Dairy sci. 2777.
- **Schneider W. D et al. 1966.** Somatic cell counting of milk in production testing programs as amastitis control technique. 170: 1244-1250.

- **Schukken Y.H; Wilson D.J; Welcome F; Garrisson-Tikofsky L et Gonzalez R.N. 2003.** Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. Vet. Res, 34.
- **Sérieys F et Brouillet P. 2007.** Prévention des lésions des trayons de la vache laitière. Aspect clinique et étiologiques. Bulletin des GTV N° 39 : 101-106.
- **Sérieys F et Faroult B. 2001.** Plans de traitement des infections mammaires et stratégies thérapeutique. Bulletin des GTV N° 12 Novembre- Septembre 2001 : 41-46.
- **Sérieys F ; Brouillet P et Lefebvre-Delattre E. 2007.** Prévention des lésions des trayons de la vache laitière. 2- Examen des trayons et interprétation à l'échelle du troupeau. Bulletin des GTV N° 42 Décembre 2007 : 65-68.
- **Sérieys F. 1985.** Interprétation des concentrations cellulaires du lait individuel de vache pour le diagnostic de l'état d'infection mammaire. Ann. Rech. Vét, 16.
- **Sérieys F. 1985.** Numération des cellules du lait : interprétation pour le diagnostic et le suivi des infections mammaires. Rec Méd Vét. Tome161 N° 6-7 : 555-566.
- **Sérieys F. 1991.** Maladies des Bovins. 1<sup>ère</sup> Edition France Agricole.
- **Sérieys F. 1995.** Le point sur les mammites des vaches laitières. Edition Institut de l'élevage. Paris.
- **Sérieys F. 1997.** Le tarissement des vaches laitières. Une période clé pour la santé, la production et la rentabilité du troupeau Edition France Agricole. 224.
- **Sérieys F. 1999.** Le point sur les intra mammaires au tarissement. Une double mission éliminer les bactéries et limiter les nouvelles infections. PLM N°292 : 24-25.
- **Sérieys F. 2003.** Pathologie mammaire bovine. Abord du traitement des infections à *Streptococcus uberis*. Le Point Vétérinaire N°239, Octobre 2003.
- **Taylor D. J. 1999.** Antimicrobiol use in animals and its consequence for human health. Clin Microbiol infec, 15: 119-124.
- **Tolle A; Zeidler H et Heeschen W. 1966.** Einverfahren zur electronishen zahlung von milchzellin milchwissen schaft. In J. Dairy sci N°2
- **Tollefson L ; Angulo F. J et Fedorka P. J. 1998.** National surveillance for antibiotic resistance in zoonotic enteric pathogens. Veterinary clinics of North America.
- **Traoré A; Tamboura H. H; Bayala B ; Rouamba D. W ; Yaméogo N et Sanou M. 2004.** Prévalence globale des pathologies majeures liées à la production laitière bovine en système d'élevage intra-urbain à Hamdallaye (Ouagadougou). Biotech. Agronon. Soc. Environ, 8 : 3-8.

- **Wattiaux M. A. 1996.** La maladie et sa transmission. Institut Babcock pour la recherche et le Développement International du Secteur Laitier. Université du Wisconsin à Madison 5p. Page web et pdf.
- **Wattiaux M. A. 1999.** Reproduction et Sélection génétique. Institut Babcock pour la recherche et le Développement International du Secteur Laitier. Université du Wisconsin à Madison. Page web et pdf.
- **Wattiaux M. A. 2004.** Mammites : Stratégie de lutte . Institut Babcock pour la recherche et le Développement International du Secteur Laitier. Université du Wisconsin à Madison. Page web et pdf. <http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/de/24.fr>.
  
- **Zeilder H et Tolle A. 1969.** Suitability of direct and indirect cell counting methods for evaluating udder health and milk quality. Arch. Dairy sci. 1026
- **Zouagui Z; Lakhdissi H; Idrissi H et Boniface G. 1995.** La mammite subclinique : étude épidémiologique utilisant le CMT, le CCS et la microbiologie. Reproduction et production laitière.

## Annexe 1

Informations individuelles

Exploitation : E1

N° d'identification	Race	Age (ans)	Date du vêlage	N° de lactation	Stade de lactation	Antécédent de mammites	TRT effectuer <7J
05036	HPN	4	Mars 08	2	1 année	-	-
05020	HPN	4	Déc 08	2	4 mois	oui	-
03023	HPN	6	Août 08	5	8 mois	-	-
06004	HPN	3	Mars 08	2	1 année	oui	-
6918	HPN	4	Oct 08	3	6 mois	oui	-
704327	HPN	2	Oct 08	1	6 mois	-	-
704313	HPN	4	Oct 08	4	6 mois	-	-
4177	MB	5	Mars 08	4	1 année	-	-
03016	HPN	6	Déc 08	4	4 mois	-	-
704310	HPN	4	Sept 07	4	1 année	-	-
704307	MB	5	Nov 08	4	5 mois	-	-
04093	HPN	5	Jan 08	2	+ 1 année	-	-
2254	MB	4	Avr 08	3	+1 année	-	-
04058	MB	4	Jan 08	4	10 mois	-	-
04110	HPN	4	Sept 08	4	7 mois	-	-
05033	HPN	4	Fév 08	3	1 année	-	-
09112	HPN	6	Nov 08	4	5 mois	-	-
03001	MB	6	Nov 08	3	5 mois	-	-
09109	MB	4	Oct 08	3	6 mois	-	-
05014	HPN	4	Mars 08	2	1 année	-	-
03010	MB	4	Août 08	4	8 mois	-	-
09107	MB	2	Déc 08	2	5 mois	-	-
1340	MB	4	Mai 08	3	10 mois	-	-
04013	HPN	5	Nov 08	3	4 mois	-	-
03018	HPN	6	Oct 08	3	6 mois	-	-
05032	HPN	4	Oct 08	2	6 mois	-	-
03021	HPN	6	Avril 08	2	1 année	-	-
09117	HPN	4	Nov 08	3	5 mois	-	-
05027	HPN	4	Déc 08	2	4 mois	-	-
09111	MB	3	Déc 08	3	4 mois	-	-
5990	HPN	6	Oct 08	3	6 mois	-	-
06036	HPN	3	Jan 09	2	3 mois	-	-
06030	HPN	3	Déc 08	1	4 mois	-	-
06028	HPN	3	Sept 08	1	7 mois	Oui	TRT en cours
0537	HPN	7	Janv 09	4	4 mois	-	-
04054	HPN	5	Août 08	3	8 mois	-	-
704316	HPN	7	Oct 08	4	6 mois	-	-
05011	FLK	4	Déc 08	2	4 mois	-	-
3462	HPR	7	Juil 08	4	9 mois	-	-
05034	HPN	4	Mai 08	2	11 mois	-	-

## Annexe 2

### Préparation des solutions pour le Coulter Counter :

#### **Dilution du formol :**

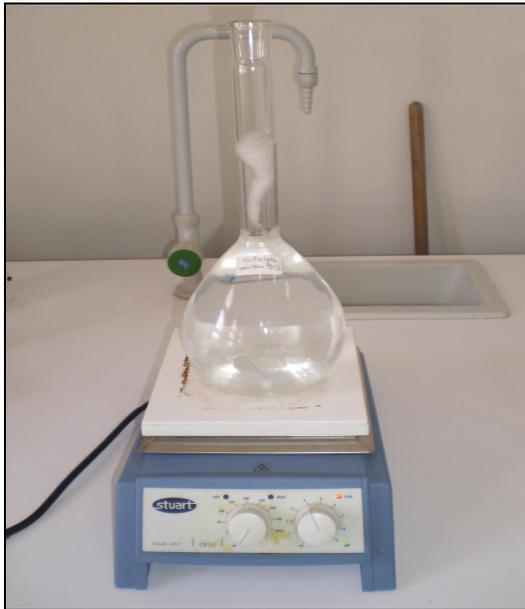
Formol (3,5 %) : 9 ml d'eau distillée + 1 ml de formol (35 %)

#### **Solution de clarification :**

7,3 g NaCl + 1,25 g Tris + 20 ml Triton X100 + 12 ml Formol (35 %) + 125 ml Ethanol (96 %) + 800 ml Eau distillée → Agiter (Barreau magnétique)

Ensuite : Ajuster à 1000 ml avec de l'eau distillée stérile.

En fin : Filtrer la solution obtenue (filtre stérile 0.45 puis 0.22  $\mu\text{m}$ ).



Préparation de la solution de Clarification



Filtration de la solution obtenue

### Annexe 3

#### Résultats des comptages Cellulaires

N° d'ordre	N° d'identification	CCS cellules/ml			
		1 <sup>er</sup> Tube		2 <sup>ème</sup> Tube	
		1 <sup>ère</sup> lecture	2 <sup>ème</sup> lecture	1 <sup>ère</sup> lecture	2 <sup>ème</sup> lecture
13	6876	6.876.000	6.736.000	6.527.000	6.604.000
75	83658	1.848.000	1.806.000	1.731.000	1.719.000
76 PD	96019	2.144.000	2.164.000	2.252.000	2.225.000
76 PG	96019	315.600	289.000	298.200	294.200
90 PD	1427	1.705.000	1.695.000	1.736.000	1.675.000
90 PG	1427	3.623.000	3.538.000	3.577.000	3.600.000
93	4963	519.000	489.800	460.400	445.200
104	04005	6.339.000	6.438.000	6.600.000	6.593.000
107	04006	5.928.000	5.806.000	5.912.000	5.881.000
117	04004	97.800	99.000	88.200	86.000
158	06092	473.600	472.200	460.200	454.200
159	04038	3.649.000	3.552.000	2.881.000	2.895.000
15	2926	867.200	818.800	630.600	618.400

## Annexe 4 Matériels de Laboratoire

### \* Appareillage :

- Etuve bactériologique
- Microscope photonique
- Réfrigérateur
- Autoclave
- Anses à ensemercer
- Portoirs
- Ecouvillons
- Pipettes pasteur
- Micropipette
- Tubes à essais
- Lames et lamelles
- Bec benzène
- Boîte de Pétri
- Jarre

### \* Milieux de culture :

#### \*\* Solides :

- Gélose au sang frais
- Gélose Chapman
- Gélose Baird Parker
- Gélose PCA
- Gélose VRBL

#### \*\* Liquides :

- Bouillon nutritif
- Milieu Giolliti Cantoni  
+ Tellurite de  
Potassium
- Milieu Rothe D/C
- Milieu Eva Lytski

### \* Réactifs et autres produits :

- Plasma humain
- Eau Oxygénée à 10 Vol
- Galerie API 20 Strep
- Réactif VP1 et VP2
- Réactif ZYM A et ZYM B
- Réactif NIN
- Huile de paraffine
- Violet de Gentiane
- Lugol
- Fushine
- TSE (Tryptone sel eau)
- Alcool à 96°
- Eau distillée stérile