

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire –Alger

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Magistère

En Sciences Vétérinaires

Option : Microbiologie Médicale Vétérinaire

Thème :

Identification et profil de résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées des mammites cliniques chez la vache laitière dans la région de Bordj Bou Arreridj

Présenté par : Dr.SEDRATI Tahar

Devant le jury composé de :

Dr TEMIM S.	Professeur ENSV Alger	Présidente
Dr MENOUERI N.	Maitre de Conférences classe A USD Blida	Promoteur
Dr HAMDI T.	Professeur ENSV Alger	Examineur
Dr KAIDI R.	Professeur USD Blida	Examineur
Dr KHELEF D.	Professeur ENSV Alger	Examineur

Année Universitaire : 2014/2015

Remerciements

Je remercie dieu le tout puissant de nous avoir aidé et donné la foi, la patience et la force pour achever ce travail.

Au terme de ce travail, je tiens avant tout, à exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à **Dr MENOUEI Mohammed Nabil.**, Maitre de conférences à l'université Saad Dahleb de Blida de m'avoir proposé ce sujet de mémoire. Ses compétences, sa rigueur scientifique m'ont été d'une grande aide.

J'adresse mes vifs remerciements au professeur **TEMIM S.**, de l'école nationale supérieure vétérinaire pour l'honneur qui nous fait de présider ce jury.

Que Monsieur **HAMDI T.**, professeur à l'ENSV trouve ici l'expression de nos sincères remerciements pour l'honneur qu'il nous fait de siéger à notre jury.

Je prie professeur **KAIDI R.**, de l'université Saad Dahleb de Blida, qui nous fait l'honneur de faire partie du jury, de bien vouloir trouver ici l'assurance de ma respectueuse gratitude.

Je prie professeur **KHELEF D.**, de l'ENSV, pour accepter de faire partie du ce jury. Hommages respectueux.

J'adresse mes plus vifs remerciements au professeur **BENOUADAH A** de Centre Universitaire de BBA, responsable de laboratoire ALCOOLAB (de El Achir), de m'avoir autorisé de réaliser ma partie expérimentale au sein de leur laboratoire. Merci aussi à Monsieur **BEN AHMED A** pour son aide dans la réalisation des analyses bactériologiques et l'expérience qu'il m'a apportée. Sincères remerciements.

Je tiens à remercier chaleureusement les gents de l'institut Pasteur: **Dr CHERIFA.**, **Dr NADHIRA** et **Dr SAMIRA** de m'avoir mise à ma disposition les produits nécessaires.

Je tiens à remercier les docteurs vétérinaires privés qui ont bien voulu collaborer à la réalisation des prélèvements et de l'enquête sur le terrain: **Dr AMZALI Saïd**, **Dr YOUMBAI Ismail**, **Dr BENKHALFALLAH Hamza**, **Dr CHARIF Toufik**, et **Dr DJEMOUI Salim**. Aussi, nous remercions tous les éleveurs pour nous avoir permis l'accès dans leurs élevages afin de réaliser nos travaux de recherche.

J'adresse également mes vifs remerciements à mes amis : **Dr Azzi Omar** et **Dr Chadi Hafidha** pour leur soutien moral et leur aide précieuse. Sans oublier mes amis de classe : **Dr Brahim Ammar**, **Dr Tala Nabil**, **Dr Abbadi mohammed**, et **Harzellah Fares**.

Je tiens à remercier aussi les agents de la bibliothèque de l'ENSV : **MERIEM**, **HAMID**, et **YASSINE**. Hommages respectueux.

Mes profonds respects envers le professeur **HAMDI Pacha Y.**, directeur de l'école nationale supérieure vétérinaire.

Et à monsieur **DERFELOU K .**, de l'école nationale supérieure vétérinaire.

Enfin, je voudrais remercier toutes les personnes qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Résumé

L'objectif de ce travail consiste à évaluer la prévalence des mammites cliniques dans quarante-deux exploitations laitières de la région de Bordj Bou Arreridj , à mettre en évidence l'influence de certains facteurs de risque sur la survenue des mammites, et à déterminer l'identité et la fréquence des entérobactéries responsables de ces infections et, enfin, à évaluer la sensibilité aux antibiotiques in vitro de ces germes isolés du lait de mammite.

A la lumière des résultats obtenus, il s'avère que les mammites cliniques sont bien présentes dans nos élevages avec un taux de 36%. Les résultats de l'enquête épidémiologique ont permis de mettre en évidence l'effet significatif ($p < 0,05$) du rang de lactation, de la race, de la saison, de la conformation de la mamelle, et du stade de lactation sur la prévalence des mammites cliniques. De même, il semble que la mauvaise condition d'hygiène de traite et la mauvaise conduite du troupeau ont constitué les probables facteurs de risque.

L'isolement bactérien a concerné 75 % des échantillons. Les germes à Gram positif ont été les plus fréquents (68%). Par ailleurs, parmi les cultures pures à Gram négatives (32%) ,32 entérobactéries ont été isolées, soit un taux de 26 %. En fait, *E.coli* est l'entérobactérie le plus incriminé dans les mammites cliniques (13%), suivi d'*Enterobacter cloacae* (7 %), puis de *Serratia marcescens* (3%) et de *Klebsiella pneumoniae* (3%).

Ainsi, l'étude de l'antibiorésistance de ces germes isolés révèle l'existence de résistances non négligeables à l'action des pénicillines et des tétracyclines avec un niveau d'inefficacité qui dépasse les 68%. Par contre, Aucune souche de phénotype BLSE n'a été détectée.

Mots clés : Mammites bovines, Facteurs de risques, Entérobactéries, Antibiogramme, Béta-lactamases à spectre étendu, Algérie.

Summary

The objective of this work is to evaluate the prevalence of clinical mastitis in forty-two dairy farms in the region of Bordj Bou Arreridj, to demonstrate the influence of risk factors on the occurrence of mastitis and to determine the identity and the frequency of Enterobacteriaceae responsible for these infections, and finally to evaluate in vitro the antibiotic susceptibility of those pathogens isolated from milk of mastitis.

In light of the results obtained, it appears that clinical mastitis are present in our farms with a rate of 36%. The results of the epidemiological investigation helped to highlight the significant effect ($p < 0,05$) of parity, race, season, conformation of the udder, and lactation stage on the prevalence of clinical mastitis. Similarly, it seems that poor hygienic milking conditions and poor herd were the probable risk factors.

The bacterial isolation has concerned 75% of the samples. Gram-positive were the most frequent (68%). Moreover, among the pure cultures Gram-negative (32%), 32 Enterobacteriaceae were isolated with a rate of 26%. In fact, *E. coli* is the most Enterobacteriaceae incriminated in clinical mastitis (13%), followed by *Enterobacter cloacae* (7%) and *Serratia marcescens* (3%) and *Klebsiella pneumoniae* (3%).

Thus, the study of antibiotic resistance of the isolated bacteria reveals the existence of significant resistance to the action of penicillin's and tetracycline with a level of inefficiency that exceeds 68%. By cons, no strain of ESBL phenotype was detected.

Keywords: bovine mastitis, risk factors, Enterobacteriaceae, Antimicrobial susceptibility, extended-spectrum beta-lactamase, Algeria.

المخلص :

تهدف هذه الدراسة إلي معرفة معدل إنتشار إلتهاب الضرع السريري في 42 مزرعة للأبقار الحلوبة في منطقة برج بوعرييج، و تسليط الضوء علي تأثير بعض عوامل الخطر في حدوث إلتهاب الضرع السريري، وأيضاً تحديد هوية ونسبة الأنتيرو بكتيريا المسؤولة عن هذه الإلتهاجات . وأخيراً إختبار حساسية هته الجراثيم للمضادات الحيوية في المختبر.

علي ضوء النتائج المحصل عليها، تبين أن إلتهاب الضرع السريري موجود في هته المزارع و بنسبة 36%. حيث أن التحقيق الوبائي أظهر الأثر البارز لكل من رتبة الرضاعة، السلالة، الموسم، وشكل الضرع علي ظهور إلتهاب الضرع السريري. وبالمثل، تبين أيضاً أن الظروف الصحية السيئة المحيطة بعملية الحلب وسوء تسيير القطيع كانت أبرز عوامل الخطر الموجودة .

حيث أن العزل البكتيري قد شمل 93% من العينات، وأن الجراثيم موجبات الصبغة كانت الأكثر إنتشاراً (68 %)، و أن من بين الجراثيم سلبية الصبغة التي تم عزلها (32 %)، 32 كانت من نوع أنتيرو بكتيريا بنسبة تقدر ب 26 % والتي من بينها كانت جرثومة الإيشيرشياكولي هي الأكثر إنتشاراً وتسبباً في مرض إلتهاب الضرع السريري بنسبة تقدر ب 13 % تليها أنتيرو بكتار كلواكي (7 %) ثم كلابسياله بنومونيا (3 %) و صيراصرا ماريسانس (3 %).

حيث أن إختبار الحساسية للمضادات الحيوية أظهر وجود مقاومة معتبرة من هته الجراثيم لكل من البنسيلين والأوسيتتراسيكلين وذلك بنسبة تجاوزت الـ 68%. في حين لم يتم الكشف علي أية حالة ذات النمط المقاوم للبيبتا لاكتاماز ذات الطيف الواسع.

الكلمات الدالة: الإبقار، التهاب الضرع السريري، عوامل الخطر، الأنتيرو بكتيريا، إختبار الحساسية للمضادات الحيوية، البيبتا لاكتاماز ذات الطيف الواسع، الجزائر.

Liste des figures

Figure N°		Page
<i>Partie bibliographique</i>		
01	Organisation interne des mamelles de la vache.	05
<i>Matériel et méthodes</i>		
02	Carte géographique présentant le lieu de l'étude.	39
03	Technique d'ensemencement sur gélose.	44
04	Présentation schématique du protocole d'identification des entérobactéries dans le lait.	45
05	Ajustement de l'opacité de l'inoculum à l'aide d'un spectrophotomètre.	51
06	Ensemencement sur gélose Muller Hinton.	51
07	Incubation des boîtes Petri.	52
08	Disposition des disques d'antibiotiques dans le test de double synergie.	54
09	Description de l'image de synergie.	55
<i>Résultats</i>		
10	Examen de la sécrétion lactée.	57
11	Différents aspects de mammites cliniques.	58
12	Prévalence des cas de mammites cliniques de février 2012 à janvier 2013.	59
13	Répartition des mammites cliniques en fonction du rang de lactation.	61
14	Répartition des mammites cliniques en fonction de stade de lactation.	62
15	Fréquence des cas de mammites cliniques selon la race.	63
16	Fréquence des mammites selon la conformation de la mamelle.	64
17	Répartition des mammites cliniques en fonction de leur localisation.	65
18	Résultats des mises en cultures de 140 prélèvements de lait de mammites cliniques.	68
19	Répartition des germes isolés en fonction de la coloration du Gram.	69
20	Fréquence des Enterobactéries isolées.	70
21	<i>Escherichia coli</i> sous microscope optique, après coloration de Gram.	71
22	Aspects de différentes colonies des bactéries en culture pure.	71
23	Galerie Api 20E ensemencée par une souche d'E.coli et incubée à 37°/24H.	72
24	Lecture des différents tests biochimiques de la galerie Api 20 E.	72
25	Fréquence des entérobactéries responsables des mammites selon le stade de lactation.	73

26	Fréquence des entérobactéries responsables des mammites selon la saison.	74
27	Pourcentage de sensibilité et de résistance des <i>E.coli</i> aux antibiotiques	76
28	Antibiogramme d' <i>E.coli</i> .	77
29	Pourcentage de sensibilité et de résistance des <i>Enterobacter cloacae</i> aux antibiotiques.	78
30	Profil de sensibilité des <i>Klebsiella pneumoniae</i> aux antibiotiques	80
31	Pourcentage de sensibilité et de résistance des <i>Serratia marcescens</i> aux antibiotiques.	82
32	Antibiogramme pour recherche de souche BLSE.	83

Liste des tableaux

Tableau N°		Page
<i>Partie bibliographique</i>		
I	Types cellulaires rencontrés dans la glande mammaire saine et infectée.	08
II	Classification des germes de mammite bovine.	16
III	Différents genres appartenant aux Enterobacteriaceae.	17
IV	Caractères biochimiques différentiels du genre Escherichia et des genres d'Enterobacteriaceae proches.	19
V	Prévalence des mammites cliniques à E. coli selon l'origine géographiques.	25
VI	Analyse de 841 cultures de germes gram négatif isolés à partir de lait de vaches atteintes de mammites cliniques.	26
<i>Matériel et méthodes</i>		
VII	Evaluation de la qualité du prélèvement.	44
VIII	Liste des antibiotiques et leurs charges respectives.	50
<i>Résultats</i>		
IX	Prévalence de mammites cliniques.	56
X	Descriptions des cas de mammites cliniques.	56
XI	Différents types de mammites rencontrées.	57
XII	Répartition des cas de mammites cliniques selon le mois de l'année.	59
XIII	Pourcentage des mammites cliniques en fonction du rang de lactation.	60
XIV	Proportion de mammites cliniques en fonction de stade de lactation.	61
XV	Fréquence des cas de mammites cliniques selon la race.	62
XVI	Répartition des mammites cliniques en fonction de la conformation de la mamelle.	63
XVII	Répartition des mammites cliniques en fonction de leur localisation.	65
XVIII	Descriptions épidémiologiques des 42 élevages suivis.	66
XIX	Résultats des mises en cultures de 140 prélèvements de lait de mammites cliniques.	68
XX	Fréquences des Enterobactéries responsables de mammites cliniques.	70
XXI	Fréquence des entérobactéries responsables des mammites selon le stade de lactation.	72
XXII	Fréquence des entérobactéries responsables des mammites selon la saison.	74
XXIII	Profil de sensibilité des E.coli vis à vis de 12 antibiotiques.	75
XXIV	Profil de sensibilité des <i>Enterobacter cloacae</i> vis à vis de 12 antibiotiques.	77

XXV	Profil de sensibilité des <i>Klebsiella pneumoniae</i> vis à vis de 12 antibiotiques.	79
XXVI	Profil de sensibilité des <i>Serratia marcescens</i> vis à vis de 12 antibiotiques.	81
XXVII	Efficacité des familles d'antibiotique sur les entérobactéries isolées de lait de mammites cliniques.	83

Liste des abréviations

Les abréviations	
ARN	Acide ribonucléique.
ADN	Acide désoxyribonucléique.
GC	Guanine cytosine.
LDC	Lysine décarboxylase.
VP	Réaction de Voges-proskauer.
ADH	Arginine dihydrolase.
ODC	Ornithine décarboxylase.
LPS	Lipopolysaccharide.
STEC	<i>Escherichia coli</i> producteurs de Shiga-toxines.
IL	Interleukine.
TNF α	Interféron alpha.
CNF	Facteur cytotoxique nécrosant.
eae	Gène codant l'intimine (Facteur d'attachement/effacement).
Rep-PCR	Répétitive élément PCR ou amplification de séquences répétées.
ERIC-PCR	Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR.
PCR	Polymérase Chain réaction.
pH	Potentiel hydrogène.
CCS	Concentration Cellulaire Somatique
PMN	Polymorphonucléaire neutrophile.
NK	Tueur naturel (Natural killer).
CMH	Complexes majeurs d'histocompatibilité
H ₂ S	Sulfure d'hydrogène.
ONPG	L'orthonitrophényl- β -galactoside.
ATCC	L'American Type Culture Collection.
CMI	Concentration minimal inhibitrice.
BLSE	Bétalactases à spectre élargi.

Introduction

INTRODUCTION

Avec la conjoncture économique actuelle sur la production laitière, la rentabilité des exploitations est au coeur des préoccupations chez les éleveurs. Les mammites, soit l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle, constituent la première maladie en termes de fréquence dans les élevages bovins laitiers. Par les pertes économiques qu'elles entraînent, leur impact sur cette rentabilité est très important (Seegers et *al.*, 2003).

Les infections mammaires se traduisent par des mammites cliniques qui ont des répercussions sur l'organisme (symptômes locaux et généraux) et des mammites dites subcliniques où on observe simplement une augmentation, parfois très forte, du taux cellulaire du lait. Les mammites dites de traite sont dues à un manque d'hygiène lors de la traite ou sont transmises par le matériel, alors que celles dites d'environnement sont dues à la pénétration de bactéries de la litière dans le canal du trayon.

Grâce aux mesures mises en places ces dernières années pour lutter contre ces infections, une baisse de la prévalence des mammites subcliniques et cliniques dues à certains pathogènes à réservoir mammaire comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* et *Streptococcus agalactiae* a été notée (Bradley, 2002). A *contrario*, une augmentation des mammites cliniques dues aux germes à réservoir environnemental a été constatée et ce malgré les mesures de lutte mises en place. Les entérobactéries viennent en tête des germes d'environnement et font actuellement une augmentation nette de la prévalence des mammites qui, par conséquent, devient un sérieux problème dans de nombreuses fermes laitières (Oliver S P et *al.*, 2011).

Par ailleurs, il faut signaler que dans notre pays, le traitement des mammites cliniques se fait sans recherche de l'agent étiologique avec des antibiotiques à spectre large. Toutefois, malgré l'emploi abusif de ces antibiotiques on constate dans certains cas une inefficacité du traitement et ceci soulève naturellement des craintes quant à la survenue des antibiorésistances.

Devant ce constat, l'étude qui a été menée a donc pour but, dans un premier temps, d'évaluer la prévalence des mammites cliniques dans quarante-deux exploitations laitières de la région de Bordj Bou Arreridj et de décrire de façon clinique et épidémiologique ces cas de mammites puis, dans un second temps, de déterminer l'identité et la fréquence des entérobactéries responsables de ces infections et, enfin, d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques *in vitro* de ces germes isolés de lait de mammité.

Ce travail est divisé en deux grandes parties. La première partie de cette étude intitulée «la partie bibliographique » qui englobe : les généralités sur les mammites avec une attention particulière sur les mammites à entérobactéries chez la vache, la pathogénie, le tableau symptomatique et l'épidémiologie de la maladie. Nous décrivons successivement les différentes méthodes de diagnostic utilisées, le traitement et la prophylaxie envisagés à ce propos.

La partie expérimentale constitue la deuxième partie de ce travail.

Nous évoquerons tout d'abord dans un premier chapitre le matériel et les méthodes utilisés. Ensuite, dans le second chapitre, la présentation des résultats obtenus sur le terrain et au laboratoire et enfin dans un troisième et dernier chapitre nous présenterons nos résultats et nous tenterons de les discuter avec d'autres travaux antérieurs. Nous concluons ce troisième chapitre en faisant quelques recommandations qui découlent de ce travail.

Partie I : Partie bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur les
mammites de la
vache

I.1. Définition:

La mammite est une inflammation du parenchyme de la glande mammaire. C'est une réaction de défense contre une agression locale associée dans 90% des cas à la présence de bactéries. Des causes fongiques, virales et traumatiques se partagent le reste des cas (Tadich *et al.*, 1998).

Par opposition sera considérée comme normale, une mamelle sans signe visible d'un état pathologique avec un lait exempt d'agents pathogènes et des caractéristiques cellulaires et physico-chimiques normales (Schepers *et al.*, 1997).

I-2.Importance des mammites :

Les mammites représentent la pathologie la plus dominante en élevage bovins laitiers (Seegers *et al.*, 1997). Elles sont responsables des pertes économiques importantes pour l'industrie laitière à travers le monde. En effet, elles ont un impact à la fois :

- Direct, à cause du moindre paiement du lait pour qualité cellulaire insuffisante ainsi que le coût des traitements ;
- et indirect, en raison d'une diminution de la production laitière et d'une réforme anticipée des vaches non soignables (Dumas *et al.*, 2004).

Le cout moyen des mammites bovines, selon Heikkila *et al.* (2012) est de 120 € par vache et par an.

Par ailleurs, la présence des bactéries dans le lait comme *E. coli*, des staphylocoques, *Listeria* ou salmonelles représente un danger pour le consommateur surtout en absence de la pasteurisation (Seegers *et al.* 1997) ;

En effet, le lait « mammiteux » peut être vecteur d'agents responsables de toxi-infections alimentaires (Seegers *et al.* 1997).

Ainsi, les infections mammaires ont aussi des conséquences sur la transformation fromagère, car elle conduit à une modification de la composition du lait dont les valeurs alimentaire et technologique sont réduites.

D'autre part, la composition chimique du lait est également modifiée avec notamment une augmentation des protéines solubles et une diminution du lactose, des caséines et des matières grasses (Ogola *et al.*, 2007).

I.3. Anatomie de la mamelle :

La mamelle est une glande exocrine composée de quatre quartiers indépendants, terminés chacun par un trayon. Ils sont en effet séparés par un ligament médian de fixation et par des ligaments latéraux (profonds et superficiels) de support qui les attachent à la paroi abdominale et au bassin. Les infections peuvent affecter isolément un seul quartier en respectant les autres (Hanzen, 2013).

Le parenchyme mammaire est composé d'une charpente conjonctive développée et richement vascularisée appelée stroma, d'un tissu sécrétoire constitué d'acini ou d'alvéoles glandulaires et de canaux galactophores qui drainent le lait de son lieu de sécrétion vers la citerne du pis et le trayon.

Chaque alvéole est constituée principalement d'une couche monocellulaire (lactocytes) qui est le lieu de synthèse du lait.

Le lait ainsi produit est canalisé au niveau du sinus lactifère. Celui-ci présente une partie glandulaire ou citerne du pis et une partie papillaire ou sinus du trayon. La partie glandulaire du sinus est d'un volume avoisinant les 400 mL. Sa forme peut être relativement simple, à peu près ovoïde, mais elle est en général compliquée de multiples ramifications recevant les groupes de conduits lactifères. Elle est séparée par le pli annulaire de la partie papillaire du sinus. Cette dernière (anciennement appelée sinus du trayon) occupe la quasi-totalité du volume du trayon, la partie restante étant le canal du trayon (Figure 1).

Ce canal ou conduit papillaire est long de 8 à 12 mm et sa paroi, appliquée contre elle-même au repos, est distensible au point de permettre le passage de sonde de 6 à 7 mm de calibre. Il est tapissé par une muqueuse blanchâtre kératinisée et finement plissée en long. A la jonction avec le sinus lactifères, ces plis se renforcent et s'épanouissent dans ce dernier en cinq ou six rayons courts et épais, dessinant une délicate collerette qualifiée de resette de Fürstenberg. Elle constitue un véritable système obturateur du conduit en dehors des traites ou des tétées, protégeant ainsi le sinus et le reste de la mamelle des invasions microbiennes ascendantes (Barone, 2001).

L'extrémité distale du canal du trayon est caractérisée par la présence d'un muscle circulaire lisse formant un sphincter. Ce dernier sert à la fois à garder le lait dans la glande, mais aussi à protéger celle-ci contre l'envahissement bactérien (Boudry, 2005).

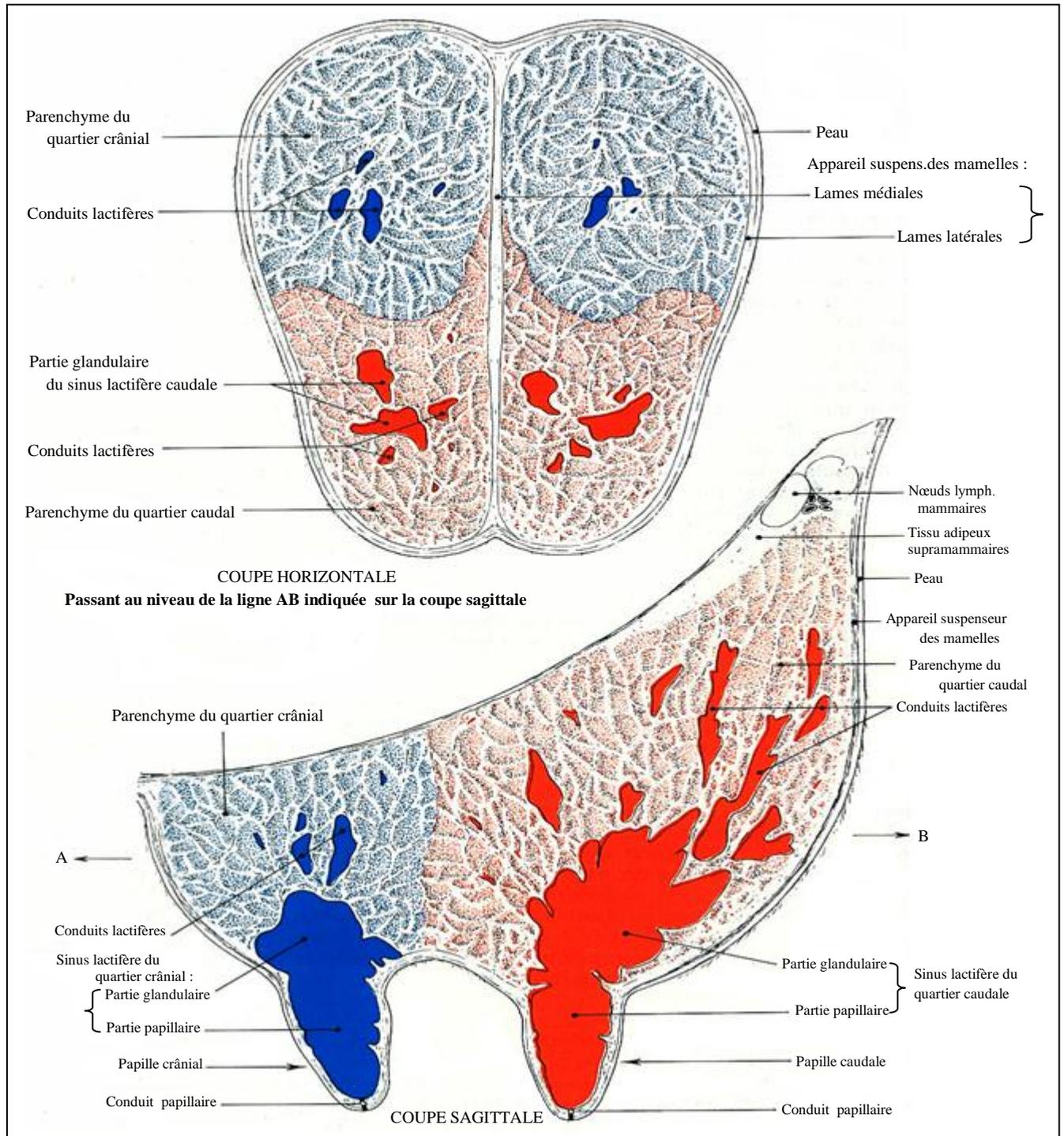


Figure 01 : Organisation interne des mamelles de la vache (Barone, 2001).

I.4. Les mécanismes de défenses de la glande mammaire :

Un quartier peut être infecté plusieurs fois par la même espèce bactérienne et la même souche au cours d'une lactation. La glande mammaire apparaît donc comme un organe dont le système immunitaire serait "dormant" (Rainard et Poutrel, 1993). Cependant, elle est protégée par multiples mécanismes de défense, font appel à des facteurs anatomiques, des facteurs solubles présents dans le lait et des facteurs cellulaires (Victor M et *al.*, 2007).

I.4.1. Facteurs anatomiques :

La première ligne de défense de la glande mammaire est le canal du trayon. Les muscles du sphincter entourant ce canal le maintiennent fermé en dehors des traites et empêchent ainsi la pénétration des germes. De plus, La présence de kératine sur les parois du canal pendant la lactation constituent un obstacle majeur à la pénétration des germes, permettent une adsorption des germes et limitent leur croissance grâce à des substances anti microbiennes : Acides gras (laurique, palmitique...), protéines (défensines) et enzymes (xanthine oxidase...) (Brouillette E, 2003).

La kératine participe ensuite à la formation d'un bouchon pendant la période de tarissement, qui joue le rôle d'obturateur et complète le dispositif sphinctérien. A l'extrémité intérieure du canal se trouve la rosette de Fürstenberg qui forme un repli muqueux qui sert de point d'entrée et d'activation des leucocytes (Barone, 2001).

I.4.2. Les facteurs solubles :

Ce sont des protéines et d'enzymes qui présents dans le lait et possédant des activités antibactériennes. Les plus importantes sont le complément, les immunoglobulines, et les transferrines.

Le complément est une famille de protéines présentes dans le sérum. On en retrouve de faibles quantités dans le lait produit par une glande saine. Cependant, lors de mammite, l'inflammation s'accompagne d'une exsudation plasmatique souvent marquée qui augmente la concentration de ce composé dans le lait (Rainard, 2003). Il exerce des fonctions cytolytiques, bactéricides, et intervient dans le déclenchement et le renforcement de l'inflammation.

Les immunoglobulines sont les seuls facteurs solubles du lait à être spécifiques de l'agent pathogène, c'est-à-dire qu'ils reconnaissent précisément certains constituants de la paroi des

germes. Ils proviennent de la synthèse dans la mamelle par les plasmocytes, et majoritairement de la circulation sanguine, ils ont la propriété de neutraliser les toxines bactériennes, d'empêcher l'attachement des bactéries aux surface des muqueuses, et de faciliter la destruction et la phagocytose des bactéries. Ainsi les principaux germes de mammite ne sont phagocytés in vitro dans le lait que s'ils sont opsonisés par des anticorps dirigés contre leur antigène de surface (Jackson J, 1990).

La lactoferrine sécrétée par les cellules épithéliales mammaires et la transferrine d'origine plasmatique, peuvent inhiber ou ralentir la multiplication bactérienne. Elles ont la propriété de fixer le fer, un nutriment essentiel pour les pathogènes ,ce qui lui confère un puissant effet bactériostatique, notamment vis-à-vis de *Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*.la lactoferrine possède également une activité bactéricide due à l'action des fragments N-terminaux qui se lient aux membranes bactériennes et les détruisent, sa concentration est faible dans la mamelle (20-200 ug/ml), et c'est surtout pendant la période sèche qu'elle devient abondante dans les sécrétions mammaires (20-100 mg/ml), ainsi que pendant la phase aigüe d'une mammite sévère (1-2 mg/ml) (P.Rainard,2005).

D'autres molécules à activité antimicrobienne, sont aussi présentes dans la mamelle. On peut citer les lactopéroxydases, le lysozyme, et La xanthine oxydase. Cependant, ces différents mécanismes de défenses sont retrouvés en faible quantité dans la mamelle en lactation. Ils ne sont pas considéré comme participants de manière significative à la défense de la glande mammaire bovine (Sordillo *et al.*, 1997).

I.4.3. Les facteurs cellulaires :

L'immunité cellulaire est assurée par des cellules produites par la moelle osseuse, les leucocytes. Dans le lait de glandes non infectées la concentration cellulaire (SCC pour *somatic cell count*) varie entre 50 000 à 200 000 cellules par millilitre de lait (Burvenich *et al.*, 2004).

Suite à une infection, on constate un afflux de leucocytes dans le lait et la valeur du CCS augmente jusqu'à plusieurs millions de cellules/ml de lait (Boutet P, 2006). (Tableaux I).

Tableau I : Types cellulaires rencontrés dans la glande mammaire saine et infectée (Boutet P, 2006).

	SCC (Cellule/ml de lait)	Composition cellulaire (%)			
		Macrophages	Neutrophiles	Lymphocytes	Cellules épithéliales
Quartier sain	< 200.000	35	26-34	18-24	12-15
Quartier infecté	>200.000	9-32	50-95	1-2	0-9

Les types de leucocytes assurant la défense de la glande sont les macrophages, les neutrophiles, les cellules NK et les lymphocytes.

a. Les macrophages :

Les macrophages représentent le type cellulaire le plus abondant dans le lait d'une glande saine chez la vache. Ce sont des leucocytes non-spécifiques qui ont pour fonction de phagocyter et de détruire les bactéries à l'aide d'enzymes protéolytiques (lysozymes, protéases, collagénases...), mais également le retrait des globules gras du lait lors de la période d'involution mammaire.

Après leur activation lors de la phagocytose du pathogène, Les macrophages sécrètent diverses substances (Interleukines-1, -2 et -12 et le TNF- α) qui attirent et stimulent les activités bactéricides des neutrophiles, et amplifie ainsi la réponse inflammatoire.

Ainsi, Les macrophages jouent un rôle dans la réponse immunitaire spécifique (acquise) grâce à leur habilité à préparer et à présenter des antigènes au niveau de la surface cellulaire, en association à une molécule CMH de classe II (complexes majeurs d'histocompatibilités de classe II). Ces antigènes CMH de classe II sont des molécules de membrane présentées aux lymphocytes T et interviennent dans la détection d'antigènes étrangers (Sordillo et Streicher., 2002).

L'autre fonction des macrophages survient à la fin de la réponse inflammatoire : ils assurent l'élimination des neutrophiles apoptotiques, et les cellules endommagées. Ce mécanisme est particulièrement important pour protéger la glande mammaire des dégâts induits par ces derniers (Sipe, 1985).

b. Les Neutrophiles :

Les cellules polymorphonucléaires neutrophiles (PMN) font partie d'un groupe de cellules appelé les granulocytes car leur cytoplasme contient des granules. Dans le lait, ils représentent les principales cellules effectrices de l'immunité non spécifique : lors d'infection, les neutrophiles sont les premières cellules à migrer du sang vers le site inflammatoire, ils phagocytent et détruisent les germes sans distinction de genre ou d'espèce.

Le mécanisme par lequel les neutrophiles arrivent aux sites enflammés est appelé chimiotaxie.

Pendant l'infection, des agents chimoattractants guident les neutrophiles vers les agents infectieux. Le complément C5a, les Lipopolysaccharides (LPS) et les interleukines 1, 2 et 8 constituent des chimoattractants importants pour les neutrophiles bovins (Snyderman, 1999). Il est à noter que la rapidité et l'intensité de l'afflux de neutrophiles varient en fonction de la nature du pathogène. *Escherichia coli* déclenche un recrutement massif et rapide de neutrophiles et une mammite clinique aiguë, alors que *Staphylococcus aureus* est à l'origine d'un recrutement plus modéré et plus tardif qui apparaît 24 à 48 heures après l'infection (Burvenich, 2003).

Une fois arrivés au site de l'infection, les neutrophiles phagocytent et tuent les bactéries ingérées grâce à un processus appelé « flambée oxydative ». Ainsi, la fusion des vésicules phagocytaires avec les vésicules lysosomales qui contiennent des enzymes permet l'élimination finale des bactéries par digestion. En plus de leur rôle de phagocyter et détruire les agents pathogènes, les neutrophiles peuvent produire une panoplie de médiateurs peptidiques tels que les cytokines. Ainsi, quelques heures après l'inoculation d'*E. Coli* dans un quartier mammaire sain, de grandes quantités de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1, l'IL-6 et le *tumor necrosis factor* (TNF)- α sont retrouvées dans les sécrétions mammaires (Burvenich, 2007).

Ces cytokines ont des effets locaux et systémiques. Au niveau systémique, elles interviennent dans la réaction de la phase aiguë : fièvre, augmentation des concentrations sériques en cortisol, libération de protéines de la phase aiguë, leucopénie, etc. (Jackson *et al.*, 1990) , alors que localement, elles activent la diapédèse des neutrophiles.

c. Les lymphocytes :

Les lymphocytes sont les seules cellules à porter des récepteurs spécifiques d'antigène. Ils sont responsables de la réponse immunitaire dite spécifique ou adaptative. On distingue deux groupes principaux, les lymphocytes T et B, et un troisième moins important, les cellules NK.

Les lymphocytes T sont eux-mêmes repartis en lymphocytes T4 et lymphocytes T8, ils représentent la majorité des lymphocytes présents dans la mamelle saine.

Les lymphocytes T8 « cytotoxiques » portent la molécule CD8 à leur surface. Ils ont la capacité de tuer spécifiquement les cellules étrangères, altérées ou infectées par un pathogène intracellulaire.

Les lymphocytes T4, aussi appelés LT auxiliaires ou « helpers » ont un rôle essentiel dans l'activation d'autres cellules immunitaires, comme les LT CD8, les LB, et les macrophages. Ils sont indispensables pour que les lymphocytes B puissent se différencier en cellules productrices d'anticorps, mais aussi en cellules mémoires.

Les cellules NK (Natural killer) possédant une activité cytotoxique indépendante du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Ils utilisent leurs récepteurs Fc (partie non-spécifique d'un anticorps) afin de reconnaître une cellule infectée ou tumorale. Une fois que la cellule NK a fixé à son récepteur Fc un anticorps opsonisé à une cellule cible, la libération de granules cytoplasmiques contenant de la perforine et des enzymes va entraîner la mort de cette cellule cible. Les cellules peuvent tuer à la fois des bactéries Gram (+) et Gram (-), et peuvent participer à la protection contre les mammites (Sordillo et Streicher., 2002).

I.5. Classification des mammites:

Selon le degré et la gravité de l'inflammation, on distingue les mammites cliniques et les mammites subcliniques (Poutrel B, 1985).

I.5.1. Les mammites cliniques :

Ce sont des infections mammaires avec la présence de symptômes fonctionnels, c'est-à-dire une modification de la sécrétion de la glande. La quantité et l'aspect du lait changent, reflétant une perturbation des fonctions de sécrétion et filtration.

En plus de ces symptômes fonctionnels on peut observer les manifestations classiques de l'inflammation : rougeur, chaleur, douleur, et tuméfaction de la glande. Les ganglions rétro mammaires peuvent être hypertrophiés. On parle alors de mammite aiguë. Si le quartier se sclérose et s'atrophie on parle de mammite chronique. Dans certains cas, des symptômes généraux liés à l'intoxication et une bactériémie précoce s'ajoutent aux précédents : on parle de mammite suraiguë.

a. Mammite suraiguë :

Forme rare, d'apparition brutale et d'évolution rapide. Lors de mammites suraiguës, l'inflammation de la glande est fulgurante et l'altération de l'état général est sévère et constante. Le quartier infecté est souvent congestionné, chaud mais parfois à l'inverse, il est totalement flasque voire froid. L'animal est souvent en décubitus ; une tachycardie, une polypnée, une atonie ruminale, une hypothermie ou hyperthermie sont relevées lors de l'examen clinique. La sécrétion lactée est soit interrompue, soit très modifiée et présente alors un aspect séreux, aqueux ou hémorragique. Ce type de mammite évolue très fréquemment vers la mort de l'animal si aucun traitement n'est entrepris (Wenz J.R et al., 2001). Les germes en cause sont souvent des entérobactéries.

b. Mammite aiguë :

Les mammites aiguës sont aussi d'apparition brutale. Elles présentent cependant peu de répercussion sur l'état général, une hyperthermie est souvent le seul signe général associé. Cependant l'examen de la mamelle révèle une forte congestion avec les signes traditionnels de l'inflammation : chaleur, rougeur et douleur. La sécrétion lactée est souvent modifiée avec la présence de grumeaux. Cette mammite survient à tous les stades de la lactation et est déclenchée par différentes bactéries. Le pronostic de ce type de mammite est plutôt bon lorsqu'un traitement adapté est mis en place. En l'absence de traitement, une évolution vers la chronicité est fréquente.

c. Mammite chronique :

Elle est le plus souvent secondaire à une mammite aiguë. Elle est caractérisée par une inflammation modérée mais persistante de la mamelle, évoluant lentement sur plusieurs mois, voire plusieurs années, parfois durant la vie entière de l'animal. L'état général de l'animal n'est pas affecté. Les symptômes locaux sont discrets, lentement le quartier évolue vers l'atrophie du fait de l'installation de zones de fibrose cicatricielle. La mamelle devient noueuse à la palpation. Le lait présente de façon plus ou moins régulière, des grumeaux dans les premiers jets. Petit à petit, la sécrétion diminue, le quartier s'indure et finit par se tarir complètement. Ce type de mammite est plus caractéristique des infections dues à des Streptocoques ou à des Staphylocoques.

I.5.2. Mammites subcliniques :

La mammite subclinique est par définition asymptomatique. L'état général n'est pas altéré, la mamelle paraît saine, la sécrétion apparaît normale. Cependant, l'examen cytologique du lait met en évidence une augmentation parfois considérable du nombre de polynucléaires. De même, son analyse biochimique révèle la présence de modifications parfois très importantes de la composition du 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. Les germes responsables sont essentiellement Gram positifs, mais des mammites à Gram négatif (Entérobactéries) sont aussi décrites dans la littérature.

I.6. Etiologie des mammites :

L'origine des mammites est presque exclusivement infectieuse (Rinaldi et al., 2010-a). Elles sont essentiellement provoquées par des bactéries et beaucoup plus rarement par des levures, champignons, parasites ou virus. La majorité des mammites sont dues à une seule espèce microbienne, très rarement, l'association de deux espèces. Une mamelle saine est considérée comme stérile ; elle n'héberge donc pas de flore normale.

Compte tenu de la multitude de bactéries impliquées dans l'infection de la glande mammaire, seules quelques caractéristiques des germes les plus fréquemment isolés seront détaillées.

Parmi ces germes, il y a les germes d'environnement et les germes contagieux.

I.6.1. Les germes d'environnement :

a- Entérobactéries :

Cette famille comprend de nombreux genres, parmi lesquels trois sont impliqués fréquemment en pathologie mammaire : *Escherichia* (en particulier *E. coli* germe le plus fréquent de cette famille), *Klebsiella*, et *Enterobacter*.

D'autres germes de cette famille peuvent aussi être à l'origine de mammites (*Serratia*, *Proteus*, et *Salmonella*) mais de façon moins fréquente (Smith b P, 2001).

Cependant, le détail de cette famille et son rôle incriminé dans les mammites bovines sera discuté dans le chapitre suivant.

b- *Streptococcus uberis* (Str.uberis):

Ce germe est un germe ubiquitaire, c'est-à-dire qu'il est susceptible d'infecter différents organes et de se multiplier partout. On le retrouve sur la peau, les trayons, le pelage mais aussi sur les naseaux et dans la cavité buccale. C'est une coque Gram+ de forme cocci en chaînette. Il est très présent dans l'environnement.

Str. uberis est responsable de mammites cliniques (plutôt en début de lactation et au tarissement) et de mammites subcliniques. Il est souvent décrit dans deux modèles (environnemental et contagieux). Dans la majorité des cas, les animaux se contaminent au contact de l'environnement, de très nombreuses souches sont alors retrouvées (caractère polyclonal). Mais il est possible que les animaux sains se contaminent au contact d'animaux infectés ainsi la bactérie évolue sous le type contagieux, on trouve un nombre réduit de souches responsables des mammites de l'exploitation (caractère oligoclonal) (Serieys F, 2011).

c- *Streptocoque dysgalactiae* (St. dysgalactiae):

St. dysgalactiae est une coque Gram positif, spécifique des bovins, que l'on retrouve sur la peau, les lèvres et les muqueuses, ainsi que dans les fèces. La source principale des infections se trouve dans l'environnement, mais une transmission de vache à vache lors de la traite est aussi possible. Il est responsable de mammites cliniques aiguës sans répercussion sur l'état général, ainsi que d'une multiplication du taux cellulaire de l'ordre de 5,7 (Remy D, 2010).

d- *Pseudomonas aeruginosa*:

Elle est à l'origine de mammites cliniques aiguës voire quelque fois suraiguës. La survenue des mammites est généralement sporadique, mais elles peuvent toucher parfois plus du tiers du troupeau. Dans ce cas, la source de l'infection est souvent l'eau utilisée pour nettoyer le matériel de traite. La bactérie est capable de résister aux défenses de l'organisme *via* la formation de biofilm : c'est pourquoi les chances de succès d'un traitement sont faibles à nulles (Smith B P, 2008).

I.6.2. Les germes contagieux :**a. *Staphylococcus aureus*:**

Encore appelé staphylocoque coagulase+, c'est une bactérie Gram positif, immobile, non sporulée et dépourvue de capsule. Elle est présente presque partout à la surface de la peau, et en particulier jusqu'au bout du trayon. Son danger vient de ce que dans 80 % des cas il se manifeste par des mammites subcliniques. Sa présence est souvent associée à celle de lésions cutanées au niveau des mains du trayeur. Son action pathogène suppose sa pénétration par le canal du trayon. Le germe pénètre de façon profonde dans le parenchyme mammaire et donne lieu à la formation d'abcès au sein du parenchyme. La contamination des vaches se fait surtout par la traite. Il entraîne la présence d'un taux d'infection subclinique très élevé accompagné d'un taux d'infections cliniques faible. La dissémination du germe est bien contrôlée par le trempage ainsi que par le traitement au tarissement (Smith B P, 2008).

b. *Staphylocoques coagulase négative* (SCN):

Ils se distinguent par des propriétés culturales et biochimiques (absence de coagulase). Ce sont *S. hyicus*, *S. xylosus*, *S. epidermitis*, *S. chromogenes*, *S. warneri*, *S. simulans* et *S. sciuri*...

Les SCN sont des hôtes normaux des animaux et sont fréquemment isolés comme des agents opportunistes. Ils sont responsables de taux cellulaires compris entre 200 et 400.000, voire 500.000 dans 10 % des cas. La prévalence de leurs infections semble être plus élevée chez les primipares. La durée des infections dépasse fréquemment 200 jours (Sears P, 2003).

c. *Streptococcus agalactiae* :

Ce germe vit uniquement dans le pis de la mamelle et ne survit que quelques minutes à l'air libre. C'est une bactérie Gram positif, oxydase (-), catalase (-), immobile se regroupant par deux ou en chaînette plus ou moins longue. Très répandu il y a quelques dizaines d'années, mais dont la prévalence a particulièrement chuté depuis l'application du plan anglais (particulièrement l'hygiène de traite et le traitement systématique au tarissement). Il est capable d'adhérer aux cellules épithéliales mammaires, en particulier dans les canaux galactophores, où il provoque une inflammation locale conduisant (en absence de traitement) à l'obstruction de ces canaux et donc à une diminution de la production laitière avec présence de zones fibrosées dans la mamelle (ce mécanisme est commun à tous les streptocoques et même aux staphylocoques au niveau des canaux galactophores). L'infection tend à devenir chronique avec une hausse notable de la concentration cellulaire dans le lait (Smith B P, 2008).

c. *Arcanobacterium pyogènes*:

Il s'agit d'un germe anaérobie, responsable des mammites d'été. Lors de cette pathologie il intervient en association avec d'autres germes (en particulier *Fusobacterium necrophorum*). La transmission se fait depuis le tractus génital, les lésions du trayon, de la mamelle, ou de toutes autres blessures, vers le canal du trayon via une mouche *Hydroateia irritans*. Les mammites d'été ont lieu principalement sur les génisses et les vaches tarées (Remy D, 2010).

Après le canal du trayon, l'infection se propage à tout le parenchyme mammaire pour former des abcès atteignant l'ensemble du quartier. Cette infection évolue généralement soit vers la chronicité, soit vers la destruction du quartier. A noter qu'en absence de traitement on observe 50 % de mortalité (Smith B P, 2008).

D'autres auteurs classent les agents étiologiques en pathogènes majeurs et en pathogènes mineurs. Les pathogènes majeures sont les espèces ; qui potentiellement peuvent être responsables des mammites cliniques, alors que les pathogènes mineurs ne le sont qu'exceptionnellement (Tableau II).

Tableau II : Classification des germes de mammité bovine (Remy D, 2010).

Types de germes	Germes contagieux	Germes d'environnement
Germes pathogènes majeurs	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase positive)	<i>E. coli</i> <i>Streptococcus uberis</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella</i>
Germes pathogènes mineurs	Staphylocoque coagulase négative (SCN) <i>Corynebacterium bovis</i>	Champignons Levures

On constate que *E.coli*, et *Klebsiella* font partie des germes pathogènes majeurs des mammites bovines.

Chapitre II :
Les mammites à
Entérobactéries

II.1 Etude des agents étiologiques :

II.1.1. Définition générale des entérobactéries :

Les entérobactéries sont définies comme des bacilles à Gram négatif, non sporulés, immobiles ou mobiles grâce à une ciliature péritriche. Elles se développent en aéro-anaerobiose et sur gélose nutritive ordinaire. Elles acidifient le glucose par voie fermentative avec souvent production de gaz et réduisent les nitrates en nitrites (sauf certaines souches d'*Erwinia* et de *Yersinia*). Elles n'ont pas d'oxydases et possèdent une catalase (sauf *Shigella dysenteriae* sérotype 1). Elles contiennent un antigène commun et un contenu en GC% de l'ADN compris entre 39 et 59 % (Janda et Abbott., 2006).

II.1.2. Taxonomie et classification:

Actuellement, les entérobactéries sont placées sur la base du séquençage des ARN 5S et 16S dans l'un des 10 groupes formant les Eubactéries, celui des Protéobactéries. Dans ce groupe, elles appartiennent à la sous-classe gamma (Valérie L, 2007).

La subdivision des genres et espèces à l'intérieur de la famille des entérobactéries est basée sur la comparaison des caractéristiques physiologiques, biochimiques, antigéniques et génétiques des bactéries.

Même si la classification est en constante évolution, la famille des Enterobacteriaceae comprend à l'heure actuelle plus de 40 genres différents (Cf. Tableau III) et près de 200 espèces qui ont été décrits depuis la *Serratia* reconnue par Bartolomeo en 1823 jusqu'aux derniers genres *Samsonia* en 2001 et *Dickeya* en 2004 (Jean F, 2007).

Tableau III. Différents genres appartenant aux *Enterobacteriaceae* (Bernard Joly et Alain Reynaud, 2003).

Genres traditionnels	Genres rares ou récemment décrits
<i>Escherichia</i> *, <i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Citrobacter</i> *, <i>Klebsiella</i> *, <i>Enterobacter</i> *, <i>Serratia</i> *, <i>Hafnia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> , <i>Yersinia</i> *, <i>Erwinia</i> , <i>Morganella</i>	<i>Cedecea</i> *, <i>Ewingella</i> *, <i>Pantoea</i> *, <i>Rahnella</i> *, <i>Budvicia</i> *, <i>Buttiauxella</i> *, <i>Kluyvera</i> *, <i>Leclercia</i> , <i>Tatumella</i> *, <i>Moellerella</i> , <i>Trabulsiella</i> *, <i>Yokenella</i> *, <i>Edwardsiella</i> , <i>Leminorella</i> , <i>Pragia</i> , <i>Photorhabdus</i> , <i>Xenorhabdus</i> , <i>Obesumbacterium</i> , <i>Arsenophorus</i> ,

(*) : Indiquent les genres identifiés comme présentant des espèces de bactéries coliformes.

II.1.3. Caractères bactériologique :

Ils comportent :

a. Caractères morphologiques :

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique de type bacilles à Gram négatif de 2-3 μ m de long sur 0,6 μ m de large, certaines espèces peuvent être très polymorphes, notamment celles du genre *proteus* (Bakhoum ,2004).

Les espèces mobiles les plus nombreuses le sont grâce à une ciliature péritriche. Certaines sont immobiles comme *Klebsiella*, *Shigella* et *Yersinia pestis*. La présence d'une capsule visible au microscope est habituelle chez les *Klebsiella*.

Dans une autre partie, la plupart des espèces pathogènes pour l'homme possèdent des fimbriae ou pili qui sont des facteurs d'adhésion.

b. Caractères culturaux:

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 18 heures à 37°C en aérobiose et en anaérobiose. Sur gélose, on peut obtenir différentes formes :

- Elles sont bombées et rondes à bord net, leur surface est lisse et brillante. il s'agit des formes S (smooth). Après repiquage en bouillon des colonies S, la culture se traduit par un trouble homogène sur toute la hauteur du tube dont l'agitation fait apparaître des ondes moirées.
- Les formes R (rough) s'observent surtout avec les souches ayant subi plusieurs repiquages. Les colonies sont rugueuses, sèches, à contours irréguliers et de teinte mate. En bouillon, elles donnent une culture dont l'aspect est grumeleux.
- Les colonies rugueuses sont habituelles avec les *Klebsiella*. Leur diamètre peut dépasser 10mm ; elles ont une tendance à la confluence. On peut les rencontrer aussi avec d'autres espèces, en particulier chez les *E. coli* et les salmonelles.
- Les colonies naines s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques. C'est le cas par exemple des colonies naines de *E. coli* à la limite de la visibilité sur gélose de Mueller-Hinton, alors qu'elles ont des dimensions normales sur un milieu riche (gélose au sang) (Avril J el al., 2000).

c. Caractères biochimiques :

L'identification proprement dite des Enterobacteriaceae est basée sur l'étude des caractères biochimiques. Parmi ces derniers, il existe trois (03) caractères fondamentaux qui permettent de ranger une bactérie dans la famille des Enterobacteriaceae, à savoir, le métabolisme fermentatif des glucides, l'absence d'oxydase et la réduction des nitrates (Valérie, 2007).

En outre, d'autres caractères peuvent permettre d'avoir rapidement une forte présomption de l'espèce bactérienne isolée se trouvant dans le tableau suivant:

Tableau IV: Caractères biochimiques différentiels du genre Escherichia et des genres d'Enterobacteriaceae proches (Valérie L, 2007).

	ESCHERICHIA	SHIGELLA	CITROBACTER	SALMONELLA	ENTEROBACTER	SERARITIA	HAFNIA	KLEBSIELLA	BUTTIAUXELLA	CEDECEA	KLUYVERA	MOELLERELLA
β-galactosidase	+	d	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+
Uréase	-	-	d	-	-	-	-	d	-	-	-	-
Mobilité à 36 C°	d	-	+	+	+	+	d	-	+	+	+	-
Gaz en glucose	+	-	+	+	+	d	d	d	+	+	+	-
Indole	+	d	d	-	-	-	-	d	-	-	+	-
LDC	d	-	-	+	d	+	+	+	-	-	d	-
Citrate de Simmons	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	+	d	d	d	-	d	-	-
ADH	-	-	d	+	d	-	-	-	-	+	-	-
ODC	d	d	+	+	d	d	+	-	+	d	+	-

+ = positif pour 90% à 100% des souches ; - = négatif pour 90% à 100% des souches ; d = variable selon les souches.

d. Caractères antigéniques :

Parmi les très nombreux antigènes que possèdent les *Entérobactéries* seuls les antigènes O, les antigènes H et les antigènes d'enveloppe (Vi, K...) sont utilisés dans le diagnostic. Ils sont recherchés habituellement par agglutination selon une technique qui a l'avantage d'être simple, rapide et suffisamment précise (Jean F, 2007).

➤ Les antigènes O :

Ce sont des antigènes de paroi constitués de lipopolysaccharides (LPS) qui sont thermostables et résistent à l'alcool ou l'acide.

Les réactions d'agglutination se produisent lentement et sont constituées d'agglutinats granulaires, difficilement dissociables par agitation. Cependant, la spécificité O est perdue par les souches R qui sont auto-agglutinables en eau distillée.

➤ Les antigènes H :

Ce sont des antigènes flagellaires qui ne sont donc présents que chez les souches mobiles. Constitués d'une protéine, la flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool.

➤ Les antigènes K :

Ces antigènes capsulaires sont généralement constitués d'une couche externe polysaccharidique. Parmi les antigènes K, se trouvent les antigènes L, A, B, d'*E.coli* et l'antigène Vi de certaines *Salmonella* ou *Citrobacter*. Ces antigènes peuvent rendre la souche qui les possède inagglutinable par les antisérums O. De même, les antigènes d'adhérence ou adhésines, de nature protéique, en relation avec la présence de pili sont classés parmi les antigènes K (K88, K99).

➤ L'antigène Kunitz :

Cet antigène commun des Enterobacteriaceae n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique.

II.2. Facteurs de virulence :

Les colibacilles ont la capacité d'utiliser le lactose comme source d'énergie et de se multiplier lorsque la tension d'oxygène est faible, ce qui constitue une forme d'adaptation à la mamelle (Hogan JS, 2003).

Lors de la phase exponentielle de croissance dans la mamelle, le temps de génération est de l'ordre de 20 à 30 minutes, ce qui est comparable à celui observé au laboratoire dans un milieu de culture. Le recrutement des cellules dont la vitesse conditionne la résolution de l'infection débute lorsque la concentration bactérienne est d'environ de 10^6 /ml (Lippolis et al., 2009).

Une grande proportion de souches résistent à l'action bactéricide et/ou bactériostatique du Complément, mais pour autant ce caractère n'est pas un prérequis pour infecter la mamelle et s'y multiplier. Il existe une très grande variété de sérotypes (plus de 700) déterminés par les antigènes O et H, de génotypes et de facteurs de virulence chez les souches impliquées dans les mammites, mais jusqu'à aujourd'hui aucun d'entre eux n'a pu être corrélé à la prévalence et/ou la sévérité, des infections (Poutrel, 2010).

Les facteurs d'adhésion ne paraissent pas jouer un rôle important dans la colonisation de la glande mammaire et les bactéries sont présentes dans la lumière du canal du trayon et les sinus lactifères. Des éléments génétiques présents chez des souches impliquées dans des infections urinaires chez l'homme seraient également présents dans les souches de mammites responsables d'infections subcliniques. On ne peut pas exclure que ces souches, d'une certaine façon moins bien adaptées à la mamelle puisque ne provoquant pas une réaction inflammatoire sévère du fait d'une multiplication modérée, soit la résultante de contamination croisées entre l'homme et l'animal (Bradley et al., 2001).

Les *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC) peuvent provoquer des maladies sévères, voire la mort chez des personnes fragiles. Ils sont notamment responsables du syndrome hémolytique et urémique qui se manifeste chez les jeunes enfants et les personnes âgées. Plusieurs épidémies dues à la consommation de lait et de produits laitiers ont été rapportées. La prévalence des gènes *stx1* et *stx2* chez des souches isolées de mammites apparaît très variable selon les auteurs, allant de 0 à 30% (Wenz et al. 2006). En France, une enquête menée sur un échantillon de 123 souches isolées de mammites entre 1953 et 2004 a conclu l'absence de ces gènes (Poutrel, 2010).

Le facteur de virulence majeur des colibacilles responsables de mammites est le LPS car il a été démontré que les signes cliniques des mammites « naturelles » peuvent être reproduits par injection du LPS dans la mamelle et que la sévérité de l'inflammation ainsi induite était dose-dépendante. Cette endotoxine présente dans la paroi des Gram négatif est une molécule pro-inflammatoire, relarguée lors de la multiplication ou la lyse des bactéries. Plusieurs cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL1, l'IL6, l'IL8 et le TNF alpha, produites après fixation du LPS sur des récepteurs vont activer la production de médiateurs de l'inflammation. Une libération importante de ces médiateurs peut conduire à des dommages irréversibles de certains organes, voire à la mort de l'animal (Poutrel, 2008).

Les études protéomiques qui cherchent à caractériser les protéines exprimées dans différentes conditions d'environnement et de culture pourraient à l'avenir permettre de connaître comment les *E. coli* s'adaptent à la mamelle et d'identifier d'éventuels facteurs de virulence spécifiques des souches de mammites (Bradley et al., 2001).

II.3. Pathogénie :

Les entérobactéries sont des germes hôtes de l'intestin, celles isolées du lait de mammites sont habituellement saprophytes, mais, placées dans des conditions propices elles deviennent pathogènes.

II.3.1.Pénétration des germes dans la mamelle :

La première étape du processus infectieux est la contamination de l'extrémité du trayon qui peut survenir pendant ou entre les traites.

Les facteurs d'environnement tels que le logement, le climat et la litière jouent un rôle déterminant. Ils peuvent dans des circonstances défavorables contribuer à la multiplication des bactéries dans le milieu extérieur. Il a été établi que la qualité et la quantité du paillage influent sur la température de la litière et donc sur le développement des entérobactéries potentiellement responsables de mammites (Hanzen, 2013).

Lors de mammites à entérobactéries, les bactéries pénètrent par le canal du trayon puis ils se déplacent du trayon vers les alvéoles de la citerne mammaire où le lait est synthétisé (Rinaldi et al., 2010-b).

II.3.2. Infection de la glande :

Le lait est un bon milieu de culture car il contient peu de cellules immunitaires et les grands volumes sécrétés diluent les systèmes de défenses. Les bactéries vont alors coloniser la mamelle et s'y multiplier grâce à leur équipement enzymatique.

La capacité à coloniser les cellules du parenchyme mammaire est en fonction de l'espèce bactérienne et de la souche. Pour la majorité des entérobactéries, la multiplication de germe se déroule dans le canal du trayon ou dans le sinus lactifère. La capacité d'*E. coli* à utiliser le lactose comme source d'énergie et de se développer en anaérobiose participe au pouvoir pathogène de ce germe. Certaines souches ont une capacité d'adhésion et d'internalisation ; elles possèdent en général un système d'acquisition de fer leur permettant de se développer en présence de fortes concentrations de lactoferrine (Joe Hogan et al., 2003). Ainsi, le facteur de virulence entraînant le plus de répercussion sur l'animal est le lipopolysaccharide (LPS ou l'endotoxine), composant majeur de la membrane externe des bactéries Gram négative, pouvant être libéré lors de la croissance ou la mort de ces derniers. Cette endotoxine provoque la transformation de l'histidine en histamine. Cette dernière, dont le premier effet est une augmentation de la perméabilité vasculaire, serait à l'origine d'une véritable réaction allergique. La perméabilité vasculaire étant augmentée, il se produirait alors un épanchement de plasma dans la mamelle et un passage d'endotoxine dans le sang qui, dans certains cas peuvent être responsables d'une septicémie, souvent fatale à l'animal (Poutrel, 2008).

Cependant, la gravité des symptômes généraux dépend plus de l'animal et de sa réaction immunitaire. Une étude de Wenz et ses collaborateurs (2006) sur les facteurs de virulence d'*Escherichia coli*, a montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre les gènes de virulences (gène *eae* A codant par une protéine d'adhésion, les gènes CNF1 et CNF2 provoquant des dommages vasculaires) et la gravité des symptômes de mammites (Wenz et al., 2006).

II.3.3. Evolutions :

Suivant l'espèce pathogène et de ses facteurs de virulence, de la gestion du troupeau par l'éleveur, ainsi que de l'efficacité des défenses de l'animal (Burton et Erskine, 2003), l'évolution se fait vers :

- La guérison spontanée, lorsque la réponse de l'organisme est suffisante et précoce (Joe Hogan et *al.*, 2003).
- La persistance de l'infection traduisant un équilibre entre la multiplication du microorganisme et les défenses de l'animal. La multiplication des bactéries provoque un afflux des polymorphonucléaires (PMN) qui diminuent le nombre de bactéries actives, ce qui en retour, limite la mobilisation des leucocytes. Il s'ensuit un nouveau développement microbien et un nouvel afflux de PMN, etc. On obtient un état fluctuant caractéristique des infections mammaires subcliniques (Hanzen, 2013).
- L'extension de l'infection pouvant aboutir à la perte complète ou partielle de fonctionnalité de la glande, et dans les cas extrêmes, à la mort de l'animal (Hanzen, 2013).

II.4 Caractéristiques symptomatologiques des mammites à Entérobactéries :

Les entérobactéries sont généralement à l'origine de mammites cliniques aiguës (symptômes locaux et généraux) et subaiguës (symptômes locaux uniquement). On observe dans ces cas, une guérison clinique spontanée en 2 à 3 jours, et bactériologique pour 66 % des quartiers en moins de 10 jours. Ce fait explique que dans 20 % des cas les examens bactériologiques puissent être négatifs. Elles peuvent aussi être à l'origine, dans moins de 10% des cas, de mammites suraiguës (avec une atteinte très importante de l'état général), dites «colibacillaires». Ainsi, Il existe une forme chronique d'infections mammaires à entérobactéries où les germes ne restent pas cantonnés dans la sécrétion mammaire, en localisation strictement extracellulaire, mais sont vraisemblablement internalisées dans les cellules épithéliales mammaires (Poutrel, 2010).

En fait, les infections à entérobactéries ont des caractéristiques différentes selon le moment de leur installation. Celles qui s'installent pendant la lactation sont le plus souvent de courte durée se traduisant par des mammites cliniques qui peuvent être sévères. Les infections s'installant pendant la période sèche ont un taux d'expression clinique plus faible avec une symptomatologie moins sévère (Hanzen, 2013).

Les mammites dits « colibacillaires » sont dues principalement à *Escherichia coli* et *Klebsiella spp* (Poutrel, 2008). Elles s'accompagnent en général de symptômes associés au choc endotoxinique et à la bactériémie : Une hyperthermie intense et souvent précédé d'un épisode diarrhéique, polypnée, tachycardie, déshydratation, atonie ruminale, et apathie. Les troubles nerveux observés (abattement, paraplégie) sont dus à une intoxication. La sécrétion lactée est fort altérée et prend un aspect séreux, jaune cidre ou couleur bière. L'agalaxie est de règle. L'évolution peut être mortelle.

De façon beaucoup moins fréquente on observe également des cas de mammites dues à un autre genre d'entérobactéries telles que *Serratia* et *Enterobacter*. Les deux espèces retrouvées lors de mammites à *Serratia* sont *S. marcescens* et *S. liquefaciens*. Même si elles appartiennent au groupe des entérobactéries, elles sont à l'origine principalement de mammites subcliniques, parfois subaiguës (Nakajima et al., 1997). Enfin, les mammites à *Klebsiella spp* sont davantage persistantes.

II.5. Epidémiologie :

II.5.1. Prévalence des Entérobactéries responsables de mammites :

Les enquêtes effectuées sur les mammites à entérobactéries soulignent la variété des germes rencontrés et reflètent les fluctuations qui existent quant à leur fréquence d'isolement (Cf. tableau V et VI) sans doute en raison de différences à la fois dans l'échantillonnage, le stockage des échantillons et les méthodes bactériologiques, des différences de climats et de latitude et aussi dans les conditions d'élevage (Seegers et al., 1997).

Tableau V : Prévalence des mammites cliniques à *E. coli* selon l'origine géographiques (Poutrel, 2010).

Pays	Année	Prévalence relative (%)
Australie	2009	25.6
Canada	1998	17.2
Corée	2003-2009	19.1
France	2008	17.0
UK	2004-2005	26.7
USA	2007	21.0
Suède	2003	15.9

Pendant 6 ans en Corée, Nam et al (2009), isolèrent à partir de lait de mammites cliniques 841 germes Gram négatif, dont 87 % d'entérobactéries (cf. Tableau VI).

Tableau VI : Analyse de 841 cultures de germes gram négatif isolés à partir de lait de vaches atteintes de mammites cliniques (Nam et al., 2009).

Bactéries isolés	Nombre d'isollements(%)
<i>Escherichia coli</i>	161 (19.1)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	59 (7.0)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	57 (6.7)
<i>Enterobacter cloacae</i>	54 (6.4)
<i>Acinetobacter lwoffii / junii</i>	51 (6.0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46 (5.4)
<i>Serratia marcescens</i>	38 (4.5)
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	38 (4.5)
<i>Acinetobacter calcoaceticus baumannii</i>	19 (2.2)
<i>Citrobacter freundii</i>	17 (2.0)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	17 (2.0)
<i>Pantoea agglomerans</i>	13 (1.5)
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	13 (1.5)
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	12 (1.4)
Autres	154 (18.3)
Non identifie	92 (10.9)
Total	841

Selon Hanzen en 2013, il a montré que les germes les plus rencontrés sont les coliformes, à savoir, *Escherichia coli* (pathogène majeur le plus dominant), *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *aerogenes*, *Hafnia sp.* et *Citrobacter freundii* (pathogènes mineurs) (Hanzen, 2013).

D'une manière générale, la prévalence des mammites cliniques à entérobactéries oscillent entre 15 et 30% selon les études. En France, Poutrel et ses collaborateurs (2010) isolèrent 193 entérobactéries (23%) dont 65 % d'*Escherichia coli*, 11% de *Serratia spp* et 9 % de *Klebsiella pneumoniae*.

Ainsi, Selon Anderson (1990), les coliformes sont retrouvés dans 20 à 80% des mammites cliniques aiguës aux Etats Unis. Dans une autre étude, Bradley et al (2007) montrent que les coliformes sont responsables de 50% des mammites durant les 100 premiers jours de la lactation.

II.5.2. La source de l'infection :

Les Entérobactéries sont des agents pathogènes dits environnementaux. On les retrouve en très grande quantité dans la flore fécale qui est à l'origine de la contamination de l'environnement dans lequel évoluent les vaches (logettes, aire paillée). Ainsi, lors d'une épidémie de mammites à entérobactéries, on retrouve de très nombreuses souches différentes (caractère multi clonale) dans un même élevage, ce qui conforte l'idée que ces espèces ont leur réservoir essentiellement dans l'environnement avec des phénomènes de contagion limités (Poutrel, 1985).

Cependant, plusieurs études ont découvert que certains événements de mammites rapprochés dans le temps, d'un même quartier ou de quartiers différents de la même mamelle, étaient dus à la présence de la même souche d'*E. coli* (Bradley et Green., 2007). Ces études analysaient le génotype des différentes souches bactériennes par des techniques de REP et ERIC-PCR. Etant donné la diversité des souches *E. coli* présentes dans l'environnement, les auteurs de ces différentes études ont conclu que les cas répétés de mammites n'étaient pas dus à de nouvelles infections par la même souche, mais plutôt à la persistance de la même souche dans la mamelle, signant la présence d'une infection persistante.

II.5.3. Facteurs de risques :

II.5.3.1. Facteurs liés à l'animal :

II.5.3.1.1. Stade de lactation :

Il existe 2 périodes critiques pour l'apparition de nouvelles infections : le péri-partum et le tarissement.

a. Le peripartum :

Les mammites à entérobactéries surviennent le plus fréquemment autour du vêlage. Pendant cette période (colostrogénèse et début de lactation), on constate une augmentation de la sensibilité de la glande mammaire, ainsi qu'une augmentation de la pression pathogène liée aux germes d'environnement (mauvaises conditions hygiéniques du vêlage)(Hanzen, 2013).

La diminution de la fonction immunitaire ainsi que de la migration leucocytaire dans la glande mammaire au cours des premiers jours du post-partum contribuent à augmenter la sensibilité de la glande mammaire aux infections colibacillaires (Hogan et Smith, 2003).

b. Le tarissement :

Au tarissement, la population bactérienne sur l'extrémité du trayon augmente du fait de l'arrêt de la traite et de l'application de ses mesures d'hygiène ; le canal du trayon serait également plus perméable durant cette période et favorise ainsi l'entrée d'agents pathogènes de l'environnement; et aussi les facteurs de résistance se trouvent altérés (leucocytes, lactoferrine...) (Hanzen, 2013).

Le taux de nouvelles infections est plus élevé pendant le tarissement que pendant la lactation. Il serait chez des vaches non traitées, compris entre 8 et 12%. Ainsi, on remarque que le risque d'infection par *Escherichia coli* est trois à quatre fois plus élevé après le tarissement qu'en période de pleine lactation (Hogan et Smith, 2003).

II.5.3.1.2. L'Age et numéro de lactation :

La fréquence des cas cliniques augmente avec la parité (Seegers, 1997). Cet accroissement de sensibilité serait dû à l'évolution de la morphologie de la mamelle avec l'âge (augmentation du diamètre du canal du trayon et relâchement des ligaments suspenseurs de la mamelle). Elle conduit à l'idée que les vaches âgées (plus de 4 lactations) donc vraisemblablement infectées auparavant, sont incapables de développer une immunité locale efficace. Il existe une relation certaine entre l'âge de l'animal et son statut sanitaire : plus il est âgé, plus les risques sont grands pour qu'il soit infecté. En fait, les explications de cette observation sont nombreuses. Pour l'animal, elle peut se traduire par l'accroissement de la probabilité de rencontrer avec le temps un germe pathogène et aussi par l'augmentation de la réceptivité de cet animal (diminution de l'efficacité du canal du trayon en tant que mécanisme de défense). Il est également connu que l'activité des polymorphonucléaires est plus élevée chez les primipares.

II.5.3.1.3. Morphologie de la mamelle :

Les vaches avec une mamelle développée et pendulaire avec de longs trayons sont beaucoup plus prédisposées aux infections. La distance entre l'extrémité des trayons et le sol est un paramètre important : plus ils sont près du sol plus le risque de contamination et de traumatisme est important. Les trayons en forme de cylindre sont plus souvent infectés que ceux en forme d'entonnoir, la forme en bouteille étant la plus défavorable. De même, la dissymétrie des quartiers est un facteur de risque car les quartiers antérieurs, moins volumineux, peuvent être victimes de sur traite. Ainsi qu'une perte de lait entre les traites augmente le risque de mammites (Hanzen, 2013).

II.5.3.1.4. Le niveau de production laitière :

Diverses études ont démontré l'accroissement de l'incidence des mammites avec celui du niveau de production (Seegers, 1997). Ainsi, sur base d'un coefficient de corrélation égal à 0.30, Hanzen (2013) a observé qu'une augmentation annuelle de la production laitière de 54 Kg s'accompagnait d'une augmentation de l'incidence de mammites cliniques de 0.4% et du nombre de cas cliniques par vache et par an de 0.02.

II.5.3.2. Facteurs liés à l'environnement et à la conduite d'élevage :

II.5.3.2.1. Influence de la litière :

La contamination des mamelles par les germes d'environnement se fait principalement lors du couchage sur des litières souillées. Ainsi, une litière sale et peu abondante constitue un milieu de choix pour la prolifération des entérobactéries. Le niveau de contamination des litières représente le facteur d'infection par les micro-organismes de l'environnement à maîtriser. Ce niveau de contamination des litières n'est pas lié à l'état de propreté optique des litières (Serieys, 1985) mais plutôt aux conditions d'ambiance. Une humidité ambiante élevée, lors de mauvaises conceptions du bâtiment et de défauts de ventilation, accélère la prolifération bactérienne. Ainsi, une élévation de température est associée à une charge bactérienne accrue des surfaces de couche. De fait, une augmentation estivale des entérobactéries est constatée (Ward et al., 2002).

Par ailleurs, la prolifération des bactéries à Gram négatif est fonction du pH, elle est favorisée lorsqu'il égale 8,5 à 9,5 (Ward et al., 2002).

La nature de la litière joue aussi un rôle important. De manière plus précise la paille d'avoine coupée et les copeaux de cèdre sont moins favorables au développement des germes que le papier journal. Ainsi, La sciure de bois constitue un substrat très favorable à la multiplication des bactéries coliformes et notamment des *Klebsiella* et *Enterobacter* (Hogan et Smith, 1997).

II.5.3.2.2. Influence de la machine à traire :

La machine à traire peut influencer le déclenchement des affections mammaires. En fait, elle est considérée comme un réservoir secondaire des germes. Si elle est mal réglée, elle peut être également à l'origine de traumatismes des trayons. La technique de traite, l'hygiène et l'entretien de la machine jouent alors un rôle très important (Federici C et Godin M, 2002).

II.5.3.2.3. Influence de l'alimentation :

Les troubles de l'équilibre nutritionnel favorisent le passage à l'état aigue des infections mammaires latentes ou subcliniques (Poutrel, 1985). En effet, selon Hanzen (2010), une alimentation à base d'ensilage et comprenant souvent de forte proportions de concentrés favorise les troubles digestive avec émission de fèces diarrhéiques riches en entérobactéries qui iront coloniser le trayon.

D'autre part, une ration hyper azotée pourrait inhiber la formation des acides gras insaturés de l'épithélium du canal du trayon, ces acides gras ayant un effet bactériostatiques sur les germes de l'infection mammaire. De même, les carences ou les déséquilibres minéraux et vitaminiques entraîneraient une diminution de la phagocytose. La fréquence des mammites cliniques se trouve-t-elle réduite respectivement de 62% après administration journalière simultanée de 50 mg de sélénium et de 1000 UI de vitamine E au cours des 3 semaines précédant le vêlage. Par ailleurs, le manque de cellulose dans la ration est un facteur qui favorise l'apparition de l'acidose du rumen et cette dernière rend l'animal plus vulnérable (Hanzen, 2013).

II.6. Diagnostic et contrôle des mammites cliniques :

II.6.1. Diagnostic :

Les mammites cliniques peuvent être diagnostiquées soit par l'observation des signes cliniques, soit par un diagnostic bactériologique du lait qui permet l'identification d'un pathogène.

a. Le diagnostic clinique :

Ce diagnostic repose sur la mise en évidence des symptômes généraux, locaux et fonctionnels caractéristiques de l'inflammation de la mamelle. Il s'appuie surtout sur l'examen visuel et la palpation de la mamelle, mais encore sur l'examen macroscopique de la sécrétion lactée (Rosenberger, 1979).

- A L'examen visuel, on cherche la taille, le siège et la forme de l'ensemble de la mamelle, de chaque quartier et des trayons par l'avant, le coté et l'arrière.
- La palpation intéresse le canal, le sinus du trayon, la paroi, le sinus galactophore, le tégument et le parenchyme glandulaire du quartier. On constate ainsi, une inflammation (chaleur), un œdème, des indurations (zones de fibrose dans le quartier), une douleur, adénite et éventuellement des indurations dans le canal du trayon ou une pyodermite d'échauffement entre l'intérieur de la cuisse et la mamelle (Lepage, 2003).
- L'examen des sécrétions mammaires doit permettre d'évaluer : la couleur, l'odeur, la consistance, la viscosité, l'homogénéité et la quantité (diminuée, absence). Ainsi, Quand une mammite apparaît, on observe une modification de la coloration du blanc au jaune (couleur « cidre » lors de mammites dite « colibacillaires ») ou au rouge sombre (lors de mammites gangreneuses). L'odeur se modifie aussi de douce aigre (germes anaérobies), acide (colibacilles) à nauséabonde (œuf pourri) lors de mammites pyogènes (Durel et al., 2004). Le plus couramment, on observe une altération de l'homogénéité du lait, la présence de grumeaux, de gros amas de fibrine ou de pus, visible sur un bol à fond noir. Une baisse de production laitière est aussi observée lors d'infections mammaires : celle-ci peut être très importante lors d'infections aiguës, à très modérée lors d'infections subcliniques (Lepage, 2003).

Enfin, L'examen clinique général complétera l'examen de la mamelle permettant ainsi d'apprécier les répercussions sur l'ensemble de l'organisme.

b. Le diagnostic bactériologique :

La recherche des bactéries responsables des mammites est le seul moyen qui permette de connaître avec un très haut degré de certitude l'étiologie de la maladie. L'examen bactériologique est une arme précieuse dans la stratégie de lutte contre les mammites bovines (Bouchot et *al.*, 1985). Il consiste à mettre en culture des échantillons de lait dans un milieu contrôlé pour faire des clones de l'agent pathogène. Ces clones sont soumis à différents tests afin de les caractériser. On obtient un résultat entre 5 et 8 jours, ce qui permet, sur plusieurs prélèvements, d'orienter sur la nature du germe, les mesures médicales et prophylactiques à mettre en œuvre.

Un suivi régulier des quatre quartiers (au moins une fois par mois (Miller, 1984)) permet un bon suivi de l'évolution de l'infection. La détection répétée d'un même pathogène chez une vache marque la présence d'une infection chronique.

L'alternance de bactériologie négative, positive et négative, révèle la présence d'un épisode infectieux qui a été résolu. Des bactériologies répétées négatives ; alors que l'animal est exposé à des agents pathogènes ; signent la présence d'un animal résistant.

Le diagnostic bactériologique répété de toutes les mamelles est considéré comme la meilleure mesure de détection des infections intramammaires (Miller, 1984) car il permet de détecter les mammites cliniques, les mammites subcliniques et d'identifier l'agent pathogène responsable. Si le diagnostic bactériologique est réalisé peu de temps après le prélèvement, le vétérinaire peut adapter le traitement des animaux malades spécifiquement contre l'agent pathogène identifié.

Toutefois, si les intervalles de temps sont trop longs entre deux prélèvements, des résultats négatifs peuvent cacher des épisodes infectieux de courte durée. Il peut exister quelques biais à cette méthode liés à des erreurs d'identification de germe. Le diagnostic bactériologique est habituellement effectué dans des laboratoires agréés, ce qui requiert une logistique de prélèvement et de transport des échantillons et entraîne un coût non négligeable (environ 12-15 € /échantillon). Il est donc difficile d'envisager un diagnostic bactériologique des ruminants en routine (Hanzen, 2013).

Actuellement, divers tests sont commercialisés et permettent une identification rapide (en quelques minutes à quelques heures) de l'agent infectieux. Parmi ces tests, on peut citer le Speed

Mam Color® qui non seulement permet une connaissance du germe mais permet également d'évaluer sa sensibilité à une gamme d'antibiotiques.

Il existe également des techniques complémentaires de biologie moléculaire qui permettent d'identifier les espèces bactériennes dans le lait par analyse de l'ADN bactérien. Après extraction de l'ADN total du lait, une région discriminante de l'ADN bactérien est amplifiée par PCR. Les fragments d'ADN sont ensuite séparés par électrophorèse et le profil obtenu permet d'identifier les bactéries (Poutrel, 2010).

c. Méthodes indirects et dépistage des infections intra-mammaires :

Le principal critère indirect de détection des mammites repose sur les concentrations de cellules somatiques du lait (CCS). Chez les bovins laitiers, en absence d'infections intramammaires, les valeurs des CCS sont faibles. Même si les valeurs observées varient selon les études, elles sont généralement inférieures à 100 000 ou 300 000 cellules/ml chez la vache (Serieys, 1985; Harmon, 1994; Schepers A. J et al., 1997).

La CCS du lait peut être considérée comme une estimation de la concentration en neutrophiles du lait et donc comme une caractérisation de l'état inflammatoire de la mamelle (Schukken et al., 2009).

La numération des cellules somatiques du lait peut s'appliquer indifféremment à des échantillons de lait de quartier, de lait individuel (mélange des laits des quatre quartiers) ou de lait de troupeau (lait du tank) (Serieys, 1985). Les comptages microscopiques sur lames (méthode de Breed) constituent la méthode de référence mais elle n'est pas automatique et ne peut être appliquée à grande échelle. En pratique, ce sont les méthodes instrumentales qui sont employées. La plus utilisée, c'est la méthode directe automatique fluoro-optoélectronique qui est basée sur le comptage des noyaux cellulaires dont l'ADN est rendu phosphorescent (appareil Fossomatic, société Foss Electric).

Il existe un autre critère indirect de détection des infections intramammaires. Celui-ci repose sur la conductivité électrique du lait (Fernando et *al.*, 1982). Elle permet de mesurer les changements de concentration ionique du lait lors d'une inflammation. Elle a l'avantage de pouvoir être utilisée directement dans la salle de traite, si l'appareil de traite est équipé de sondes. Elle permet de détecter 80% des mammites cliniques et 45% des mammites subcliniques (Norberg et *al.*, 2004).

En résumé, il existe différents paramètres qui permettent de mesurer ou de prédire l'état infectieux de la mamelle. En pratique, le vétérinaire appuie son diagnostic sur l'épidémiologie et les signes cliniques de façon à mettre en place un plan thérapeutique au plus vite possible. Plusieurs alternatives sont possibles, le choix d'un traitement adéquat est fait selon les moyens et la symptomatologie. L'examen bactériologique joue un rôle important dans l'orientation thérapeutique.

II.6.2. Contrôle des mammites cliniques :

Selon Poutrel (1985), pour lutter contre les mammites, il faut à la fois réduire la durée des infections établies et diminuer la fréquence des nouvelles infections. Autrement dit, une lutte efficace doit se baser sur le traitement et la prophylaxie.

a. Traitement :

Les principaux objectifs du traitement des mammites cliniques devraient être :

- Obtenir une guérison bactériologique du quartier infecté ;
- Diminuer les symptômes locaux et généraux et réduire la période d'expression clinique voire éviter la mortalité ;
- Minimiser les pertes de production laitière ;
- Préserver la valeur bouchère des animaux ;
- Limiter les délais d'attente pour le lait et la viande ;
- Ne pas contrecarrer les mécanismes naturels de défense de la mamelle.

Lors de mammites colibacillaires, la thérapeutique visera davantage à traiter l'inflammation que l'infection. Le choix d'un antibiotique approprié supposera bien souvent la réalisation d'un antibiogramme. Un antibiotique bactéricide est souhaitable compte tenu que les vaches sont souvent immunodéprimées. Néanmoins, l'administration d'antibiotique peut aggraver la situation clinique par la libération d'endotoxines lors de la lyse des bactéries. L'utilisation d'anti-inflammatoires devrait minimiser cette conséquence néfaste.

Les Fluoroquinolones, céphalosporines et gentamycine sont les molécules de choix contre les infections aux coliformes. Cependant, Ces derniers présentent une résistance aux tétracyclines (15 à 35 % des souches), à l'ampicilline (10 à 40% des souches) et à la dihydrostreptomycine (10 à 15 % des souches) et ce sont les principales résistances rencontrées en pathologie mammaire (Poutrel, 2010).

Divers traitements complémentaires ont été recommandés : l'Ocytocine (30 UI), un massage régulier (toutes les heures) de la glande mammaire, administration de sérum glucosé à 5% (40 ml / kg durant la première heure puis 10 à 20 ml/ kg au cours des heures suivantes pour un apport total de 20 à 60 litres selon l'animal, l'état d'hydratation et l'importance des pertes liquidiennes) et solution de borogluconate de calcium. L'acidose métabolique parfois observée lors de mammite colibacillaire sera corrigée au moyen d'une solution bicarbonatée à 5 %.

L'injection de corticoïdes doit être très précoce. Les corticoïdes injectés entraînent la libération de lipocortine connue pour inhiber le cycle de synthèse des prostaglandines. Ce fait explique la réduction très nette de l'efficacité des corticoïdes une fois les signes cliniques apparus. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibent le cycle de la cyclo oxygénase et diminuent la synthèse de métabolites issus de l'acide arachidonique (thromboxane, prostaglandine). Ils limitent ainsi les effets néfastes des endotoxines.

b. Prophylaxie :

La prophylaxie est basée sur l'ensemble des moyens permettant, d'une part, de diminuer la fréquence des nouvelles infections et d'autre part, de réduire la durée des infections existantes.

❖ Hygiène et gestion du troupeau :

Une thérapie du troupeau hors lactation accompagnée de bonnes pratiques hygiéniques, notamment au moment de la traite, sont des outils efficaces pour contrôler les mammites colibacillaires (Hutton et *al.*, 1990).

Il faut choisir une litière qui héberge le moins possible d'entérobactéries et qui présente des conditions défavorables à la prolifération des germes. C'est la paille qui réunit ces deux conditions. Elle sera donc préférée pour la confection et le renouvellement des litières.

La multiplication des entérobactéries sur les litières est évitée en supprimant les facteurs favorables à leur prolifération (humidité, pH et chaleur). Pour cela, il faut renouveler fréquemment les litières. On pourra également répandre des désinfectants : Ayrat Florence (2004) préconisent un spray de paraformaldehyde à 5% et observent une diminution notable de la population en entérobactéries sur les litières pendant 2 à 3 jours, cet effet persiste environ 7 jours.

Pour diminuer l'incidence des mammites, il est conseillé :

- 1- de laver les trayons avant la traite, avec une serviette différente pour chaque animal ;
- 2- de tremper les trayons dans une solution désinfectante avant la traite ;
- 3- d'utiliser des gants ;
- 4- de désinfecter la salle de traite.

Il est aussi important de maintenir l'environnement dans des conditions aussi hygiéniques que possible (Hillerton et *al.*, 2002).

Le fait de nourrir les vaches juste après la traite permet au trayon d'avoir le temps de se refermer avant que les vaches ne se couchent et que le trayon soit en contact avec la litière souillée (Bartlett et *al.*, 1992).

Récemment, il a été montré que le respect des règles ci-dessus permettait de diminuer les CCS (Plozza et *al.*, 2011). De plus, l'élimination des animaux avec des mammites chroniques ou récurrentes permet aussi de mieux gérer l'état sanitaire global du troupeau (Neave et *al.*, 1969). Ainsi, l'obturation des trayons lors du tarissement pour limiter l'entrée des agents pathogènes dans la mamelle permet de limiter les infections intramammaires.

❖ Vaccination :

Il existe un vaccin commercial dénommé J5, depuis de nombreuses années aux Etats-Unis, au Canada et plus récemment en France. Il s'agit d'une souche mutante « rough » de *E. coli* qui possède un LPS incomplet, dépourvu de chaînes lipopolyosidiques, exposant ainsi le « core », partie commune à tous les coliformes ;

Contre un challenge expérimental, le vaccin J5 ne protège pas contre l'infection et ne diminue pas la sévérité des mammites (Poutrel, 2010). Certaines données du terrain rapportent une diminution de l'incidence des mammites cliniques, celle des animaux vaccinés 2 à 3 fois est moindre que celle observée pour les animaux non vaccinés. Les pertes en lait journalières seraient inférieures de 6 à 15 kg pour un animal vacciné comparativement à un animal « contrôle » (Poutrel, 2010).

Le mécanisme par lequel l'immunisation réduit l'incidence des mammites cliniques n'est pas connu. La vaccination réduirait la durée de l'infection de 25 % et celle des signes cliniques de 50 % (Poutrel, 2010). Or la durée et la sévérité de l'infection, elles sont corrélées avec le nombre d'*E. coli* présents dans la mamelle et ce dernier est plus faible chez les animaux vaccinés. Il est peu vraisemblable que les anticorps interviennent soit pour neutraliser l'effet toxique du LPS, soit pour accroître la phagocytose par les PMN.

Il a été suggéré que le vaccin stimulerait, de manière non spécifique, l'immunité cellulaire par la voie Th1, avec production de médiateurs stimulant les fonctions des macrophages et le recrutement des PMN (Poutrel, 2010). Cette hypothèse permet d'expliquer la protection qui a pu être parfois observée après vaccination par le J5 vis-à-vis des bactéries Gram positif.

Partie II :
Partie expérimentale

Chapitre I :

Matériel et méthodes

I.1. Objectifs :

Les mammites cliniques sont parmi les pathologies majeures liées à la production laitière bovine qui entraînent une perte de production considérable. La connaissance de la nature et la fréquence des germes responsables des mammites présentent un intérêt pour définir une stratégie de lutte. Parmi les germes rencontrés, les entérobactéries viennent en tête des germes d'environnement et font actuellement une augmentation nette de la prévalence des mammites (Oliver S P et *al.*, 2011) qui, par conséquent, devient un sérieux problème dans de nombreuses fermes laitières.

Devant ce constat, nous nous sommes intéressés à réaliser les objectifs suivants :

- Evaluer la prévalence des mammites cliniques dans quarante-deux exploitations laitières de la région de Bordj Bou Arreridj;
- Etudier quelques facteurs susceptibles de favoriser l'apparition des mammites cliniques chez la vache laitière ;
- Déterminer l'identité et la fréquence des entérobactéries responsables de ces infections ;
- Evaluer la sensibilité aux antibiotiques *in vitro* de ces germes isolés de lait de mammité.

I.2 Cadre de l'étude :

I.2.1. Lieu de l'étude :

- ✓ La présente étude a été faite dans quarante-deux exploitations situées dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj et, plus précisément, dans les communes de El Achir et de Medjana durant une période de 12 mois allant du 1^{ier} février 2012 jusqu'au 30 janvier 2013.
- ✓ La région de Bordj Bou Arreridj se trouve au Nord de l'Algérie, à 234 km à l'est d'Alger. Elle est située sur le territoire des Hautes plaines, à cheval sur la chaîne de montagne des Bibans. En effet, elle se trouve à mi-parcours du trajet séparant Alger de Constantine. La wilaya de Béjaïa au nord, Bouïra à l'ouest, de M'Sila au sud et de Sétif à l'est en composent les frontières. Elle est respectivement située à 60 km de Sétif, 58 km de M'sila, et 100 km de Béjaïa (Cf. figure 2).
- ✓ Son climat continental offre des températures chaudes en été et très froides en hiver, parmi les plus basses d'Algérie.

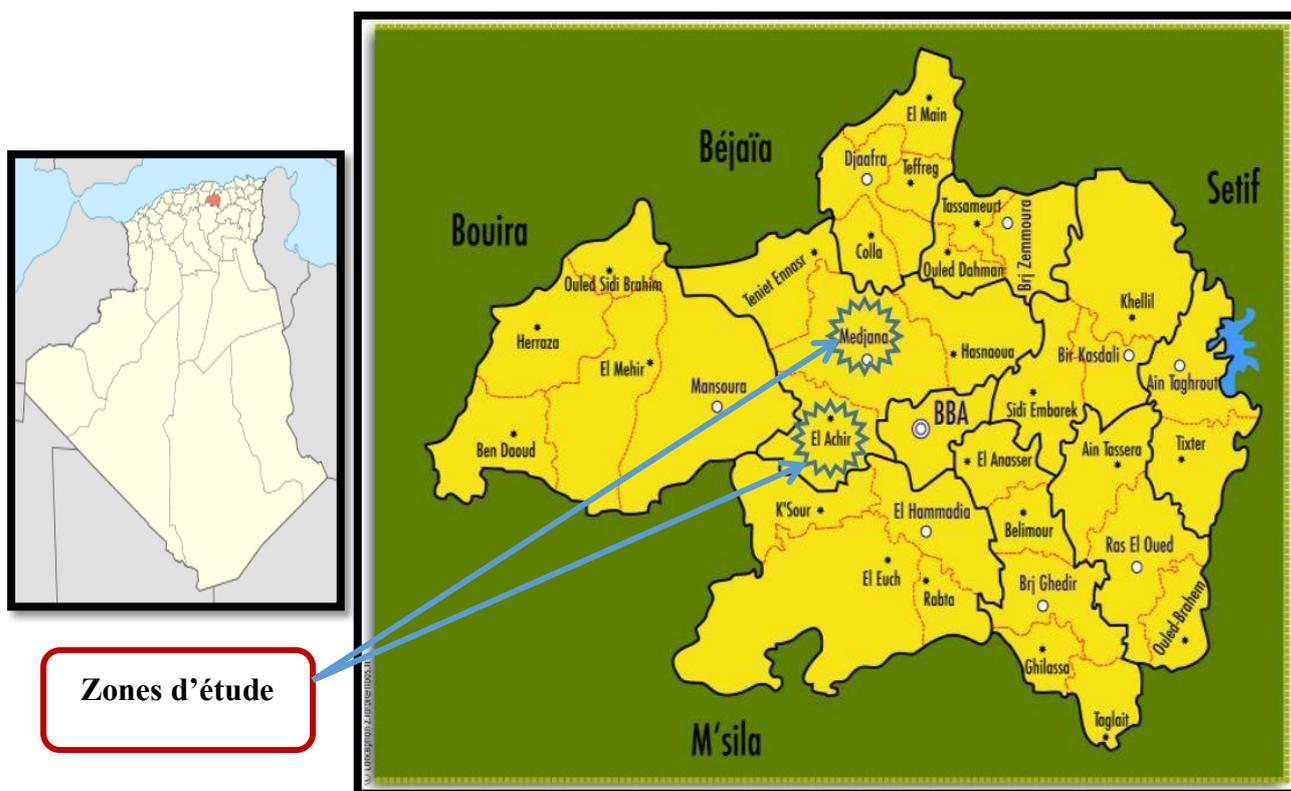


Figure 2 : Carte géographique présentant le lieu de l'étude.

I.2.2. Période de l'étude :

L'étude s'est réalisée sur 12 mois : de 01 Février 2012 au 30 janvier 2013.

I.3. Matériel et méthodes :

I.3.1. Exploitations :

- La facilité d'accès des exploitations de vaches laitières et la disponibilité des éleveurs ont été les seuls critères de choix.
- Notre étude a porté sur un effectif de 343 vaches laitières en lactation.
- Ces vaches sont de races Prim'Holstein ($n = 185$), Montbéliarde ($n = 70$), croisés ($n = 33$) et Fleckvieh ($n = 55$), appartenant à 42 élevages bovins laitiers situés dans deux communes de la région EST de l'Algérie, à savoir, la commune de l'EL Achir ($n = 18$) et la commune de Medjana ($n = 24$).
- Vingt-cinq pour cent de ces vaches étaient en première lactation, 35 % et 40 % sont respectivement en deuxième et en troisième lactation ou plus.

- La taille des troupeaux était variable, de cinq à vingt-trois vaches par ferme.
- Les élevages sont à stabulation entravée chez 65 % des exploitations. Chez 85 % des cas, l'hygiène de l'aire de couchage est défavorable (humide et non paillée).
- Le niveau d'hygiène a été médiocre dans l'ensemble. Avant la traite, même le simple lavage des trayons a été négligé. Il n'y a pas eu de trempage des trayons ni d'utilisation de serviettes individuelles.
- L'alimentation des vaches laitières était diversifiée à base de foin, de blé ou d'avoine, de fourrage vert et du concentré.

I.3.2. Les questionnaires Epidémio-cliniques :

Pour l'identification de quelques caractéristiques des élevages laitiers influençant le statut sanitaire des vaches, on a réalisé une enquête par le biais d'une fiche de renseignements relatifs à la conduite d'élevage, à son hygiène et aux observations cliniques observées.

Il comportait des données épidémiologiques (stade de lactation, conduite de l'élevage et son hygiène,...) et des données cliniques (température rectale, sévérité de la mammite, ...) (Annexe 1).

Ces données ont été choisies car elles ont un intérêt majeur lors de la description épidémiologique des cas de mammites et lors de la modélisation. Ils ont aussi été choisis en fonction des données bibliographiques et des études précédemment réalisées en Algérie (Bouaziz, 2005 ; Z. Boufaïda et *al.*, 2012 ; Saidi, 2013).

I.3.3. Examen clinique :

Il s'est déroulé en deux étapes.

a- Examen général :

Cette étape consistait à décrire l'aspect externe de l'animal c'est-à-dire sa robe, son état d'embonpoint, son allure et son attitude. Elle consistait aussi, à décrire l'état des muqueuses oculaire, buccale et nasale. Enfin nous avons pris la température rectale de l'animal afin d'apprécier son état de santé.

b- Examen local :

L'inspection et la palpation de la mamelle nous a permis de décrire l'état d'inflammation de la mamelle (chaleur, rougeur, œdème et douleur) et de déterminer le type de mammite clinique rencontrée. En inspectant la mamelle, nous recherchions également, la présence des plaies et des tiques. C'est à travers la palpation, que nous avons décelé la présence des indurations dans la mamelle.

I.3.4.Prélèvements :

Dans notre étude, nous avons considéré que seules les « mammites cliniques » font l'objet de prélèvements en vue d'analyse bactériologique.

Nos résultats portent donc uniquement sur les mammites cliniques des vaches laitières. Un cas de mammite est défini comme un quartier qui présente au minimum ; une modification apparente du lait et / ou une modification du quartier. Chaque cas de mammite ainsi défini est alors le point de départ de prélèvements.

Les prélèvements ont été réalisés en collaboration avec 4 vétérinaires praticiens exerçant dans la zone d'étude.

I.3.4.1.Matériel nécessaire :

Le prélèvement de lait ne nécessite qu'un matériel de base restreint :

- ❖ Pots de prélèvement stériles ;
- ❖ Gants d'examen ;
- ❖ Coton hydrophile ou compresses ;
- ❖ Alcool à 70 ° ;
- ❖ Papier absorbant ;
- ❖ Feutre indélébile, si le pot de prélèvement est sans étiquette ;
- ❖ Glacière avec bains de glace, si la bactériologie est réalisée plus tard.

I.3.4.2.Technique de prélèvement :

La valeur d'un examen bactériologique de lait « mammiteux » dépend en grande partie de la qualité du prélèvement et de la technique de l'opérateur.

La technique de prélèvement a été codifiée en 9 points selon des enseignements de Mialot (1983).

1. Lavage des mains.
2. Lavage et séchage des trayons.
3. Désinfection de l'extrémité du trayon avec un coton imbibé d'alcool à 70°.
4. Elimination du premier jet de lait.
5. Le flacon est saisi entre le pouce et les doigts de la main gauche puis retourné, le bouchon dirigé vers le bas.
6. On dévisse le bouchon avec la main droite, puis flacon et bouchon sont maintenus dans la main gauche leurs ouvertures dirigées vers le sol afin d'éviter toute contamination.
7. Le trayon est saisi par la main droite puis ramené en position latérale et trait presque horizontalement dans le flacon incliné au moment où le lait gicle.
8. Le flacon est refermé avant d'être totalement redressé.
9. Enfin, il est identifié par le numéro de la vache, le quartier prélevé, et la date.

Lorsque l'on prélève plusieurs quartiers, on respecte un ordre de prélèvement inverse de l'ordre de désinfection, afin d'éviter de toucher un trayon non prélevé avant de le prélever.

Les prélèvements ont été transportés dans un container isotherme (glacière) et expédiés sous 48 heures au laboratoire, quelquefois ils sont congelés en vue d'une analyse groupée.

Un prélèvement de lait destiné à un examen bactériologique est utilisable pendant plusieurs semaines maintenu à -18°C .

I.3.5. Analyses bactériologiques :

Toutes les analyses bactériologiques ont été réalisées au laboratoire d'analyses et de contrôle de qualité situé dans la commune de EL Achir. Elles ont été effectuées selon les méthodes classiques d'isolement des bactéries les plus fréquentes dans le lait de vache.

I.3.5.1. Matériel nécessaire pour la bactériologie :

➤ **Milieux de cultures :**

Tous les milieux de cultures utilisés sont fabriqués par l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA) :

- Gélose nutritive ;
- Gélose Mac Conkey ;
- Milieu Mueller-Hinton ;
- Bouillon trypticase soja.

➤ **Verreries et appareillages : (voir annexe 2).**

➤ **Réactifs et solutions : (voir annexe 3).**

I.3.5.2. Méthodes :

I.3.5.2.1. Ensemencement, isolement et purification des germes :

A l'arrivée du prélèvement au laboratoire on ensemence une gélose nutritive additionnée de 5 % de sang de mouton par un inoculum de 50 à 60 μ L de lait. Ce milieu permet d'isoler la majorité des espèces bactériennes potentiellement responsables de mammites.

Le milieu est ensuite placé à l'étuve à 35°C. Deux lectures sont réalisées respectivement à 24 et à 48 heures. Certaines colonies ne devenant visibles qu'après 36 à 48 heures d'incubation.

L'ensemencement est réalisé par la méthode standard d'épuisement de l'inoculum utilisée pour réaliser les isollements. Cette technique est illustrée par la figure 3.

En parallèle, on met en culture 1 mL de lait dans un bouillon d'enrichissement trypticase-soja. Ce bouillon servira si la lecture à 24 heures de la gélose au sang s'avère négative.

Ce bouillon est intéressant pour la détection des entérobactéries qui sont inhibées par la lactoferrine du lait, l'isolement direct pouvant alors se révéler faussement négatif

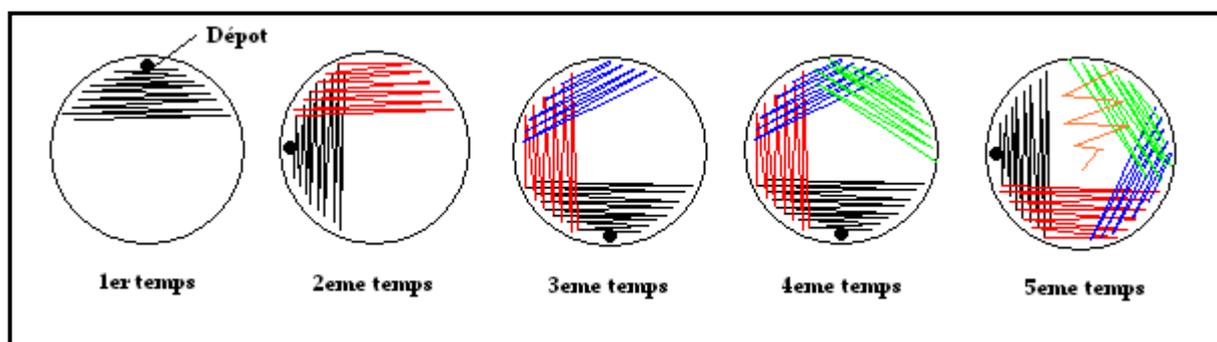


Figure 3: Technique d'ensemencement sur gélose.

- Lors de la première lecture à 24 heures les colonies apparues ont été décrites sur le plan macroscopique (forme, couleur, odeur et activité hémolytique). Chaque type de colonie a été ensuite repiqué sur une gélose Mac Conkey pour sélectionner les bactéries à gram négatif et en même temps obtenir une culture pure. Ces boîtes ont été ensuite incubées à l'étuve (37°C) pendant 24 heures.
- En l'absence de croissance bactérienne visible, on repique le bouillon d'enrichissement sur une gélose au sang de mouton à 5 %.
- Lors de la deuxième lecture à 48 heures, on observe l'isolement direct et la culture après enrichissement. Si on observe de nouveaux types de colonies, ils seront isolés par la même méthode précédemment citée. A ce stade, la lecture de l'isolement direct est terminée, on peut conclure sur la qualité du prélèvement (Cf. tableau VII). Tout isolement comportant plus de deux types de colonies doit être considéré comme contaminé.
Dans notre étude, nous considérons que les prélèvements avec deux types de colonies différents sont des infections bi-microbiennes.

Tableau VII : Evaluation de la qualité du prélèvement (d'après National Mastitis Council, 1996).

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

I.3.5.2.2. Identification des germes :

N'est précisée que la méthode d'identification des entérobactéries.

Un schéma récapitulatif des différentes techniques utilisées pour l'identification bactériologique des entérobactéries a été développé dans la figure ci-dessous :

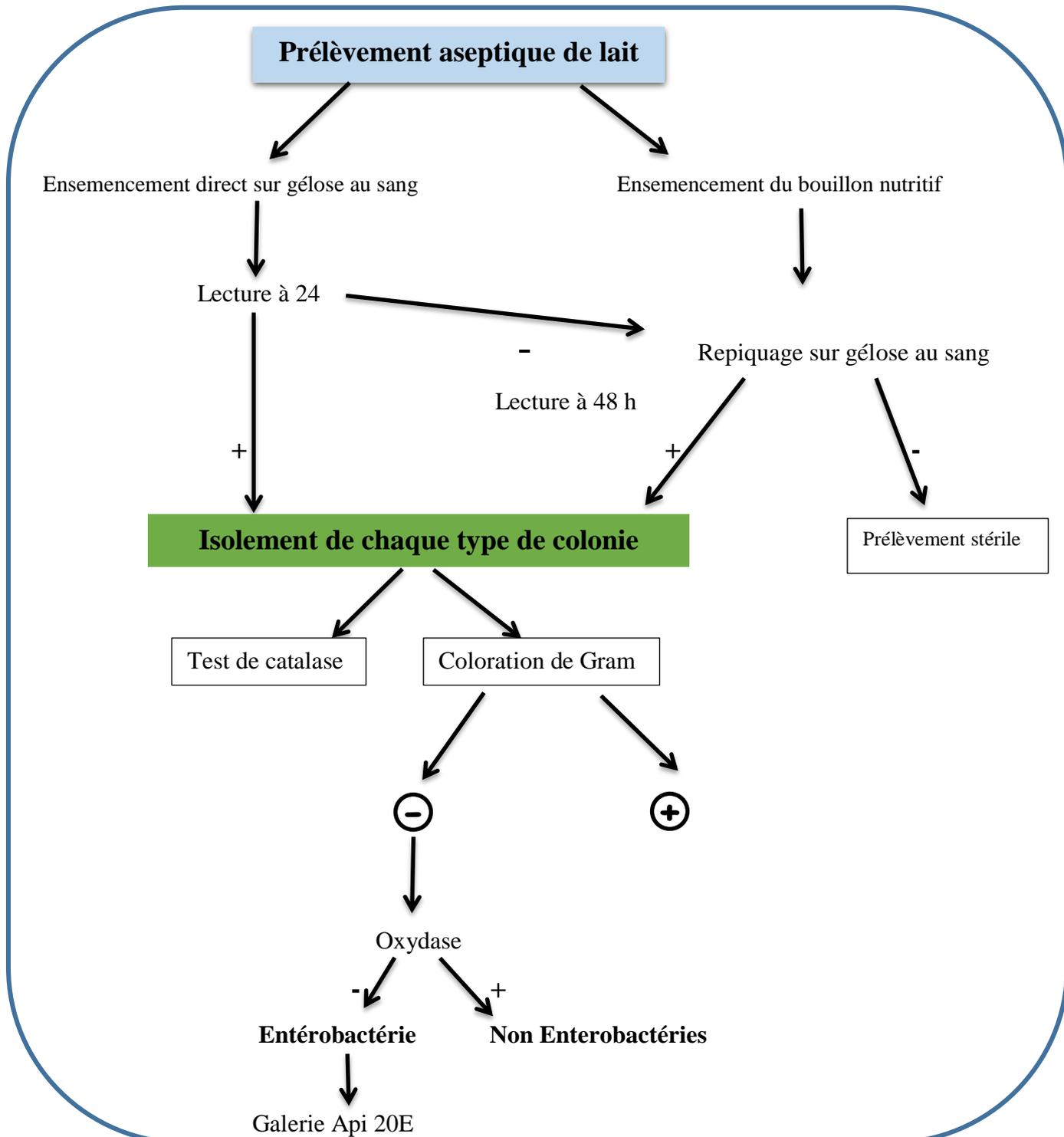


Figure 4 : Présentation schématique du protocole d'identification des entérobactéries dans le lait.

A. Examen macroscopique :

L'identification des entérobactéries a été effectuée en premier lieu par l'observation macroscopique des colonies après l'ensemencement sur la gélose lactosée de Mac Conkey. Ce milieu permet la croissance des entérobactéries et des bacilles à gram négatif non exigeant.

La morphologie des colonies sur ce milieu oriente le diagnostic. Il permet la différenciation entre colonies lactose + et lactose - :

- Colonies rose à rouge brique (lactose +) ;
- Colonies incolores (lactose -).

Ainsi, certains bacilles à Gram négatif se présentent comme suit :

- ❖ *Escherichia coli* se présente sous forme de grosses colonies sèches, lactose positive, à contour irrégulier ;
- ❖ *Klebsiella pneumoniae* : grosses colonies muqueuses, lactose positive, ressemblant à des gouttes de miel ;
- ❖ *Proteus* : envahit la gélose par ondes successives et concentriques ;
- ❖ les Enterobacter donnent des colonies lactose positive, légèrement bombées et muqueuses.

B. Examen microscopique :

L'identification des entérobactéries a été ensuite poursuivie par l'absence de catalase et d'oxydase et par la coloration de Gram.

- ✓ La catalase est une enzyme qui hydrolyse le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. A partir des colonies prélevées avec soin sur la gélose nutritive, nous avons réalisé un frottis sur lequel on dépose quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène. La présence de catalase se matérialise par une production de bulles. Les entérobactéries sont toutes des catalases positives, à l'exception de *Shigella dysenteriae*.
- ✓ le test de l'oxydase permet de mettre en évidence la phénylène diamine oxydase, une enzyme sécrétée par certaines bactéries Gram négatifs qui est capable d'oxyder un réactif appelé le N diméthyl paraphénylène diamine. Ce réactif est incolore et en

présence de l'enzyme, il libère un composé rose-rouge, noircissant à l'air donnant ainsi une coloration violette. Les bacilles fermentaires oxydase négatifs sont présumés entérobactéries et les oxydases positifs sont considérés non Entérobactéries (NE).

- ✓ La coloration de Gram est une technique de base en bactériologie qui consiste à inonder la bactérie avec le violet de gentiane et le Lugol (agent de mordantage), puis à décolorer (rapide) à l'alcool + acétone, et enfin à recolorer à la safranine ou à la fuchsine. Elle permet à l'aide du microscope optique de distinguer les bactéries à Gram positif (coloration violette) des bactéries à Gram négatif (coloration rose).

C. Identification biochimique des souches : Galerie API 20E

Les souches préalablement isolées et purifiées sont identifiées sur des galeries miniaturisées API 20E (Galeries pour les entérobactéries).

➤ Principe :

Il s'agit de galeries qui se présentent sous formes de produits déshydratés que l'on réhydrate par inoculation de notre suspension de germe à identifier. Les tests réalisés dans cette galerie sont :

- La fermentation des carbohydrates : Glucose, Mannitol, Inositol, Sorbitol, Rhamnose, Saccharose, Mélibiose, Amylase et Arabinose.
- La décarboxylation des acides aminés : Lysine, Ornithine et Arginine.
- L'utilisation du Citrate comme seule source de carbone.
- La production d' H_2S , l'hydrolyse de l'urée, la formation d'indole, la production d'acétoïne, l'hydrolyse de gélatine et l'hydrolyse de l'ONPG.

Après incubation de 18-24h à 37°C, les réactions produites se traduisent par des virages colorés ou révélés par l'addition de différents réactifs pour la lecture :

- Le réactif de KOVACS pour la recherche de la production d'indole.
- Le chlorure ferrique pour le tryptophane désaminase (TDA).
- Le réactif VP-1 (solution alpha naphthol) et le réactif VP-2 (solution aqueuse d' $Na OH_4 N$) pour le test de Voges Proskauer.

La lecture de ces résultats se fait à l'aide d'un tableau fourni avec les galeries et l'identification se fait par rapport au catalogue analytique de Bio Mérieux.

➤ **Technique :**

- **Préparation de la galerie :**

- ❖ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- ❖ Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- ❖ Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum :**

- ❖ Prélever une colonie bien isolée sur milieu gélosé, puis la mettre dans 5ml d'eau physiologique stérile.

- **Inoculation de la galerie :**

- ❖ Remplir à l'aide d'une pipette pasteur les tubes et cupules des tests CIT, VP, et GEL avec la suspension bactérienne.
- ❖ Remplir uniquement les tubes et non les cupules des autres tests.
- ❖ Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDH, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de vaseline stérile.
- ❖ Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18-24h.

➤ **Lecture :**

- ❖ Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées. Puis réaliser les tests nécessitant l'addition de réactifs : Test VP, TDA, IND.
- ❖ Avec le tableau d'identification : comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau : chaque cellule de ce tableau contient les pourcentages de positivité.
- ❖ Avec le catalogue analytique : Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1, 2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre à 7 chiffres qui sert de code d'identification.
- ❖ Se référer à un catalogue analytique ou l'identification est donnée avec un pourcentage et une appréciation.

I.3.6. Contrôle de qualité :

La souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 a été utilisée pour tester l'efficacité des milieux de culture, des réactifs et des Galeries API 20E.

I.3.7. L'Antibiogramme :

Après identification des différentes souches d'entérobactéries responsables de mammites cliniques, une recherche de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide selon la technique préconisée par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011).

I.3.7.1. Principe de l'antibiogramme :

La technique consiste à déposer à la surface de la gélose préalablementensemencée avec une suspension bactérienne, des disques de papier buvard imprégnés des différents antibiotiques. Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose à partir du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque. Après 18 heures d'incubation à 37 C°, chaque disque est entouré ou non, d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne. La multiplication des bactéries s'arrête là où existe dans la gélose, une concentration d'antibiotique égale à la CMI. On détermine une valeur critique inférieure (diamètre minimum) et une valeur critique supérieure (diamètre le plus élevé) permettant de classer les souches en sensibles (au-dessus de la valeur critique supérieure), résistantes (en dessous de la valeur critique inférieure) et intermédiaires (entre ces deux valeurs).

I.3.7.2. Antibiotiques :

Les antibiotiques testés sont sélectionnés parmi les molécules actives actuellement sur les entérobactéries et ceux qui sont utilisés le plus couramment par les vétérinaires praticiens dans le traitement des mammites en lactation et / ou hors lactation (Cf. tableau VIII).

Tableau VIII: Liste des antibiotiques et leurs charges respectives.

Famille	Antibiotiques	Code	Charge du disque
β- lactamines	Ampicilline	AM	10µg
	Amoxicilline+ Acide clavulanique	AMC	20/10µg
	Cefalexine	CL	30µg
	Céfotaxime	CTX	30µg
Aminosides	Kanamycine	K	30µg
Cyclines	Tétracycline	TE	30µg
Sulfamides	Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	SXT	25µg
Quinolones	Acide Nalidixique	NA	30µg
	Ofloxacine	OF	5µg
Polypeptides	Colistine	CL	25µg
Aminoglycosides	Streptomycine	S	10µg
Phenicols	Chloramphénicol	C	30µg

I.3.7.3. Techniques de l'antibiogramme par diffusion des disques :

Les souches isolées ont été testées par la méthode de diffusion en milieu solide selon la technique préconisée par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011) recommandée par l'OMS et agréée par de nombreux pays.

Le milieu utilisé est la gélose Muller-Hinton fabriqué par l'institut pasteur d'Algérie (IPA).

- Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm ;
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

Le test est réalisé comme suit :

a- Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mac Farland ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. Pour notre étude et par commodité, un spectrophotomètre à été utilisé (Cf. figure 05).



Figure 5 : Ajustement de l'opacité de l'inoculum à l'aide d'un spectrophotomètre.

b-ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées (Cf. figure 06).
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

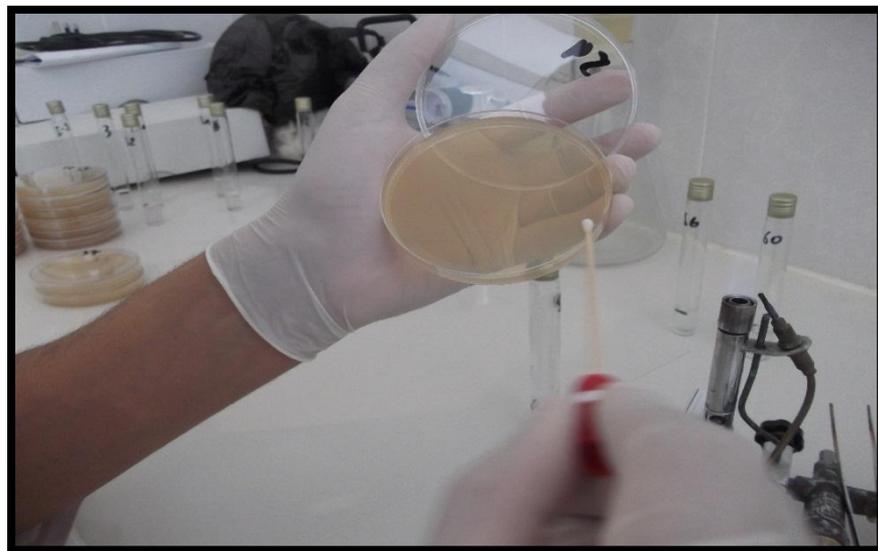


Figure 06 : Ensemencement sur gélose Muller Hinton.

c- Application des disques d'antibiotiques :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.
- Les disques d'antibiotiques (HIMEDIA®) choisis sont posés à la pince flambée. Deux précautions sont importantes à respecter :
 - ✓ les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose ;
 - ✓ une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés au minimum de 30 mm de sorte que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.

d- Incubation :

Les boîtes sont incubées à 35°C pendant 18 heures au plus tard 15 minutes après avoir été inoculées.



Figure 7: Incubation des boîtes Petri.

e- Lecture et interprétation :

- La lecture se fait en mesurant les diamètres d'inhibition exprimés en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse.
- les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée.
- L'interprétation est effectuée conformément aux indications du fournisseur (HIMEDIA®).
- Les souches pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur au seuil de résistance sont considérées comme «résistantes».
- Les souches pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur au seuil de sensibilité sont considérées comme « sensibles» et les souches pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre le seuil de résistance et le seuil de sensibilité sont considérées comme «intermédiaires».

f- Contrôle de qualité :

La souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 a été utilisée dans les mêmes conditions de test et d'incubation pour tester l'efficacité des antibiotiques.

I.3.8. Recherche de la β -lactamase à spectre élargi (BLSE) :

Les BLSE désignent des enzymes « β -lactamases » produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* spp, entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3ème génération (C3G) (Céfotaxime, Ceftriaxone, Ceftazidime) et des monobactames (Aztréonam), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (Céfoxitine, moxalactam) ni des carbapénèmes (imipénème).

Selon les recommandations du CLSI (M100-S21), la recherche de la BLSE pour l'interprétation de la sensibilité des entérobactéries aux céphalosporines n'est plus obligatoire.

La détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.

On recherchera une BLSE devant un diamètre inférieur aux valeurs suivantes :

- ❖ Céfotaxime (CTX à 27mm) ;
- ❖ Ceftazidime (CAZ à 22mm);
- ❖ Ceftriaxone (CRO à 25mm);
- ❖ Aztréonam (ATM à 27mm).

Le test de recherche de BLSE que nous avons utilisé est le test de synergie.

a- Technique :

Un inoculum a été préparé selon la technique CLSI de l'antibiogramme à partir d'une culture de 18 heures. Une gélose Mueller-Hinton a étéensemencée selon la technique CLSI de l'antibiogramme, puis on dépose un disque d'amoxicilline+acide clavulanique (AMC 20/10µg) à 30mm centre à centre d'un disque d'une cephalosporines de troisième génération C3G (ceftriaxone, Ceftazidime et céfotaxime) ou un monobactame (aztréoname) (Cf. figure 08).

Les boîtes de pétri sont incubées pendant 18 heures à 37 °C.

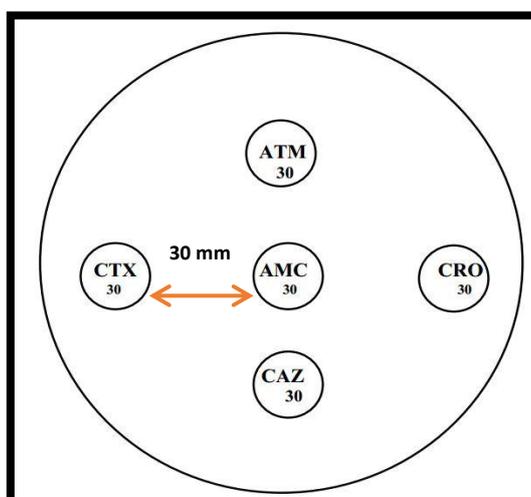


Figure 8: Disposition des disques d'antibiotiques dans le test de double synergie

ATM : aztréoname ; AMC : amoxicilline+acide clavulanique ; CAZ : Ceftazidime ;

CTX : Céfotaxime ; CRO : Ceftriaxone.

b- Lecture :

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne ou en entonnoir (Voir figure 9) entre les disques :

- AMC et CTX ;
- AMC et CAZ ;
- AMC et ATM.

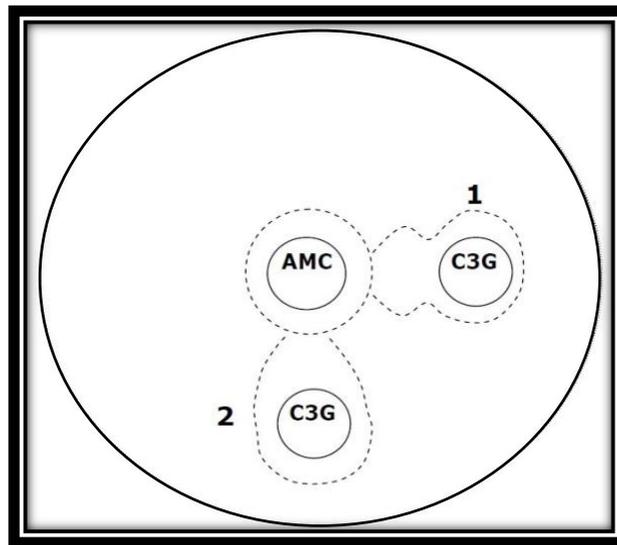


Figure 9: Description de l'image de synergie :
1: Synergie en bouchon de champagne, 2: Synergie en entonnoir.

I.3.9. Analyses statistiques :

Le test de khi-deux et le test exact de Fisher sont utilisés pour tester l'indépendance entre variable aléatoire. Toute valeur de $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative.

Chapitre II :

Résultats

II.1. Description des résultats épidémiocliniques :

II.1.1. Prévalence de mammites cliniques :

Au total, sur les 343 vaches laitières examinées, 125 vaches ont présenté des signes de mammite clinique, soit un taux de 36 % . Ces cas ont concerné 140 quartiers de 125 vaches. Ces résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

Tableau IX : Prévalence de mammites cliniques.

Nb total des vaches examinées	Nb des vaches à mammites cliniques	Prévalence de mammites cliniques
343	125	36%

II.1.2. Résultats de l'étude clinique :

Les indications sanitaires et les symptômes cliniques avec leurs fréquences sont regroupés sous forme d'un tableau (tableau X).

Tableau X : Descriptions des cas de mammites cliniques.

Indication sanitaire et cliniques	Caractéristiques	Nombre	Pourcentage
Existence de cas cliniques antérieurs sur le même quartier	Cas antérieurs	25	18%
	Pas de cas antérieurs	115	82%
Température rectale	Inférieure à 39 °C	92	65%
	Supérieure ou égale à 39°C	48	35%
Evaluation de l'état générale	Normale	88	62%
	Baisse d'appétit et de vivacité	44	31%
	Vache bien malade	8	7%
Production laitière de quartier	Normale	80	57%
	>à la moitié de la normale	42	30%
	< à la moitié de la normale	10	7%
	Nulle ou < à 1L	8	6%
Aspect du quartier	Enflé	123	88%
	Très enflé et douloureux	17	12%
Aspect du lait	Petits caillot en début de trait seulement	119	85%
	Gros caillot	15	10%
	Aspect d'eau ou de cidre	6	5%

Nous constatons à partir de ces résultats que :

- la majorité des vaches à mammites cliniques n'a pas d'antécédents cliniques, et qu'il n'y a pas de répercussion sur l'état général ; celui-ci est évalué « normal » par l'éleveur dans plus de 60% des cas et une hyperthermie est notée dans moins de la moitié des cas. S'ajoute à cela, la production laitière qui est souvent non modifiée ;
- Pour ce qui est des signes locaux, dans de nombreux cas, il y a une modification de l'aspect du quartier et celui du lait. Ce dernier est fortement modifié avec présence de caillots (Figure 10).
- Ainsi, il y a souvent de modifications des signes locaux avec une inflammation notable de la glande qui caractérise les mammites aiguës (Voir photos 1et 2 dans la figure11).

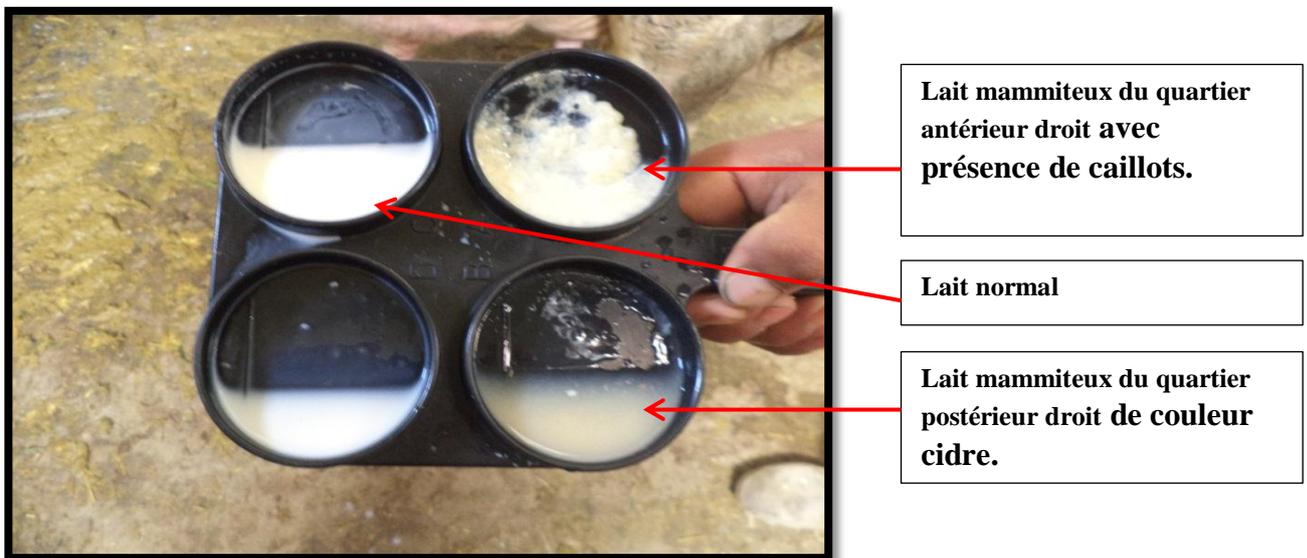


Figure 10 : Examen de la sécrétion lactée (Photos personnelle)

Par ailleurs, nous avons détectés 9 (6%) cas de mammite chroniques avec une perturbation nette des signes fonctionnels tels que la modification de la couleur du lait de la mamelle atteinte et la diminution de la sécrétion lactée. A cela s'ajoutent des signes locaux tels que l'abcédation du quartier mammaire, et une asymétrie des quartiers. (Voir photos 3, 4, et 5 dans la figure11). Ces résultats sont regroupés dans le tableau N° XI.

Tableau XI : Différents types de mammites rencontrées.

Type de mammite	aigues	Suraiguës	chroniques
Nombre	115	1	9

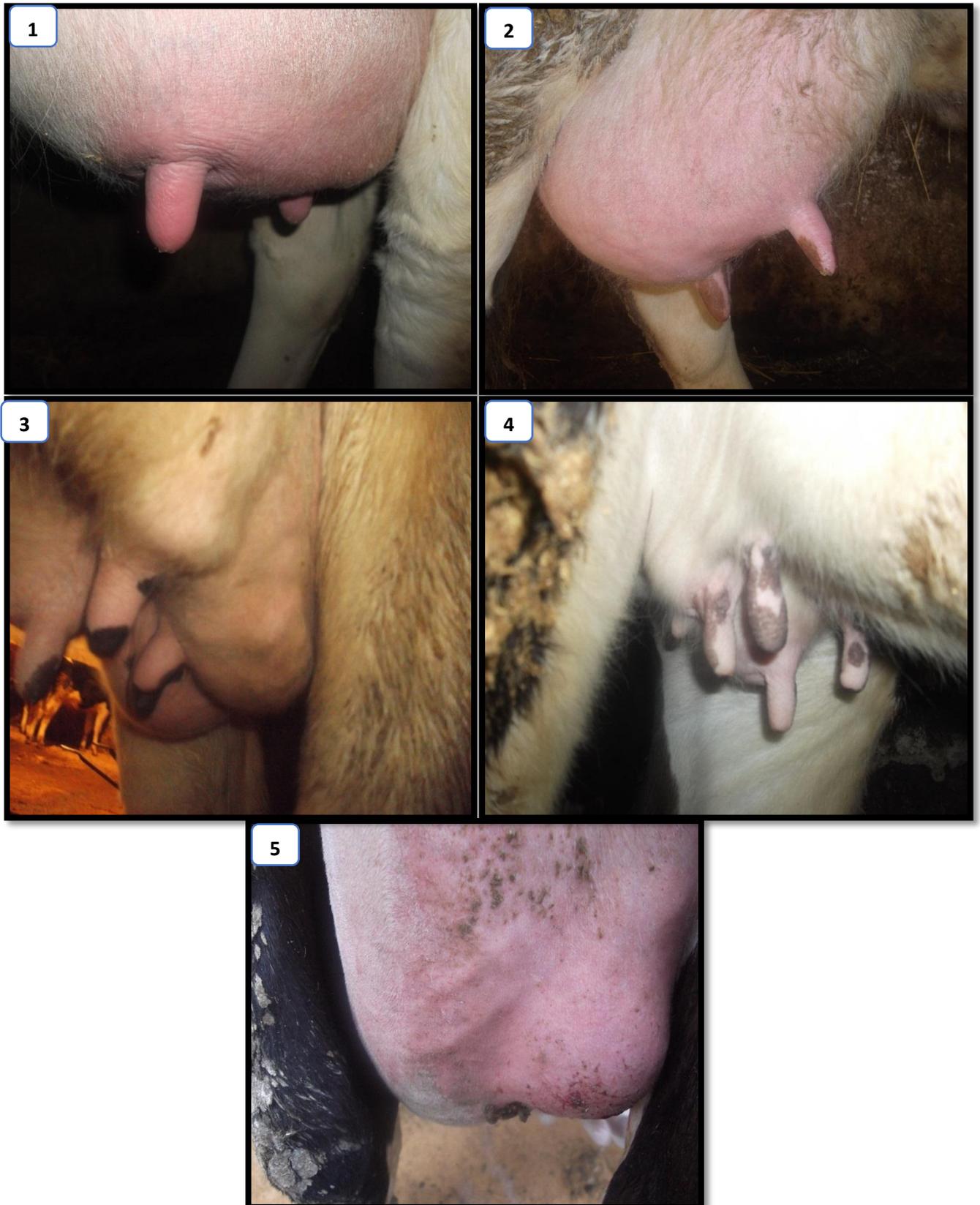


Figure 11: Différents aspects de mammites cliniques (photos personnelles) :

1 et 2 : Mammites aiguës avec une inflammation notable de la glande.

3 et 4 : Mammites chroniques avec une asymétrie des quartiers.

5 : Abscès du quartier postérieur droit.

II.1.3.Prévalence mensuelle des mammites cliniques :

La répartition des cas de mammites cliniques en fonction du mois de l’année est représentée dans le tableau N°XII.

Tableau XII: Répartition des cas de mammites cliniques selon le mois de l’année.

Mois	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Aout	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier
% de cas	8%	8%	9%	5%	4%	3,5%	4%	7%	10%	13%	16%	13%

L’analyse statistiques (test khi-2) montre qu’il y a une différence significative ($P < 0,05$) des prévalences moyennes des mammites cliniques entre les mois de l’année.

Donc, Le facteur « mois » influe sur le taux des mammites cliniques le long de la période d’étude .Ces résultats sont illustrés par la figure 12.

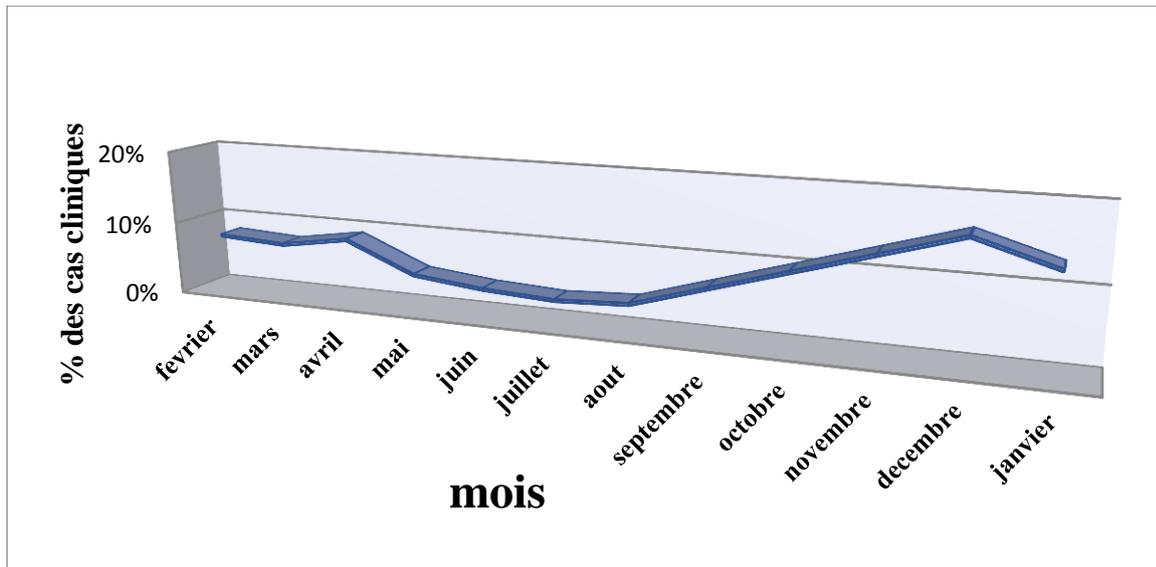


Figure 12 : Prévalence des cas de mammites cliniques de février 2012 à janvier 2013.

Ce graphique a mis en évidence deux périodes distincts de mammites .Celle qui se prolonge de février à juin et celle de septembre à janvier (un pic le mois de décembre) avec des taux moyens de 34% et 59% respectivement.

En revanche, une diminution de cas de mammites cliniques a été notée dans la période qui s’écoule entre le mois de mai et d’aout.

II.1.4. Résultats de l'enquête Epidémiologique :

Dans cette partie, nous présentons les principaux facteurs de risques qui influent sur l'apparition des mammites cliniques, à savoir, ceux liés à l'animal et ceux qui sont en relation avec la conduite d'élevage durant une période allant de février 2012 jusqu'à janvier 2013, dans la région de Bordj Bou Arreridj.

II.1.4.1. L'animal :

II.1.4.1.1. Effet du rang de lactation :

Les résultats relatifs à la répartition des mammites cliniques en fonction du rang de lactation sont rapportés dans le tableau XIII.

Tableau XIII: pourcentage des mammites cliniques en fonction du rang de lactation.

Rang de lactation	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)	Intervalle de confiance
1ère lactation	10	8%	2.9-11.9
2ème-3ème lactations	50	40%	27.8-43.7
4ème lactation et plus	80	52%	48.9-65.3
Total	140	100%	

L'analyse statistique (test du khi-deux) montre que la différence des prévalences des mammites cliniques en fonction du rang de lactation est hautement significative ($p < 0.01$).

La prévalence des mammites cliniques est d'autant plus importante que les vaches ont un rang de lactation plus élevé.

Ces résultats sont regroupés sous forme d'un diagramme en fromage (figure 13).

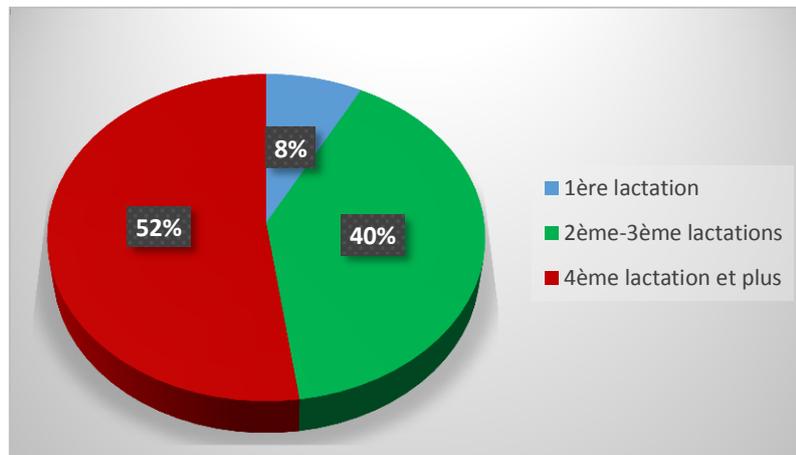


Figure 13 : Répartition des mammites cliniques en fonction du rang de lactation.

II.1.4.1.2. Stade de lactation :

La répartition des cas de mammites cliniques en fonction du stade de lactation est représentée dans le tableau XIV.

Tableau XIV : proportion de mammites cliniques en fonction de stade de lactation.

Stade de lactation	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)	Intervalle de confiance
Début de lactation (1er mois)	70	50%	41.7-58.3
Milieu de lactation (2ème-4ème mois)	40	29%	21.1-36.10
Fin de lactation (au-delà du 5ème mois)	30	21%	14.6-28.2
Total	140	100%	

Statistiquement, une différence très significative ($p < 0,001$) des prévalences des mammites cliniques a été observée entre les différents stades de lactation. De même, Ces résultats ont montré un pic des cas de mammites cliniques dans le premier mois après le vêlage au cours duquel on dénombre 50% du total des cas de mammites suivi d'une décroissance régulière de la prévalence.

Ces résultats sont regroupés sous forme d'un diagramme (figure 14).

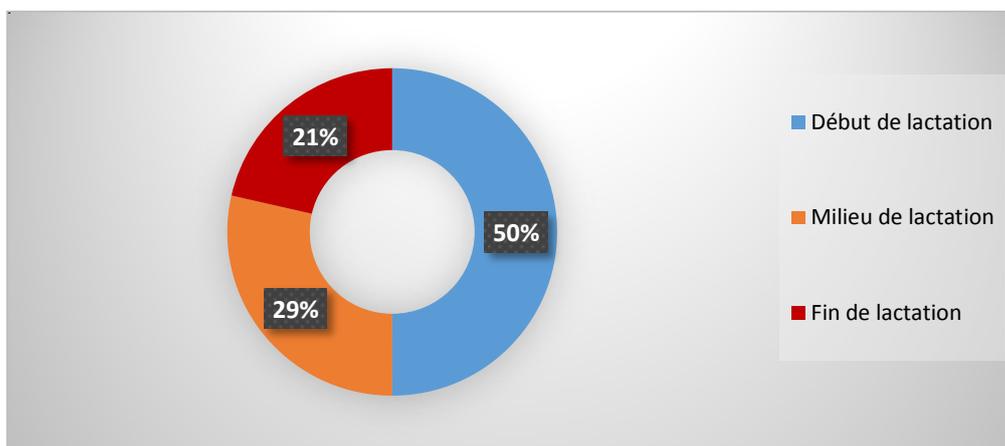


Figure 14 : Répartition des mammites cliniques en fonction de stade de lactation.

II.1.4.1.3. La Race :

La répartition des cas de mammites cliniques en fonction de la race est représentée dans le tableau XV.

Tableau XV : Fréquence des cas de mammites cliniques selon la race.

La Race	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)	Intervalle de confiance
Prim'Holstein	75	54%	45.3-61.8
Montbéliarde	29	21%	19.6-38.4
Fleckvieh	21	15%	12.7-29.3
Croisée	14	10%	7.04-20.96
Total	140	100%	

L'analyse statistique (test du khi-deux) montre que la différence des prévalences des mammites cliniques en fonction de la race est significative (<0.05) et que la race Prim'Holstein a enregistré le taux le plus élevé (54%) de cas puis viennent celles de Montbéliarde (21%) et de Fleckvieh (15%). Par ailleurs, Les vaches de la race croisée ont présenté le pourcentage de mammites le plus moindre (10%).

Les résultats précédemment cités sont illustrés par la figure 15.

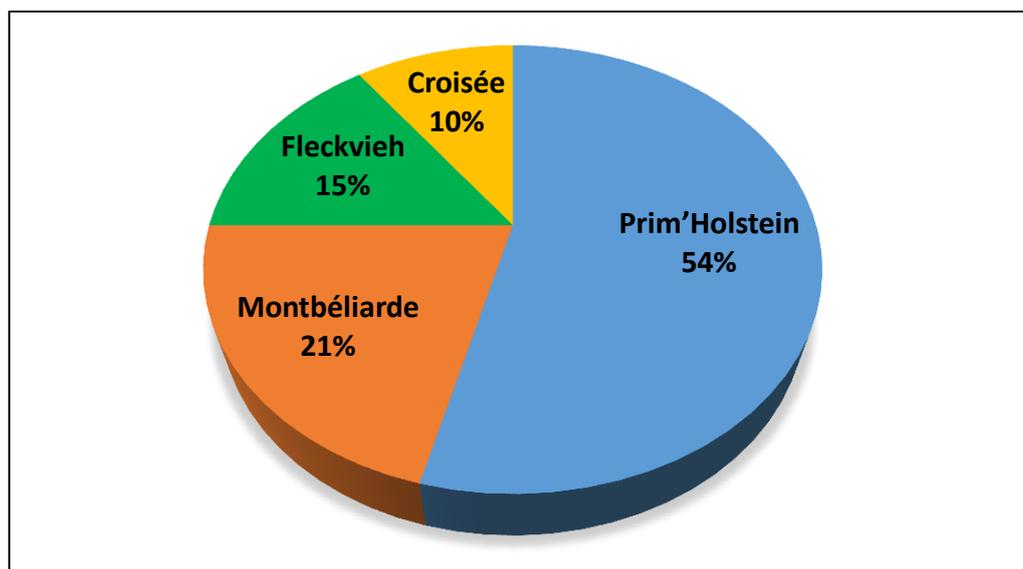


Figure 15 : Fréquence des cas de mammites cliniques selon la race.

II.1.4.1.4. Conformation de la mamelle :

La répartition et la fréquence des mammites cliniques en fonction de la conformation de la mamelle sont regroupées dans le tableau XVI.

Tableau XVI : Répartition des mammites cliniques en fonction de la conformation de la mamelle.

Conformation de la mamelle	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)	Intervalle de confiance
Extrémité du trayon au-dessus du jarret	50	36%	27.8-43.7
Extrémité du trayon au-dessous du jarret	90	64%	56.3-72.2
Total	140	100%	

On constate que plus de 60% des cas cliniques sont survenus sur des mamelles où l'extrémité du trayon se situe au-dessous du jarret.

L'analyse statistique (test de khi-deux) montre que la différence des prévalences des mammites cliniques en fonction de la conformation de la mamelle est significative ($p < 0.05$).

Les mammites cliniques sont observées sur les mamelles décrochées (extrémité du trayon au-dessous de la ligne passant par le jarret) avec une fréquence de 64%, alors que 36% des mammites avec des trayons dont l'extrémité est au-dessus du jarret. Ces résultats sont illustrés par la figure ci-dessous.

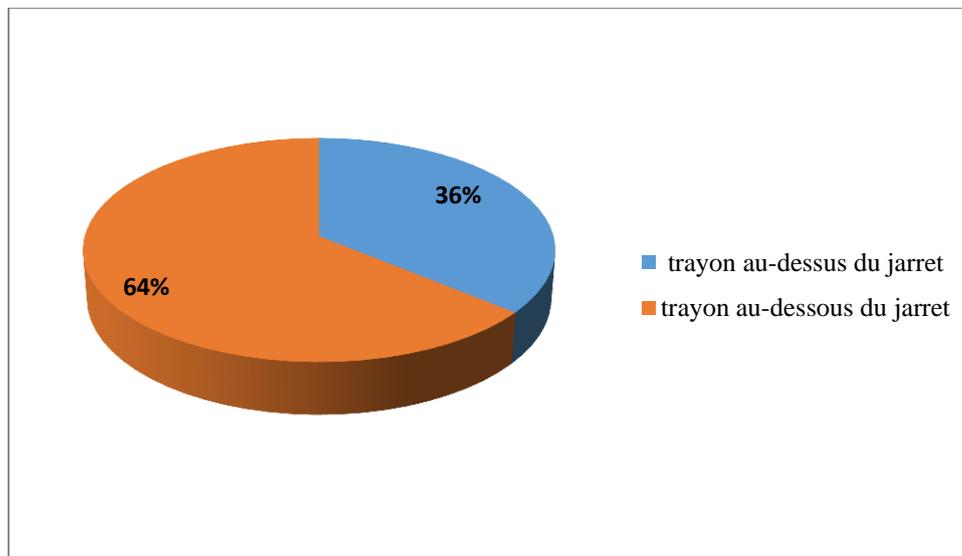


Figure 16 : Fréquence des mammites selon la conformation de la mamelle.

II.1.4.1.5. Fréquence des mammites cliniques en fonction de leur localisation :

La répartition et la fréquence des mammites cliniques en fonction de la localisation du quartier concerné, sont données dans le tableau XVII.

Tableau XVII : Répartition des mammites cliniques en fonction de leur localisation.

Conformation de la mamelle	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)	Intervalle de confiance
Quartier antérieur	42	30%	27.8-43.7
Quartier postérieur	98	70%	56.3-72.2
Total	140	100%	

L'analyse statistique montre qu'il y a une différence hautement significative ($p < 0.001$) des prévalences des mammites cliniques en fonction de la localisation du quartier atteint et que les quartiers postérieurs sont les zones les plus contaminées, avec un taux de 70% de cas. Par contre ceux des antérieurs, la fréquence d'atteinte est la moindre et elle est de l'ordre de 30%. Ces résultats sont représentés par la figure ci-dessous.

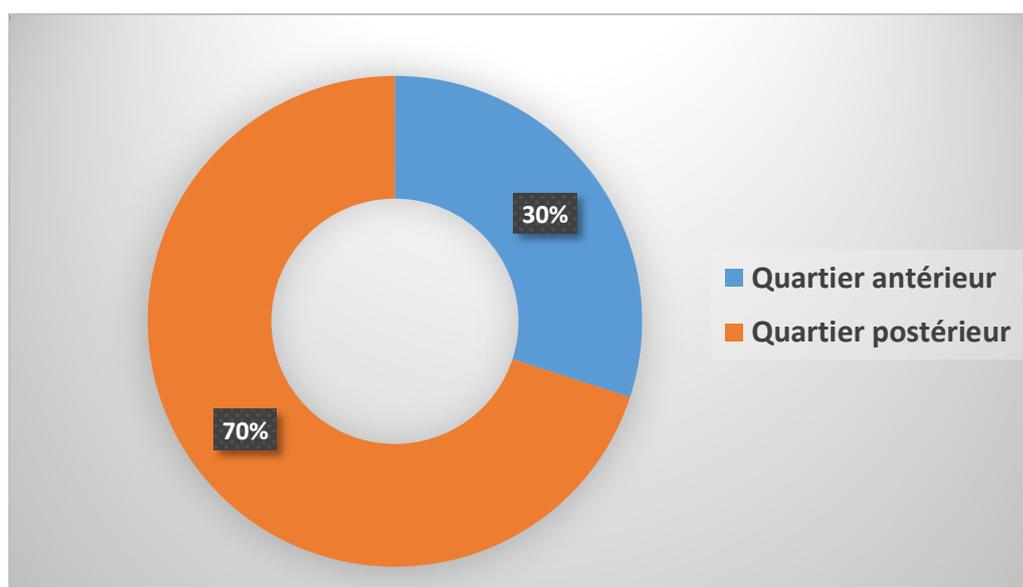


Figure 17 : Fréquence des mammites cliniques selon leur localisation.

II.1.4.2. Les facteurs liés à la conduite d'élevage :

Les informations obtenues de notre étude sur les 140 cas de mammites cliniques dans 42 élevages suivis, sont regroupées dans le tableau XVIII.

Tableau XVIII: Descriptions épidémiologiques des 42 élevages suivis.

Facteur étudié	Caractéristiques	Nombre	Pourcentage
Système d'élevage	Semi-intensif	35	84%
	Extensif	5	12%
	Intensif	2	4%
Type de la traite	Mécanique	36	86%
	Manuelle	6	14%
Nettoyage de la Machine à traite	Eau + détergent	1	2%
	Eau + eau de javel	5	12%
	Eau seulement	36	86%
Nettoyage de la mamelle	Lavage + Essuyage	6	14%
	Lavage sans essuyage	35	84%
	Sans lavage ni essuyage	1	2%
Lavage des mains	Oui	25	60%
	Non	17	40%
Pratique de pré-trempage	Oui	1	2%
	Non	41	98%
Contrôle 1ers jets	Sans	39	92%
	Sur sol	3	7%
	Dans récipient	1	1%
Désinfection des trayons après la traite	Oui	0	0%
	Non	42	100%
Pratique de tarissement	Oui	41	97%
	Non	1	3%
Traitement préventif au tarissement	Oui	7	16%
	Non	35	84%
Type de la litière	Paille	30	71%
	Copeaux de bois	2	5%
	Sans litière (Sol en béton)	10	24%

A partir de ces résultats d'observation sur les élevages suivis, on peut déduire que :

- La majorité des élevages étaient de type semi-intensif (84%) ;
- La traite était mécanique dans 86 % des élevages et manuelle dans 14% ;
- L'état de propreté des machines à traire n'est pas satisfaisant chez 86% des élevages ;
- Le lavage et l'essuyage de la mamelle, avant la traite, ne sont pratiqués que par 14% des trayeurs. Alors que l'essuyage n'est pas adopté par 86% des trayeurs ;
- L'élimination des 1ers jets n'est pas adoptée par 92% des trayeurs ;
- La pratique du pré-trempage était absente dans tous les élevages sauf un ;
- La désinfection des trayons après la traite n'est pas admise chez la totalité des élevages ;
- Le tarissement était réalisé dans 41 des 42 élevages suivi (97%) ; ainsi que le traitement préventif pendant cette période n'est pas adoptée par 84 % des élevages ;
- Enfin, nous avons pu mettre en évidence que 71 % des élevages ont une litière paillée, 5 % ont une litière de nature copeaux de bois, tandis que dans les 24 % des élevages elle était absente.

II.2. Résultats des analyses bactériologiques :

II.2.1 Résultats globaux :

Les examens bactériologiques ont révélé que sur les 140 échantillons de lait analysés, 90 étaient monobactérien (65 %) ,15 co-infection (10%), 25 contaminés (18%) et 10 stériles (7%).

Ces résultats sont regroupés dans le tableau XIX.

Tableau XIX : Résultats des mises en cultures de 140 prélèvements de lait de mammites cliniques.

	Nombre	Pourcentage
Une seule espèce bactérienne	90	65%
Co-infection	15	10%
contaminés	25	18%
stérile	10	7%
Totale	140	100%

Vu le tableau XIX, nous constatons une nette prédominance de mammites monomicrobiennes (65%). Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme (figure18).

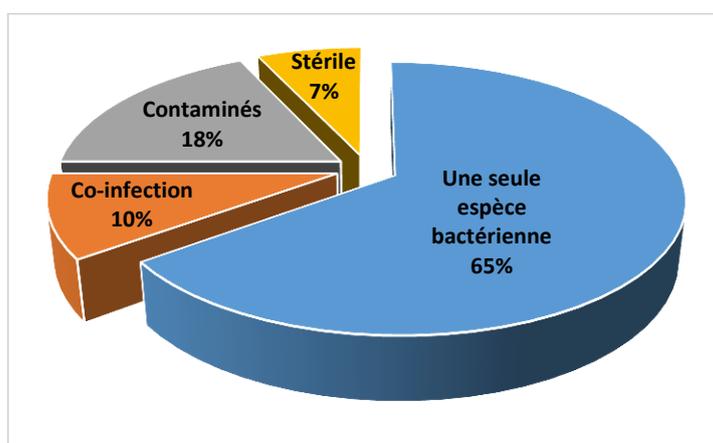


Figure 18 : Résultats des mises en cultures de 140 prélèvements de lait de mammites cliniques.

A partir de 140 prélèvements de lait positifs, nous avons obtenu 120 isolats en culture pure, se répartissant comme suit : 82 souches à Gram positif (68%) et 38 souches à Gram négatif (32%) (Figure 19).

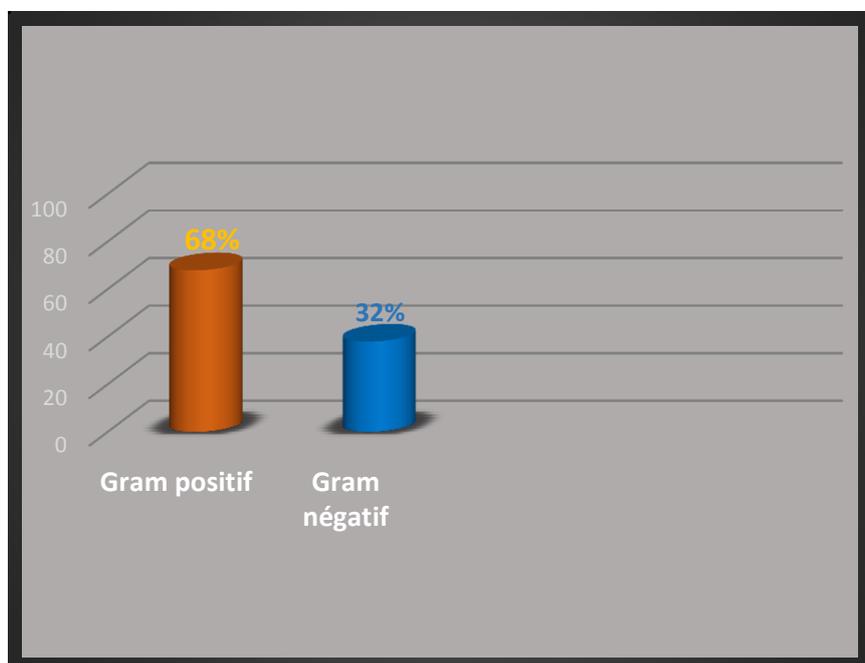


Figure 19 : Répartition des germes isolés en fonction de la coloration du Gram.

Ce graphique démontre la nette prédominance des germes à Gram positif qui représentent plus de deux tiers des isolements bactériens (68%), alors que les mammites à Gram négatives représentent 32%.

II.2.2. Prévalence des Enterobactéries isolées de mammites cliniques :

Parmi les cultures pures à Gram négatives, 32 entérobactéries ont été isolées, soit un taux de 26 % des cas.

La prévalence de différentes espèces d'entérobactéries isolées de lait de mammites cliniques apparait au tableau XX.

Tableau XX: Fréquences des Enterobactéries responsables de mammites cliniques.

Bactérie isolée	Nombre	Fréquence
<i>Escherichia coli</i>	16	13%
<i>Enterobacter cloacae</i>	8	7%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	3%
<i>Serratia odorifira</i>	4	3%
Total	32	26%

Au vu des résultats d'analyses bactériologiques, nous constatons que les Enterobactéries les plus fréquemment responsables des mammites cliniques sont :

- *Escherichia coli*, isolée dans 13% des échantillons. Ces bactéries sont les plus fréquemment isolées ;
- *Enterobacter cloacae*, 2ème agent le plus souvent rencontré avec un taux de 7% des prélèvements, ce qui semble également jouer un rôle important.
- *Klebsiella pneumoniae*, isolé dans 3% des prélèvements. Il fait partie des agents microbiens responsables de mammites chroniques. De même, cette espèce est parfois responsable de mammites cliniques sévères.
- En fin, *Serratia marcescens* est également représentée et a participé à hauteur de 3% aux isollements des entérobactéries.

Ces résultats sont représentés dans la figure N°20 sous forme d'un histogramme.

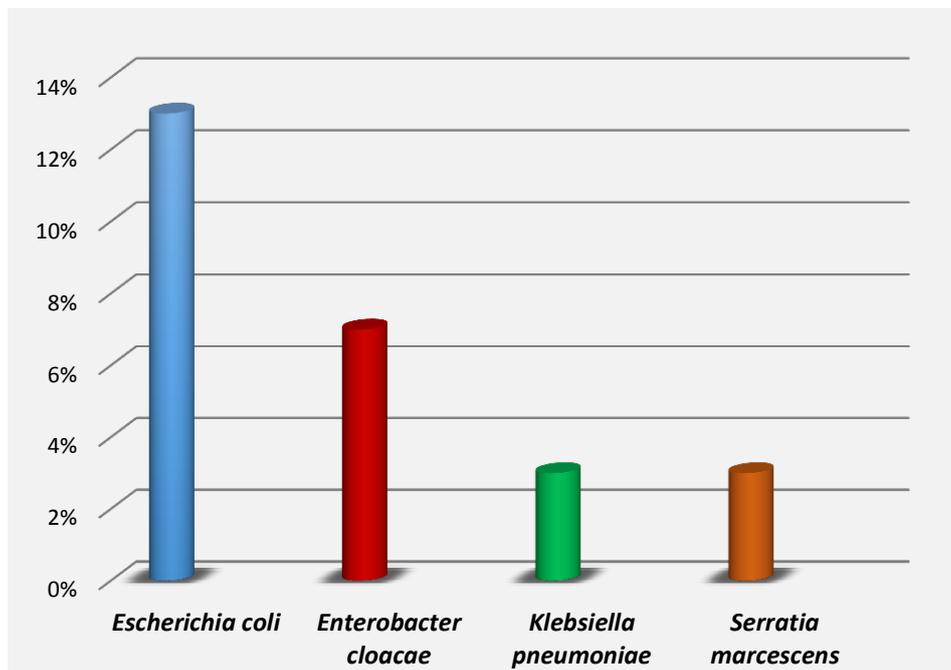
**Figure 20: Fréquence des Enterobactéries isolées.**



Figure21 :

Escherichia coli sous microscope optique, après coloration de Gram apparait sous forme des bacilles roses (photos personnelle).



Figure 22 : Aspects de différentes colonies des bactéries en culture pure (photos personnelles) :

1 : colonies de *Klebsiella pneumoniae* lactose+ sur gélose Mac Conkey rose pâle,lisse,très bombée, brillante, convexe, à bords nets, entourée d'un halo opaque de précipita de sels biliaires.

2 : colonies de *Klebsiella pneumoniae* sur gélose au sang,

3 : colonies d'*Escherichia coli* sur gélose mac Conkey, lactose +, rose pale, lisse, bombées et brillantes, à bords nets.



Figure 23 : Galerie Api 20Eensemencée par une souche d’*E.coli* et incubée à 37°/24H.

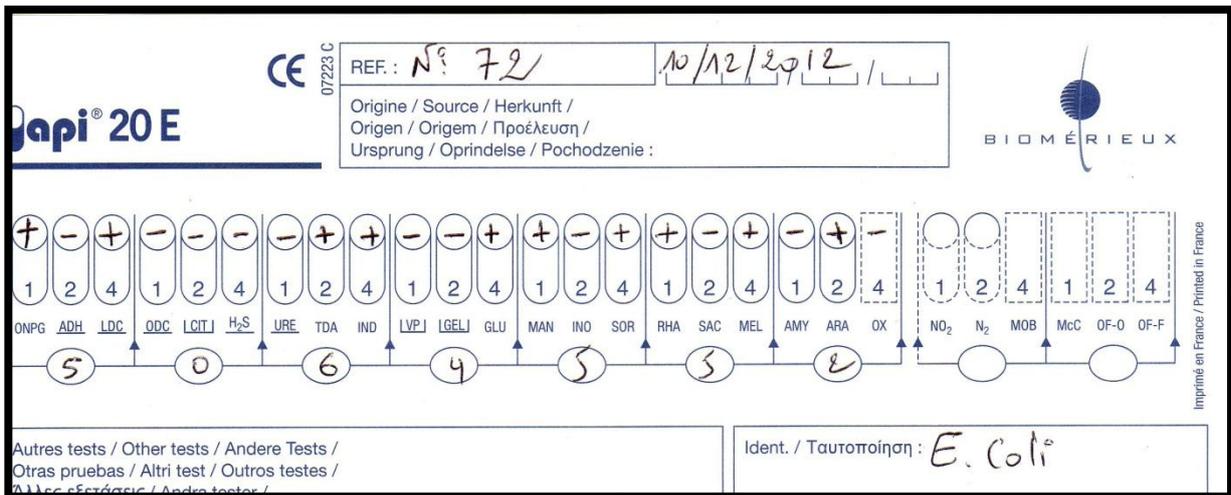


Figure 24 : lecture des différents tests biochimiques de la galerie Api 20E.

II.3. Relation entre les entérobactéries responsables de mammites et le stade de lactation et la saison :

Nous allons confronter la fréquence relative des différents espèces d'entérobactéries rencontrés (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Serratia marcescens*) avec le stade de lactation et la saison.

II.3.1. Fréquence des entérobactéries à l'origine des mammites selon le stade de lactation :

La répartition de différentes espèces d'entérobactéries responsables de mammites cliniques en fonction du stade de lactation est présentée dans le tableau XXI.

Tableau XXI: Fréquence des entérobactéries responsables des mammites selon le stade de lactation.

Stade de lactation	<i>E.coli</i>		<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Serratia odorifera</i>		Total	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Début de lactation (1er mois)	15	47%	7	22%	4	12.5	4	12.5	30	94%
Milieu de lactation (2ème-4ème mois)	0	0%	1	3%	0	0%	0	0%	1	3%
Fin de lactation (au-delà du 5ème mois)	1	3%	0	0%	0	0%	0	0%	1	3%

Nous nous apercevons que la fréquence des entérobactéries est plus élevée dans le premier mois de lactation, au contraire, elle est plus faible dans le milieu et la fin de lactation.

Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme (figure25).

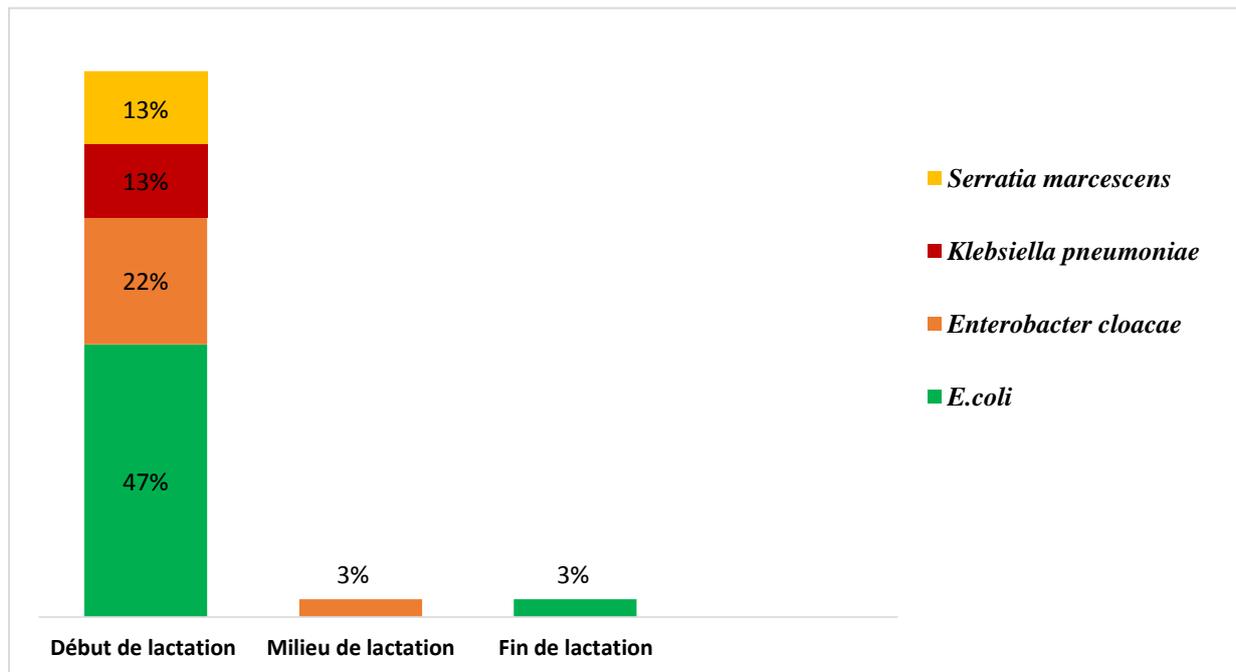


Figure 25 : Fréquence des entérobactéries responsables des mammites selon le stade de lactation.

Nous observons ainsi que (figure 25) :

- La fréquence des entérobactéries isolées de mammites cliniques (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcescens*), est plus élevée quand la mammite survient dans le 1^{er} mois de lactation avec un taux de 94% et, elle est moins élevée quand la mammite survient dans le milieu et la fin de lactation. Les différences sont significatives (Test exact de Fisher - $p < 0,005$).

II.3.2. Fréquence des entérobactéries à l'origine des mammites selon la saison :

Les fréquences relatives des entérobactéries responsables de mammites cliniques en fonction de la saison sont représentées dans le tableau XXII.

Tableau XXII: Fréquence des entérobactéries responsables des mammites selon la saison.

Saisons	<i>E.coli</i>		<i>Enterobacter cloacae</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Serratia odorifira</i>		Total	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Printemps- Été	3	9%	2	6%	1	3%	0	0%	6	18%
Automne - Hiver	13	40%	4	12.5%	3	9%	4	12.5%	26	82%

Nous constatons que la fréquence des entérobactéries isolées est plus élevée à la mauvaise saison avec un taux de 82%, par contre, elle plus faible à la bonne saison avec un taux de 18%. Ces résultats sont confirmés par le test de khi-deux ($p < 0,05$), et sont regroupés dans la figure N°26 sous forme d'un diagramme.

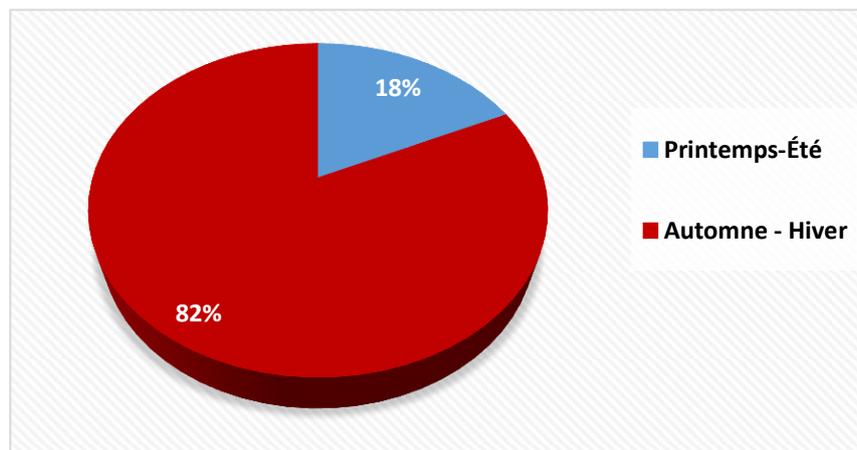


Figure 26 : Fréquence des entérobactéries responsables des mammites selon la saison.

II.4.Résultats des antibiogrammes :

Au total, 32 souches d'entérobactéries qui ont été isolées de mammites cliniques ont fait l'objet d'une évaluation de leur sensibilité in vitro aux antibiotiques. Elles se répartissent comme suit : 16 souches de *Escherichia coli*, 08 souches de *Enterobacter cloacae*, 4 souches de *Klebsiella pneumoniae*, et 4 souches de *Serratia marcescens*.

II.4.1.*Escherichia coli* :

Les résultats relatifs de l'antibiogramme des 16 souches d'*E.coli* isolées des mammites cliniques sont présentés par le tableau XXIII et illustrés par la figure 27.

Tableau XXIII : Profil de sensibilité des *E.coli* vis à vis de 12 antibiotiques.

Antibiotique	Valeur critique	Sensible		Résistant		Intermédiaire	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Ampicilline	14 – 16	2	12%	14	88%	0	0%
Amoxicilline+ Acide clavulanique	14 – 17	4	25%	12	75%	0	0%
Cefalexine	15 – 16	15	94%	1	6%	0	0%
Céfotaxime	23-25	16	100%	0	0%	0	0%
Kanamycine	14 – 17	12	75%	4	25%	0	0%
Tétracycline	12 – 14	3	19%	12	75%	1	6%
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	11 – 15	16	100%	0	0%	0	0%
Acide Nalidixique	14 – 18	14	87%	1	8%	1	5%
Ofloxacine	13 – 15	16	100%	0	0%	0	0%
Colistine	10 - 11	16	100%	0	0%	0	0%
Streptomycine	12 - 14	10	62%	4	23%	2	16%
Chloramphénicol	13 - 17	16	100%	0	0%	0	0%

Il ressort du tableau XXIII que la sensibilité globale des *E.coli* isolées montre une forte résistance à l'ampicilline (88% des souches), et aux tétracyclines (81% des souches) aussi qu'à l'association amoxicilline+acide clavulanique (75% des souches).

La résistance est également observée pour la Kanamycine (25% des souches), la streptomycine (23%) et la Cefalexine (6%).

Par ailleurs, aucune résistance n'a été notée (100% de sensibilité) vis-à-vis de la Céfotaxime, de l'association Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole, ainsi que la colistine, l'Ofloxacine et le chloramphénicol.

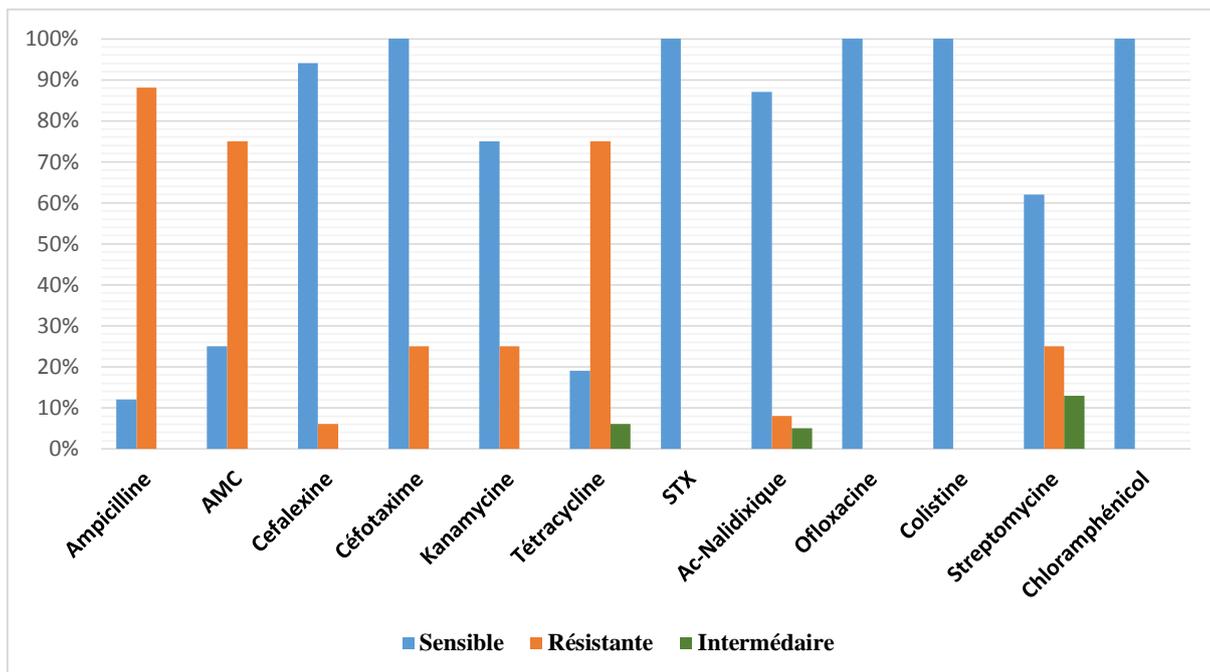


Figure 27 : Pourcentage de sensibilité et de résistance des *E.coli* aux antibiotiques.

L'antibiogramme réalisé sur les souches d'*E.coli* révèle que neuf antibiotiques sur douze testés ont une efficacité de 50% et plus. En revanche, les antibiotiques les moins efficaces contre les *E.coli* isolées de mammites cliniques sont surtout l'ampicilline, l'amoxicilline+acide clavulanique, et les tétracyclines (Cf.figure 28).

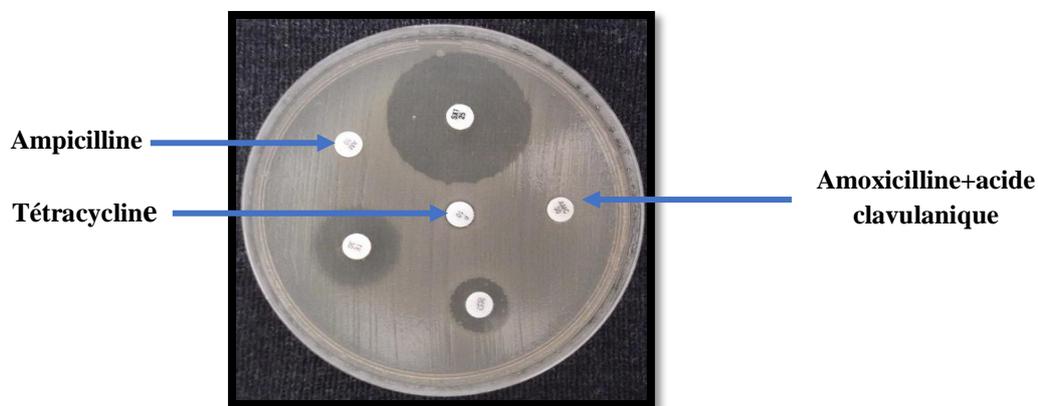


Figure 28 : Antibiogramme d'*E.coli*.

II.4.2. *Enterobacter cloacae* :

Les résultats de l'antibiogramme des 08 souches d'*Enterobacter cloacae* isolées de mammites cliniques sont regroupés dans le tableau XXIV.

Tableau XXIV : Profil de sensibilité des *Enterobacter cloacae* vis à vis de 12 antibiotiques.

Antibiotique	Valeur critique	Sensible		Résistant		Intermédiaire	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Ampicilline	14 – 16	0	0%	8	100%	0	0%
Amoxicilline+ Acide clavulanique	14 – 17	5	64%	3	36%	0	0%
Cefalexine	15 - 16	1	12%	7	88%	0	0%
Céfotaxime	23-25	6	75%	1	25%	0	0%
Kanamycine	14 - 17	5	64%	2	24%	1	12%
Tétracycline	12 - 14	0	0%	8	100%	0	0%
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	11 - 15	4	50%	1	12%	3	38%
Acide Nalidixique	14 - 18	6	75%	2	25%	0	0%
Ofloxacine	13 - 15	8	100%	0	0%	0	0%
Colistine	10 - 11	8	100%	0	0%	0	0%
Streptomycine	12 - 14	3	38%	5	64%	0	0%
Chloramphénicol	13 - 17	7	88%	0	0%	1	12%

- Ces résultats montrent que toutes les souches d'*Enterobacter cloacae* testées étaient sensibles à l'Ofloxacine, et à la colistine (100%).

Ils sont aussi sensibles, à l'acide nalidixique et à la céfotaxime, et au chloramphénicol à plus de 75 %.

- La résistance a concerné par ordre de fréquence croissante :

La Triméthoprim Sulfaméthoxazole (12%), la Kanamycine (24%), Amoxicilline+ Acide clavulanique (36%), la Cefalexine (88%) et l'ampicilline et la tétracycline (100%).

Les résultats de l'antibiogramme effectué sur les *Enterobacter cloacae* sont représentés sous forme d'un histogramme (Figure 29).

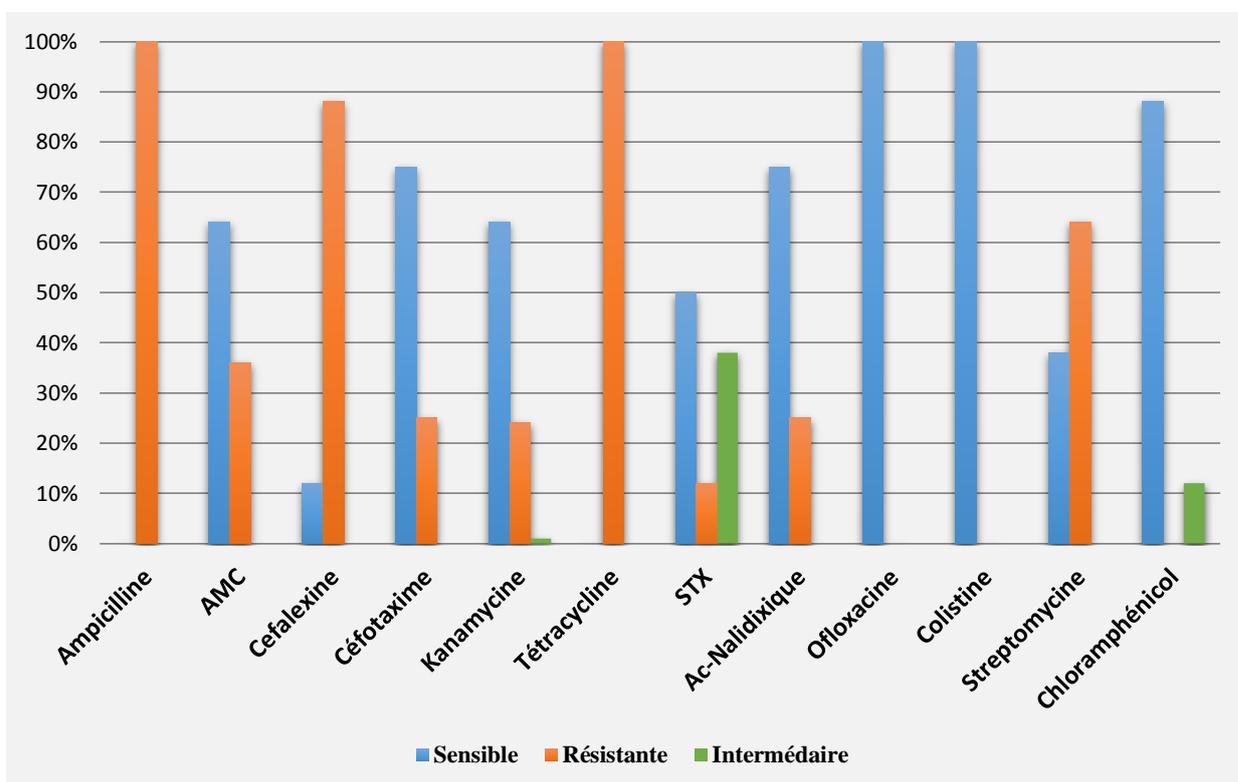


Figure 29 : Pourcentage de sensibilité et de résistance des *Enterobacter cloacae* aux antibiotiques.

II.4.3. *Klebsiella pneumoniae* :

Les résultats sur la fréquence de la sensibilité ou de la résistance des *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques sont indiqués dans le tableau XXV.

Tableau XXV: Profil de sensibilité des *Klebsiella pneumoniae* vis à vis de 12 antibiotiques.

Antibiotique	Valeur critique	Sensible		Résistant		Intermédiaire	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Ampicilline*	14 - 16	0	0%	4	100%	0	0%
Amoxicilline+ Acide clavulanique	14 - 17	3	75%	1	25%	0	0%
Cefalexine	15 - 16	4	100%	0	0%	0	0%
Céfotaxime	23-25	4	100%	0	0%	0	0%
Kanamycine	14 - 17	2	50%	1	25%	1	25%
Tétracycline	12 - 14	0	0%	2	50%	2	50%
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	11 - 15	4	100%	0	0%	0	0%
Acide Nalidixique	14 - 18	4	100%	0	0%	0	0%
Ofloxacine	13 - 15	4	100%	0	0%	0	0%
Colistine	10 - 11	3	75%	1	25%	0	0%
Streptomycine	12 - 14	2	50%	2	50%	0	0%
Chloramphénicol	13 - 17	3	75%	0	0%	1	25%

* : résistance naturelle.

D'après les résultats obtenus, toutes les souches de *Klebsiella pneumoniae* ont montré une sensibilité de 100% au Cefalexine, au Céfotaxime, au Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole, à l'Acide Nalidixique et à l'Ofloxacine.

Ils ont aussi une bonne sensibilité à la colistine, le chloramphénicol et à l'association amoxicilline+acide clavulanique avec un taux de 75%.

Par ailleurs, la résistance est en particulier observée pour la streptomycine (50%), pour la tétracycline (50%) et pour la Kanamycine (25%).

L'ampicilline est inefficace sur *Klebsiella pneumoniae* (résistance naturelle).

Ces résultats sont représentés dans la figure ci-dessous.

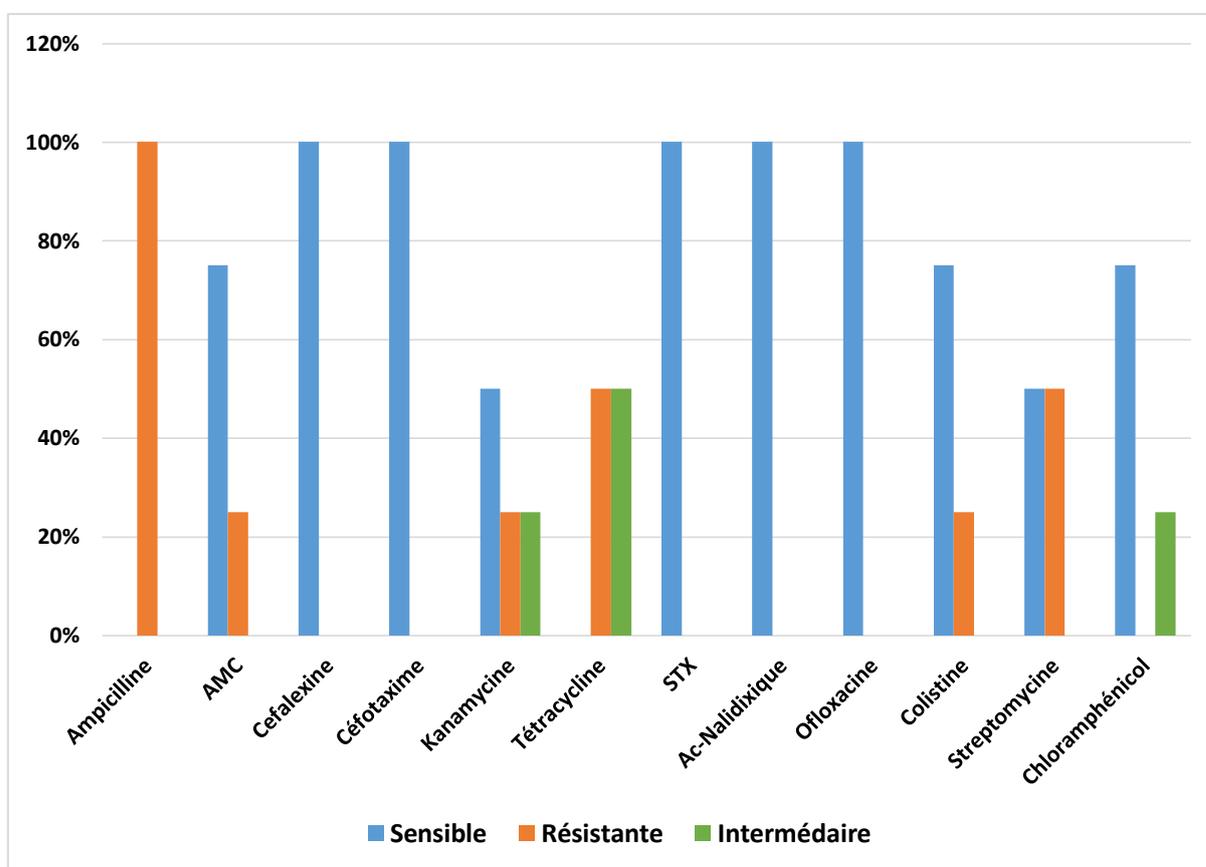


Figure 30: Pourcentage de sensibilité et de résistance des *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques.

II.4.4. *Serratia marcescens* :

Les résultats de l'antibiorésistance à différentes molécules testées pour les quatre espèces de *Serratia marcescens* isolées sont représentés dans le tableau XXVI.

Tableau XXVI : Profil de sensibilité des *Serratia marcescens* vis à vis de 12 antibiotiques.

Antibiotique	Valeur critique	Sensible		Résistant		Intermédiaire	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Ampicilline	14 - 16	1	33%	2	67%	0	0%
Amoxicilline+ Acide clavulanique	14 - 17	1	33%	1	33%	1	33%
Cefalexine	15 - 16	2	67%	0	0%	1	33%
Céfotaxime	23-25	3	100%	0	0%	0	0%
Kanamycine	14 - 17	2	67%	1	33%	0	0%
Tétracycline	12 - 14	2	67%	0	0%	0	33%
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	11 - 15	3	100%	0	0%	0	0%
Acide Nalidixique	14 - 18	3	100%	0	0%	0	0%
Ofloxacin	13 - 15	3	100%	0	0%	0	0%
Colistine	10 - 11	3	100%	1	0%	0	0%
Streptomycine	12 - 14	2	67%	1	33%	0	0%
Chloramphénicol	13 - 17	3	100%	0	0%	0	0%

Nous constatons dans les résultats rapportés dans le tableau XXVI qu'une résistance relativement élevée est observée vis-à-vis de quatre antibiotiques : l'ampicilline (67 %), l'association amoxicilline +acide clavulanique (33%), la Kanamycine (33%) et la streptomycine (33%).

En revanche, aucune résistance n'a été observée vis-à-vis des autres antibiotiques, à savoir, la céfotaxime, la Triméthoprim +Sulfaméthoxazole, l'acide nalidixique, l'Ofloxacin, la colistine et le chloramphénicol.

Ces résultats sont regroupés dans la figure 31.

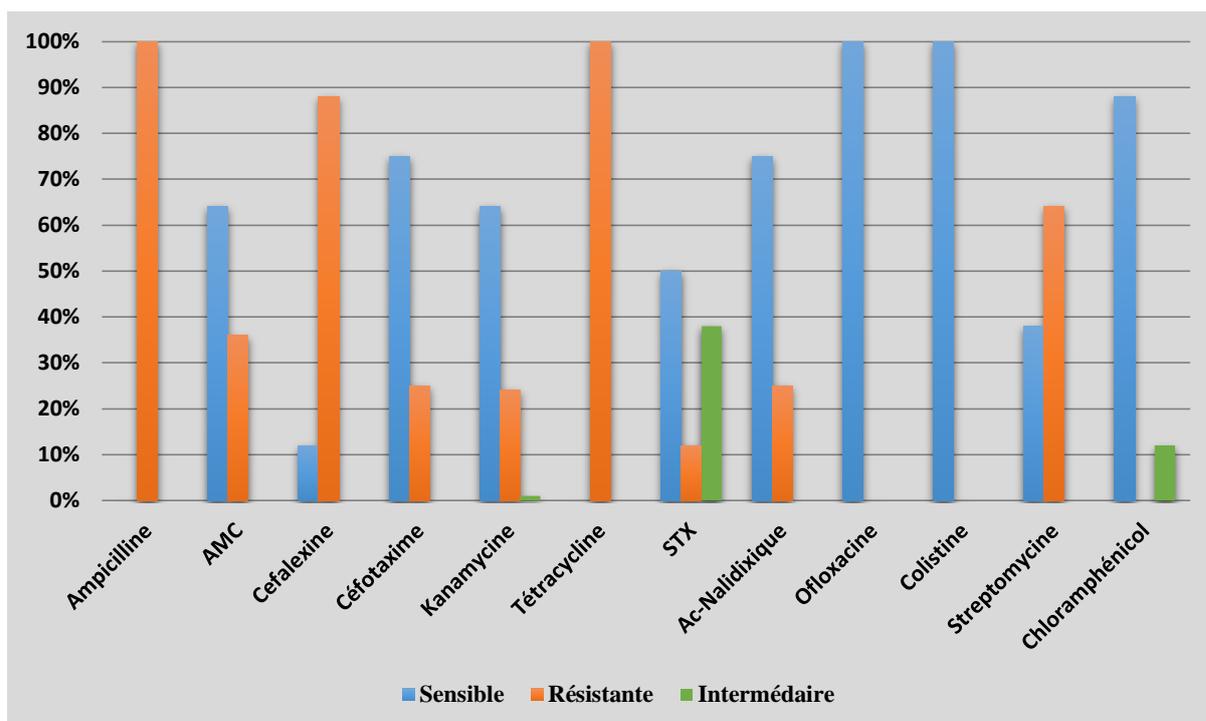


Figure 31 : Pourcentage de sensibilité et de résistance des *Serratia marcescens* aux antibiotiques.

- ❖ En résumé, l'effet des familles d'antibiotiques utilisés dans la recherche de la sensibilité ou de résistance des entérobactéries isolées à partir de lait de mammite montre que les céphalosporines, les aminosides, les sulfamides-Triméthoprimine, les quinolones, les polypeptides, les aminoglycosides et les phenicolés sont les antibiotiques les plus actifs sur les entérobactéries. En effet, ils ont bien montré une efficacité de plus de 84% face à ces germes de bactéries.

Nous remarquons aussi que toutes les espèces d'entérobactéries testées montrent une résistance non négligeable à l'action des pénicillines et des tétracyclines avec un niveau d'inefficacité qui dépasse les 68%(cf. Tableau XXVII).

Tableau XXVII : Efficacité des familles d'antibiotique sur les entérobactéries isolées de lait de mammites cliniques.

Famille d'antibiotiques	<i>E.coli</i> (n=16)			<i>E. cloacae</i> (n=8)			<i>K.pneumoniae</i> (n=4)			<i>S.marcescens</i> (n=4)		
	Ss (%)	R (%)	I (%)	Ss (%)	R (%)	I (%)	Ss (%)	R (%)	I (%)	Ss (%)	R (%)	I (%)
Pénicilline	18	82	0	32	68	0	38	62	0	33	50	17
Cephalosporines	97	3	0	44	56	0	100	0	0	83	0	17
Aminosides	75	25	0	64	24	12	50	25	25	67	33	0
Tétracyclines	19	75	6	0	100	0	0	50	50	67	0	33
Sulfamides-Triméthoprime	100	0	0	50	12	38	100	0	0	100	0	0
Quinolones	94	4	2	88	12	0	100	0	0	100	0	0
Polypeptides	100	0	0	100	0	0	75	25	0	100	0	0
Aminoglycosides	62	23	16	38	64	0	50	50	0	67	33	0
phenicolés	100	0	0	88	0	12	75	0	25	100	0	0

II.5.Résultats de recherche de bêtalactases à spectre élargie (BLSE) :

Parmi les 32 souches d'entérobactéries isolées et testées, 08 ont été résistantes au moins à une cephalosporines de 3ème génération et ont un diamètre inférieur à 27 mm pour la céfotaxime et sont donc suspectées d'être productrices de bêtalactases à spectre étendu (BLSE). Ces souches doivent être considérées comme résistantes à toutes les bêta-lactamines disponibles en médecine vétérinaire.

Cependant, dans notre étude, aucune image de synergie (en bouchon de champagne) n'a été observée entre le disque d'amoxicilline+acide clavulanique et les disques de céphalosporine de 3ème génération (cf. Figure 32).

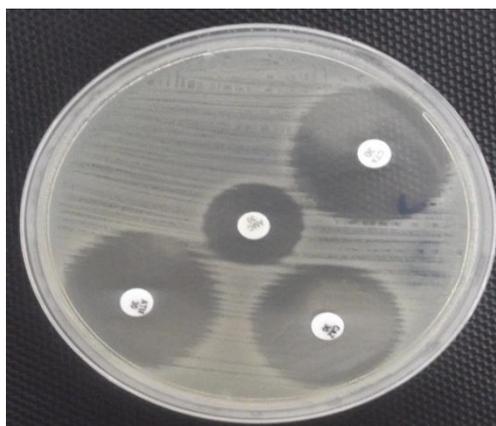


Figure 32 : Antibiogramme pour recherche de souche BLSE.

Chapitre III :

Discussion

III-Discussion :

La mammite est considérée comme l'une des pathologies les plus importantes, fréquentes et coûteuses affectant les vaches laitières et la plus pénalisante pour les élevages laitiers.

Pour cela, la connaissance de la nature et la fréquence des germes responsables présentent un intérêt pour la définition de la stratégie de lutte.

Parmi les germes rencontrés, les entérobactéries viennent en tête des germes d'environnement et font actuellement une augmentation nette de la prévalence des mammites qui, par conséquent, devient un sérieux problème dans de nombreuses fermes laitières.

Par ailleurs, il faut signaler la rareté d'études approfondies, nécessaires pour cerner les facteurs de risque associés à ces infections mammaires en Algérie. C'est pour cette raison, que nous avons mené cette étude dans la région Est de l'Algérie afin de lever les contraintes de cette maladie.

Dans notre étude, la prévalence des mammites cliniques est de 36%. Cette fréquence enregistrée dans les exploitations de la zone de bordj Bou Arreridj est un indicateur de la forte proportion des vaches infectées dans les troupeaux de la région. En effet, Elle est :

- ✓ Proche de celles rapportées par :
 - Faye *et al.* (1994) en France avec 31,7% ;
 - Whitaker (2002) en Angleterre avec 36,6% ;
 - Rahmouni-Alami et Mazouz (2003) au Maroc avec 30% ;
 - Pitkälä *et al.* (2001) en Finlande avec 31% ;
 - Bouaziz (2005) à l'est Algérien avec 32.6%.
- ✓ Inférieure à la proportion de 42,2% rapportée par Niar *et al.* (2000) dans la région de Tiaret dans l'Ouest algérien.
- ✓ Supérieure au taux de 6% trouvé dans la région centre de l'Algérie par Saidi (2013). Elle est relativement supérieure à certaines proportions obtenues dans différentes études: 21,5% pour Pluinage *et al.* (1991), 29% pour Seegers *et al.* (1997), 25,5% pour Kossaibati *et al.* (1998), 23,1 % pour Peeler *et al.* (2002) et 27,7% pour Bradley et Green (2001).

Ces différences rapportées d'une étude à l'autre peuvent être liées aux fortes variabilités qui existent entre régions, entre troupeaux au sein d'une même région, et même pour un troupeau donné à différents moments, ainsi qu'au niveau de production laitière, au niveau d'hygiène des bâtiments d'élevages, et à la détection de l'infection car la mise en évidence des modifications tant au niveau de la mamelle que du lait n'est pas toujours aisée.

L'examen de la prévalence mensuelle des mammites cliniques a mis en évidence deux périodes distinctes de mammites. Celle qui se prolonge de février à juin et celle de septembre à janvier (un pic le mois de décembre) avec des taux moyens de 34% et 59% respectivement.

Cet effet saison est probablement plus lié au logement qu'à la saison elle-même, en l'occurrence au fait que les vaches sont généralement rentrées pendant la période hivernale et à l'herbe pendant la période estivale.

Nos résultats sont en accord avec d'autres études qui montrent que la majorité des mammites cliniques survient pendant la période de stabulation et de vèlage (Erskine et *al.*, 1988 ; Schukken et *al.*, 1989 ; Fabre et *al.*, 1997 ; Peeler et *al.*, 2002 ; Hanzen, 2013). De même, les auteurs s'accordent pour considérer la période de stabulation comme défavorable aux mamelles (Kinsella et *al.*, 1990).

En fait, Dans l'étude de :

- ✓ Wilesmith et *al.* (1986), 65% des cas de mammites surviennent entre octobre et mars ;
- ✓ Fabre et *al.* (1997), 70% sont observés entre novembre et avril ;
- ✓ Pearson et Mackie (1979) 74% des mammites cliniques surviennent entre octobre et avril et 61% entre novembre et mars, lors d'une étude de 3 ans et demie, portant sur 980 vaches.

Pour ce qui est des signes Epidémio-cliniques enregistrés, nous constatons que l'ensemble des critères prioritaires sont particulièrement bien renseignés. Les principaux cas de mammites cliniques interviennent sur les vaches qui :

- sont dans leur premier mois de lactation ;
- n'ont pas d'antécédent de mammites cliniques sur le même quartier au cours de la même lactation ;
- ne présentent pas d'hyperthermie ;
- ont un état général jugé normal ;
- ont une production laitière du quartier inchangée ;
- ont le quartier atteint enflé ;
- ont quelques caillots en début de traite seulement.

Par ailleurs, d'après nos enquêtes, les cas de mammites suraigües dans notre zone d'étude étaient rares. Nous avons également pris en compte, les mammites d'allure chronique sans signes visibles d'inflammation locale mais avec la présence à la palpation des nodules endurcis dans la mamelle et produisant un lait modifié (6%). Ainsi, nos résultats montrent que les mammites aiguës sont les plus rencontrées dans la zone de Bordj Bou Arreridj (92%).

Tous ces résultats sont en accord avec ceux cités par d'autres auteurs : Hanzen(2012), Bradly et Green(2000), Sargeant et *al.*, (1998) et Seegers et *al.*, (1997).

Pour la prévalence des mammites cliniques en fonction du rang de lactation, nous avons constaté que la proportion la plus élevée a été enregistrée chez les vaches de 4ème et de 5ème rang et au-delà. Ces résultats sont comparables à celles rapportées par de nombreux auteurs qui montrent que le taux de mammites augmente avec le nombre de lactations (Morse et *al.*, 1987; Sargeant et *al.*, 1998 ; Heleili ,2002 ; Hanzen,2013). Cela peut être expliqué par la baisse des défenses naturelles au niveau de la glande mammaire qui accompagne le vieillissement des animaux. Ainsi, Le canal du trayon devient plus dilaté après chaque lactation, prédisposant davantage la vache aux infections mammaires.

La répartition des cas de mammites en fonction du stade de lactation indique une prévalence élevée des mammites cliniques dans le premier mois suivant le vêlage au cours duquel on

dénombré 50% du total des cas de mammites suivi d'une décroissance régulière de la prévalence ce qui est en accord avec les fréquences de 30 à 58 % obtenues par divers auteurs (Bradley et Green, 2002 ; Peleer et *al.*, 2002, Rahmouni Alami et Mazouz, 2003), soulignant l'importance de la prévention durant cette période et au tarissement.

Cependant, la justification de la grande sensibilité des animaux au début de lactation est due à la baisse de l'immunité quelques jours après le vêlage, rendant ainsi la glande mammaire plus sensible, ce qui entraîne une baisse des polynucléaires neutrophiles circulants et une baisse des lymphocytes dans la mamelle (Victor M et *al.*, 2007) rendant ainsi le début de lactation une période à risques pour les mammites.

Cette présente étude a montré aussi une différence de la prévalence des mammites cliniques entre les races existantes dans les élevages étudiés et que le taux le plus élevé a été observé chez la race Prim'Holstein par rapport aux deux autres races : Montbéliarde et Fleckvieh. Par ailleurs, les vaches de la race croisée ont présenté le moins de mammites.

Cette variation entre les races peut être liée à leur niveau de production respectif qui est en relation avec l'effet génétique (Faye et *al.*, 1994).

La répartition des cas de mammites en fonction de la conformation de la mamelle et de leur localisation a dévoilé que plus de 60% des cas cliniques concernent des quartiers postérieurs et ils sont survenus sur des mamelles où l'extrémité du trayon se situe au-dessous du jarret. Ces résultats sont similaires à ceux observés par Schukken et *al.*, en 1989.

De même, dans une étude sur les facteurs de risque, Pluvinage et *al.* (1991) ont montré que le déséquilibre anatomique de la mamelle peut favoriser le développement des mammites cliniques (19% des vaches à mamelle déséquilibrée ont présenté une mammite clinique contre 12% de vaches à mamelle équilibrée) et qu'une attache trop basse des quartiers arrières (niveau des trayons au-dessous des jarrets) apparaissait comme un facteur de risque des mammites cliniques (24% des vaches à trayons au-dessous du jarret ont présenté une mammite clinique contre 16% des vaches à trayons au niveau du jarret et 13% des vaches à trayons au-dessus du jarret).

Suite à notre enquête, nous pouvons énumérer certains facteurs de risque liés aux conditions d'élevage et de traite quant au type de traite qui est dans la majorité des cas manuel (86% des élevages), ce qui constitue un facteur de risque important car les mains de trayeurs sont des vecteurs importants de germes.

Par conséquent, l'hygiène de la traite a été jugée globalement déficiente dans la plupart des exploitations suivies. Le simple lavage des trayons était négligé, parfois pratiqué à l'aide d'une lavette collective avec de l'eau uniquement et sans être suivi d'essuyage. L'élimination des premiers jets avant la traite se faisait généralement sur le sol sous la vache, présentant ainsi un facteur de risque de contamination de la surface de couchage de la vache.

A cela on peut rajouter, que dans la grande majorité des élevages suivis, la pratique du pré-trempage et de tarissement ainsi que le traitement préventif pendant cette période étaient absents. Autant de fautes d'hygiène et de carences qui constituent des facteurs de risques des mammites cliniques (Pluvinage, 1991 ; Hanzen, 2013).

Les observations de la présente étude sont en accord avec celles de plusieurs autres auteurs (M'Sadak et *al.*, 2012 ; Saidi et *al.*, 2013) qui indiquent que ces facteurs sont étroitement liés à l'installation des infections mammaires. Les résultats relevés dans notre étude semblent indiquer que la mauvaise condition d'hygiène de traite et la mauvaise conduite du troupeau ont constitué les probables facteurs de risque.

Tous les échantillons de lait de mammité prélevés ont été conservés à -18°C en attendant leur analyse. Les échantillons ont été transportés dans une glacière de l'élevage vers le laboratoire, la conservation s'est déroulée dans de bonnes conditions (sans rupture de la chaîne de froid).

Par ailleurs, plusieurs études ont montré la fragilité de certaines bactéries à la congélation et ont identifiés les bactéries à Gram négatif comme étant particulièrement sensibles ; cette sensibilité dépend cependant de la durée de conservation (Schukken et *al.*, 1989 et Murdough et *al.*, 1996). Il est donc possible que la prévalence des mammites à Gram négatif, particulièrement aux entérobactéries, soit sous-estimée dans cette étude.

Les prélèvements ont été réalisés en collaboration avec 4 vétérinaires praticiens exerçant dans la zone d'étude, exceptionnellement par les éleveurs eux-mêmes. La technique de prélèvement peut donc varier d'un cas à l'autre, en particulier en matière de précautions aseptiques. Les éleveurs ainsi que les vétérinaires ne sont pas habitués à réaliser des prélèvements pour examens bactériologiques de lait dans des conditions aseptiques.

Dans notre étude, le pourcentage de laits « contaminés », c'est-à-dire ayant donné lieu à la culture d'au moins 3 types de colonies différentes, est de 18 %. Cependant, cette valeur est cohérente avec des études similaires : 15,3% pour Ramisse et al., (1982), 13,5 % pour Schukken et al.,(1989), et 14 % pour Sargeant et al., (1998). Le pourcentage de co-infection (2 types de colonies) est de 10 %. Dans une étude de l'étiologie des mammites cliniques bovines réalisée dans les Royaume-Unis par Wilesmith et al., (1986), ces pourcentages ont été respectivement de 9 % et 6,5%. Dans une autre étude menée par le GTV en France, ces pourcentages ont été respectivement de 3 % et de 7,91 % (Fabre et al., 1997). Les proportions de laits « contaminés » sont probablement artificiellement élevées. Nous attribuons ces résultats aux contaminations qui ont pu se produire lors des prélèvements.

Le pourcentage de laits « négatifs » obtenus dans notre étude est de 7%. Cette valeur se situe dans la moyenne d'autres études ; 15,1% pour Bradley et al., (2001) , 14% pour Milne et al., (2002) ,5% pour Botrel et al.,(2010). et 5% pour Saidi et al., (2013).

Au vu des résultats, nous confirmons qu'il est fréquent de ne pas obtenir de culture à partir d'un prélèvement unique de lait de mammite. Cependant, un résultat négatif ne doit pas conduire à la conclusion que la mamelle est « saine ». Les principales explications possibles sont les traitements antibiotiques préalables, l'intermittence de l'excrétion, l'enkystement de bactéries dans les lésions anciennes, ainsi que la localisation intracellulaire de certaines bactéries (Hanzen, 2013). On peut aussi envisager le cas d'une mammite infectieuse pour laquelle le lait est réellement stérile au moment du prélèvement car le germe a été éliminé naturellement. Ceci est décrit dans le cas de mammites aiguës à entérobactéries, les bactéries produisent des endotoxines responsables des symptômes qui ne sont libérées qu'après la lyse des corps bactériens. Ainsi, au moment où la mammite s'exprime cliniquement, la plupart des bactéries responsables sont déjà détruites (Eberhart et al., 1984).

Parmi les résultats interprétables (non contaminés et non négatifs), les identifications réalisées nous indiquent que l'on retrouve à 68 % de bactéries sont de type Gram positif et 32% de type Gram négatives. Ceci est en accord avec les autres études portant sur les mammites bovines qui dénombrent 63 à 84 % de bactéries Gram positives et 15 à 35 % de bactéries Gram négatives impliquées dans ces atteintes mammaires cliniques : Bouaziz (2005) ; Serieys F (2009) ; et Jean-Baptiste (2010).

Dans la présente étude, les entérobactéries représentent 26% des bactéries isolées. Elles sont considérées comme des germes de l'environnement et elles sont présentes en abondance sur tous les supports des étables et dans l'eau. Le mauvais entretien de la litière et la mauvaise hygiène de la stabulation et des vaches en général pouvaient expliquer sa présence. L'importance de cette famille est confirmée par les autres études où elle est à l'origine de 13 à 23% des mammites cliniques (Hanzen, 2013).

La prévalence des entérobactérie dans les mammites varie selon les auteurs : dans l'est algérien 23% (Bouaziz, 2005), en Egypte 12,7% (Seleimi et al., 2002), au Canada 16,5% (Sargeant et al.,1998), en France 19% (Poutrel , 2010), et en Angleterre 21% (Bradley et al.,2007).

Parmi les entérobactéries isolées des mammites cliniques, *Escherichia coli* est le plus fréquemment isolé avec un taux de 13 %.

Par ailleurs, La mammite « colibacillaire » à *Escherichia coli* correspond au prototype de la mammite d'environnement. Elle est très souvent incriminée lors de mammites cliniques aiguës, leur incidence est en émergence depuis plusieurs années (Tadich N.A. et al., 1998).

Par conséquent, leur caractère sévère est souvent fatal fait d'elle un problème économique non négligeable. Le pourcentage obtenu dans notre étude est inférieur à celui obtenu par divers auteurs : 21,6 pour Bouaziz (2005) dans l'est algérien ; 19% pour Nam et al.,(2009) en Corée ; 17% pour Poutrel et al.,(2010) en France ; et 19,8% pour Bradley et al., (2007) en Angleterre. La fréquence basse de *E.coli* dans notre étude, s'explique par le fait que les prélèvements ont été conservés au congélateur à -18°C pendant plusieurs semaines. En effet, plusieurs auteurs ont montré qu'une conservation des prélèvements de lait par congélation à -18°C pendant 4, 8 à 12 semaines, entraînerait une diminution de la fréquence d'isolement d'*Escherichia coli* : Schukken et al.,(1989) ; Sanchez et al.,(2003).

Avec une prévalence de 7%, *Enterobacter cloacae* est la deuxième entérobactérie rencontrée. Elle est fréquemment reconnue parmi les causes des mammites cliniques chez les vaches laitières (Schukken et al., 2012). D'après des récentes données (Schukken et al., 2012 ; Nam et al., 2009), le séquençage par la méthode rpoB a montré que dans le genre *Enterobacter spp*, l'espèce *Enterobacter cloacae* est la plus dominante. La fréquence obtenue dans la présente étude est comparable à celle obtenue par divers auteurs : 5% pour Saidi et al (2013) ; 6.4% pour Nam et al (2009). Dans l'étude de Schukken et ses collaborateurs (2011), *Enterobacter cloacae* étaient les principaux germes à gram négatives responsables de mammites cliniques de types subaigües à aigües avec une fréquence de 23%. Les signes cliniques associés à *Enterobacter cloacae* sont généralement faibles par rapport à d'autres cas de mammites à entérobactéries et la guérison spontanée de l'infection et des signes cliniques sont généralement élevés (Schukken et al., 2012).

Dans nos résultats, *Serratia marcescens* et *Klebsiella pneumoniae* viennent avec des fréquences identiques (3% de cas pour chacune). Des cas cliniques de mammites à *Serratia marcescens* ont été décrits en France chez les vaches laitières (Poutrel B, 2010). Cependant, *Serratia marcescens* n'est pas un agent très agressif pour la mamelle : des expositions du trayon biquotidiennes par trempage n'ont pas induit d'infection intramammaire (Tzora A, 1998).

Cependant, pour les vaches affectées, le traitement s'avère long et coûteux et conduit donc à la réforme prématurée de la productrice. Les sources de *Serratia* sont principalement constituées par l'environnement et les mamelles atteintes subcliniquement. Il faut noter que *Serratia marcescens* peut survivre dans certains produits de trempages des trayons (Tzora A, 1998), notamment dans les désinfectants à base d'ammoniums quaternaires.

Par ailleurs, les cas de mammites à *Klebsiella pneumoniae* sont de plus en plus fréquents aux Etats-Unis avec un taux de 22 % (Zadoks RN et al., 2006), et aux Pays-Bas avec un taux de 16% (Paulin-Curle et al., 2007).

Klebsiella pneumoniae est une bactérie à Gram négatif très similaire à la bactérie *Escherichia coli*. Toutes les deux prolifèrent dans certaines conditions environnementales et peuvent être mortelles. Contrairement à *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* peut être à la fois responsable de mammite clinique et subclinique ; en outre, elle est très difficile à traiter.

Il s'agit donc d'une bactérie mortelle ou qui implique l'élimination des vaches atteintes au vu de ses conséquences (nombre de cellules élevé, mammites récurrentes, baisse de production). Les animaux qui survivent aux mammites à *Klebsiella* développent souvent des mammites chroniques (Hanzen, 2013).

Pour l'étude des relations entre la fréquence des entérobactéries à l'origine des mammites selon le stade de lactation et, Comme nous nous y attendions, les mammites à entérobactéries surviennent les plus fréquemment juste après le vêlage (94%). Cette observation est conforme à ce que l'on trouve dans les précédentes études : 85% pour Hogan et Smith.,(2003), et 90 % pour Schukken et al., (2012). La diminution de la fonction immunitaire ainsi que de la migration leucocytaire dans la glande mammaire au cours des premiers jours du post-partum contribuent à augmenter la sensibilité de la glande mammaire aux infections à entérobactéries (Hogan et Smith., 2003).

D'autre part, nos résultats confirment aussi ce qu'avaient démontré F. Ayrat, c'est-à-dire que les mammites à entérobactéries surviennent plus souvent à la mauvaise saison. En effet, il a montré que la saison et le climat ont une influence sur le taux de nouvelle infection à entérobactéries. La pluie et l'humidité ainsi que la chaleur favorisent la multiplication des germes dans la litière et sont en conséquence associées à une augmentation des mammites cliniques. Ces bactéries ne survivent pas et ne se multiplient pas sur la peau des trayons et le nombre des entérobactéries qui y sont présents reflètent la contamination environnementale récente F., Ayrat (2004).

Naturellement sensibles à de nombreux antibiotiques, *E. coli* a acquis des résistances à de nombreuses molécules, en particulier à l'ampicilline, aux tétracyclines, et à l'association amoxicilline+acide clavulanique. En effet, le pourcentage de résistance d'*E. Coli* à l'amoxicilline dans notre travail était très important (88%), il se rapproche de celui rapporté par Nam et al(2009) et Rahal (2001) qui ont trouvés des taux de 89% et 62,5% respectivement. Cependant, elle reste nettement supérieure à la fréquence de 7.4% et 18.7% rapportées par B. Bengtsson et al (2009) et L. Suojala et al (2011) respectivement.

Les taux de résistance observé dans notre étude pour les tétracyclines (75%), et à l'association amoxicilline+acide clavulanique (75%), sont différents de ceux obtenus par d'autres auteurs. En effet, Botrel et al.,(2010) rapportent une fréquence de résistance de 10.4 % aux tétracyclines, et de 9.7% à l'association amoxicilline+acide clavulanique respectivement. Par contre, Nam et al.,(2009) obtiennent des taux de résistances de 100% et de 40% vis-à-vis des tétracyclines et l'association amoxicilline+acide clavulanique respectivement.

Les forts pourcentages de résistances obtenus dans notre étude vis-à-vis de l'ampicilline, les tétracyclines et l'association amoxicilline+acide clavulanique sont dus à l'utilisation abusive et anarchique de ces molécules par les vétérinaires, et aussi à leur large disponibilité sur le marché algérien, avec des prix abordables.

Par ailleurs, aucune résistance n'a été notée (100% de sensibilité) vis-à-vis de la Céfotaxime, de l'association Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole, ainsi que la colistine, l'Ofloxacin et le chloramphénicol. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par M. Ohnishi et al., (2011). Cette sensibilité est liée à notre avis à la rareté de leur utilisation dans le traitement des pathologies animales vu leur cherté et le recours aux autres antibiotiques vue leur disponibilité et leur prix plus bas. Ainsi, le chloramphénicol a été retiré de la nomenclature vétérinaires à cause de l'aplasie médullaire qu'il est susceptible d'engendrer.

L'analyse de la sensibilité des germes aux antibiotiques a montré une excellente réponse d'*Enterobacter cloacae* face au chloramphénicol, à l'Ofloxacin et à la colistine (100%), et une bonne sensibilité à l'acide nalidixique et à la céfotaxime (plus de 75 %). Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Nam et al., (2009), mais ils sont différents en ce qui concerne le chloramphénicol. En effet, Nam et al.,(2009) ont noté 60% de sensibilité de ce pathogène face au chloramphénicol contre 100% dans notre étude. Cette différence s'explique par le fait que l'utilisation de ce dernier chez les animaux de rente est interdite en Algérie et de ce fait les résistances des bactéries sont rare vis-à-vis de chloramphénicol.

Une résistance très élevée des *Enterobacter cloacae* a été observée pour la Kanamycine, l'Amoxicilline+ Acide clavulanique, la Cefalexine, l'ampicilline et la tétracycline. Ces deux derniers constituent les antibiotiques les plus inefficaces (100% de résistance). Cette observation est semblable à celle faite par Nam et al., (2009). Les résultats avec l'ampicilline sur *Enterobacter cloacae* s'expliquent par sa résistance naturelle. Par ailleurs, le pourcentage de résistance avec la tétracycline peut se justifier par l'utilisation large de ces antibiotiques dans le traitement des mammites. En effet, dans la zone d'étude où nos investigations ont eu lieu, les tétracyclines sont très utilisées dans le traitement des mammites sans qu'il ait une analyse bactériologique et un antibiogramme préalable afin d'avoir une idée sur le germe en cause et son profil de sensibilité, ce qui a favorisé selon notre avis la sélection des souches résistantes à ce type d'antibiotiques.

Les *Klebsiella pneumoniae* ont montré une excellente sensibilité au Cefalexine, au Céfotaxime, au Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole, à l'Acide Nalidixique et à l'Ofloxacin. Ils ont aussi une bonne sensibilité à la colistine, le chloramphénicol et à l'association amoxicilline+acide clavulanique avec un taux de 75%. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Saini et al., (2012), Nam et al., (2009), et B. Bengtsson et al., (2009). Cependant, les résistances des *Klebsiella pneumoniae* obtenues dans notre étude atteignent les 50% face à la streptomycine et la tétracycline, alors que celles mentionnées par Saini et al., (2012) ont révélé une résistance seulement de 17,4% et de 18.3% respectivement. Selon notre avis, l'utilisation abusive des antibiotiques (doses insuffisantes, non-respect de la durée de traitement...) sont le plus souvent à la base des phénomènes de résistance.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a fait ressortir des fréquences de résistances très élevées chez *Serratia marcescens* vis-à-vis des quatre antibiotiques : l'Ampicilline (67 %), l'association Amoxicilline +Acide clavulanique (33%), la Kanamycine (33%) et la Streptomycine (33%).

En revanche, aucune résistance n'a été observée vis-à-vis des autres antibiotiques, à savoir, la Céfotaxime, la Triméthoprim + Sulfaméthoxazole, l'Acide nalidixique, l'Ofloxacin, la Colistine et le Chloramphénicol. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par M. Ohnishi et al., (2009) mais ils sont différents en ce qui concerne la Kanamycine. En effet, M. Ohnishi et al., (2009) a noté seulement 9% de résistance des *Serratia marcescens* face au Kanamycine contre 33% dans notre étude. Les taux anormalement élevés vis-à-vis du Kanamycine peuvent être le fait de la persistance d'une résistance acquise antérieurement ou, d'une résistance « croisée ». La Streptomycine est peu utilisée car de coût relativement élevé. La résistance observée vis-à-vis de cet antibiotique serait donc peut être liée à l'existence d'une résistance croisée entre les aminosides.

D'autre part, les Résistances des *Serratia marcescens* à l'Ampicilline, et à l'association Amoxicilline + Acide clavulanique aurait pour explication une capacité d'hyperproduction des Béta-lactamases par ces bactéries.

- ❖ Les résultats de la sensibilité aux antibiotiques ont montré en générale que les entérobactéries étudiées présentent un haut niveau de résistance vis-à-vis des pénicillines et des tétracyclines. Cette multirésistance peut s'expliquer par le fait que les gènes responsables de ces résistances peuvent être porté par le même plasmide, par la coexistence de plusieurs mécanismes de résistance, ou par la production de plusieurs types enzymatiques (Jacoby, 1997 ; Pitout, 1998). Ces taux de résistance que nous avons observés sont très élevés par rapport à ceux observés dans les pays développés comme la France (Botrel et al., 2010), la Corée (Nam et al., 2009), le Japon (Ohnishi et al., 2011), et la Suède (B. Bengtsson et al., 2009), mais se rapprochent des taux de résistance rapportés dans les pays en développement comme la Finlande (L. Suojala et al., 2011), et l'Algérie (Rahal., 2001). Ce niveau de résistance élevée est une conséquence de l'acquisition des facteurs de résistance aux antibiotiques qui est généralement secondaire à l'utilisation anarchique et abusive de ces antibiotiques, sans recours à l'antibiogramme.

Les résultats de ces sensibilités aux antibiotiques ont aussi montré que les Cephalosporines, les Aminosides, les Sulfamides-Triméthoprim, les Quinolones, les Polypeptides, les Aminoglycosides et les Phenicolés sont les antibiotiques les plus actifs sur les entérobactéries.

Avec un pourcentage de sensibilité de 95.5% et de 93.75% face aux Quinolones et aux Polypeptides, ces dernières sont les familles de premier choix contre ce groupe de bactéries avec les Phenicolés (90.75%).

L'efficacité des Polypeptides (la colistine) contre les entérobactéries pourrait être due à leur spectre d'activité étroit. La colistine n'est active que contre quelques bactéries à gram négatif.

Les Quinolones, malgré leur spectre d'activité large, ceux de première génération comme l'acide nalidixique et de deuxième génération comme l'Ofloxacin, ne sont actives que sur les bactéries à gram négatif, sauf pour l'Ofloxacin qui son spectre couverts certains germes à Gram positif .

- ❖ En ce qu'il concerne nos résultats à propos de la recherche de bêta-lactases à spectre élargie (BLSE), 08 entérobactéries ont été résistantes au moins à une Cephalosporines de 3ème génération et ont un diamètre inférieur à 27 mm pour la Céfotaxime et sont donc suspectées d'être productrices de bêta-lactases à spectre étendu (BLSE). Cependant, aucune image de synergie (en bouchon de champagne) n'a été observée entre le disque d'Amoxicilline+acide clavulanique et les disques de Céfalosporine de 3ème génération. L'image de synergie sera suspectée devant toute diminution de diamètre autour des Céfalosporines de troisième génération ou des monobactames. L'absence de l'image de synergie pourrait s'expliquer par l'existence de « Faux négatif » qui s'observe chez les souches qui possèdent deux mécanismes de résistance aux bêta-lactamines, une BLSE et une hyper production naturelle (Céfalosporinases hyper produite), la synergie recherchée est masquée par le deuxième mécanisme de résistance. La mauvaise expression de bêta-lactamase (synergie faible) peut être également responsable de « Faux positif ». La lecture du test de synergie s'avère souvent délicate pour cela il est recommandé de pratiqués des tests complémentaires.

Conclusion

CONCLUSION

Les mammites cliniques restent une dominante pathologique sévissant dans les élevages en Algérie et ce, avec une prévalence de 36% dans les exploitations de la région de Bordj Bou Arreridj. Cette pathologie multifactorielle représente, l'ennemi numéro un de l'industrie de la production laitière.

Les entérobactéries sont des agents pathogènes fréquemment impliqués dans les mammites cliniques des vaches laitières. L'importance croissante dans ces dernières années est liée aux difficultés de mise en place de mesure efficaces de gestion de ces infections. Les connaissances sur son épidémiologie doivent être améliorées afin d'orienter ces mesures prophylactiques.

L'étude expérimentale que nous avons menée auprès de 42 élevages met en lumière que les mauvaises conditions d'hygiène du bâtiment d'élevage et la mauvaise conduite du troupeau constituent les probables facteurs de risque de la survenue de cette pathologie. La position du quartier a aussi une importance significative dans l'apparition de la maladie. Les comparaisons statistiques montrent que la race, le rang et le stade de lactation, constituent des facteurs de risque intrinsèques importants.

Les analyses bactériologiques réalisées sur les prélèvements issus de mammites cliniques ont montré, dans l'ensemble, que les germes à Gram positives sont majoritaires avec une fréquence de 68%, ensuite viennent les bactéries à Gram négatives avec une fréquence d'isolement de 32% dont 26% étaient des entérobactéries.

Notre étude montre que, *Escherichia coli* isolée à une fréquence de 13% est la première entérobactérie responsable des mammites cliniques chez les vaches laitières dans la zone de Bordj Bou Arreridj. Ensuite, viennent les *Enterobacter cloacae* avec une fréquence d'isolement de 7%, puis les *Klebsiella pneumoniae* et les *Serratia marcescens* avec qui partagent la 3^{ème} place avec une fréquence de 3%.

Enfin, L'étude de la sensibilité, in vitro, des entérobactéries identifiées vis-à-vis des antibiotiques a révélé une bonne sensibilité des germes pour sept familles à savoir : les céphalosporines, les aminosides, les sulfamides-Triméthoprime, les quinolones, les polypeptides, les aminoglycosides et les phenicolés. Une résistance non négligeable des entérobactéries a été notée pour les pénicillines et les tétracyclines. Par contre, aucune souche de phénotype BLSE n'a été détectée.

Recommendations

Recommandations

Au terme de cette étude nous recommandent :

1- Un environnement propre, sec et confortable :

- la mise en place des logements modernes, et de conception adéquates.
- Garder les stalles propres, sèches et confortables avec un usage approprié de litière.
- Garder les parcs ou les installations et les zones de circulation propres et secs.
- S'assurer du bon fonctionnement du système de ventilation.
- Avoir une densité d'élevage adéquate dans les installations.
- Contrôler les facteurs environnementaux défavorables (stress thermique, engelures, tensions électriques, insectes, etc.).
- Voir à ce que les vaches restent debout après la traite (fournir des aliments frais et de l'eau).

2- Méthodes de traite adéquates :

- Examinez les premiers jets afin de déceler rapidement la mammites clinique et faciliter la descente de lait.
- Appliquer un désinfectant sur les trayons avant la traite. La peau des trayons doit être recouverte complètement et le désinfectant doit rester sur les trayons pour au moins 30 secondes.
- Sécher les trayons à l'aide d'une serviette de tissu propre et désinfectée que vous utilisez seulement pour une vache ou d'une serviette de papier jetable par vache.

3- Un bon entretien et un bon usage de l'équipement de traite ;

4- la mise en place des tests de comptage de cellules du lait comme le CCS et le CMT ;

5- Le recours aux analyses bactériologiques en cas de mammites cliniques afin d'isoler les agents responsables et de faire un antibiogramme avant d'entreprendre un traitement curatif.

6- de traiter systématiquement les mammites cliniques 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, et suivi d'un délai d'attente avant d'utiliser le lait pour la consommation humaine) ;

7- un traitement systématique des vaches au tarissement à l'aide des antibiotiques.

8- Réformer les vaches aux mammites non guéries, à mammites récidivantes ou à quartier fibrosé.

-
- 9- Procéder à une étude similaire pour les mammites cliniques afin de définir, d'une façon générale et efficace, un plan de contrôle efficace contre les mammites (cliniques et subcliniques) dans les élevages de la zone de bordj Bou Arreridj.
 - 10- Il serait souhaitable de moduler la réponse inflammatoire observés lors de mammites afin d'obtenir une guérison bactériologique tout en évitant des signes cliniques trop sévères. L'utilisation de protéines bovines recombinantes telle que le CD14, capable de détoxifier localement le LPS pourrait être envisageable. Par ailleurs il a été suggéré que la plus grande sensibilité des vaches aux mammites à coliformes au moment de la parturition et en début de lactation pourrait être liée à un dysfonctionnement au niveau de l'interaction LPS-TLR4 avec pour conséquence une diminution du recrutement des PMN. Ainsi il a été suggéré d'utiliser des agonistes de TLR-4 qui imitent la structure du LPS mais sont moins toxiques et qui sont capable d'activer l'immunité innée non spécifique. Ces approches qui n'ont pas encore donné lieu à des applications pratiques restent pour le moment du domaine de la recherche.
 - 11- Il serait également intéressant de mené des études similaires pour les mammites portent sur la caractérisation de la prévalence et de la diversité des gènes de résistance bactérienne à des antibiotiques.

Références bibliographiques

Références bibliographique

- **Anderson K.L.** Therapy for acute coliform mastitis. In: *Comp. Cont. Educ*, vol.11, 1989; p17-26.
- **Araujo W.** Le coût des maladies en élevage bovin laitier, quelques repères et application pratique. In : *Journées Nationales des G.T.V.*Tours, 2004, p463-470.
- **Avril. J. L, Monteil. H, Dobernat.H, Denis. F.***Bactériologie Clinique*. Édition ELLIPSE, 2000, p171-295.
- **Ayral Florence.** *Mammites colibacillaires de la vache laitière : étude d'une série de 74 cas hospitalisés*. Thèse de doctorat en science vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2004.
- **Bakhoum I.** *Contrôle de qualité et validation de différents micro méthodes d'identification bactérienne*. Thèse Pharm, 2004, 25p.
- **Barone R.** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Paris. Tome4, Splanchnologie II. *Editions Frères Vigot*, 2001, p 442-447.
- **Bartlett, PC, GY Miller, SE Lance, et LE Heider.** Environmental and managerial determinants of somatic cell counts and clinical mastitis incidence in Ohio dairy herds. In: *Preventive Veterinary Medicine*, vol.14 (3-4), 1992, p195-207.
- **Bernard Joly et Alain Reynaud.***Entérobactéries :systematique et methodes de diagnosctic*.paris,LAVOISIER,2003,5-9p.
- **Bjorn Bengtsson, Helle Ericsson Unnerstad , Torkel Ekman , Karin Artursson ,et al.,** Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows.In:*J Veterinary Microbiology* ,vol.136,2009,p142–149.
- **Botrel Marie-Anne,Marisa Haenni, Eric Morignat,Philippe Sulpice, Jean-Yves Madec, and Didier Calavas.** Distribution and Antimicrobial Resistance of Clinical and Subclinical Mastitis Pathogens in Dairy Cows in Rhone-Alpes, France .In: *FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE*, Vol.7, Number 5, 2010.
- **Bouaziz Omar.** Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien. Thèse de Doctorat d'Etat en science vétérinaire. Université Mentouri de Constantine, 2005.
- **Bouchot MC, catel J, chirol C, ganiere JP, le menec M.** Diagnostic bactériologique des infections mammaires des bovins. In : *Rec. Méd. Vét*, vol.161 (6-7), 1985, p567-577.

- **Boudry Benjamin.** Traire un lait de qualité. In : *Journée d'étude des AREDB d'Aubel, de Herve-Fléron-Visé et de Montzen et de la Région wallonne* ,29 novembre 2005, p 1-5.
- **Boutet P, bureau F, lekeux P.** La mammite de l'initiation à la résolution. In : *Ann. Méd Vét*, 2006, vol.150, p1-26.
- **Bradley A, Green Mj.** A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period.In: *Journal of Dairy Science*, vol.83, 2001, p1957-1965.
- **Bradley A.J., Leach K.A., Breen J.E., Green L.E., Green M.J.** Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales.In:*Veterinary Record*, vol. 160 (8),2007,p253-258.
- **Brouillette E, Grondin G, Shkreta L, Lacasse P, Talbot BG.** In vivo and in vitro demonstration that *Staphylococcus aureus* is an intracellular pathogen in the presence or absence of fibronectin binding proteins. In:*Microb Pathog* ,vol.35,2003,p159-68.
- **Burton, JL, et RJ Erskine.**Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease .In: *The Veterinary Clinics of North America:Food Animal Practice*,vol. 19 (1),2003,p1- 45.
- **Burvenich, C., Bannerman, D.D., Lippolis, J.D., et al.** Cumulative physiological events influence the inflammatory response of the bovine udder to *Escherichia coli* infections during the transition period.In: *J. Dairy Sci.*, vol. 90 (E. Suppl.), 2007, p39-54.
- **Burvenich, C., Van Merris, V., Mehrzad, J., et al.** Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors.In: *Vet. Res*, vol.34, 2004, p521-564.
- **Dumas Pl, Faroult B, Serieys F.** Assurer le traitement en exploitation laitière : expérience et perspectives de l'action G.T.V. Partenaire. In :*Journées Nationales des G.T.V.Tours*, 2004 ,p71-75.
- **Durel L, Faroult B, Lepoutre D, Brouillet P, Le Page Ph.** *Mammmites des bovins (cliniques et subcliniques) : Démarches diagnostiques et thérapeutiques.* La Dépêche Technique. Supplément technique 87 à la Dépêche Vétérinaire du 20 Décembre 2003 au 2 Janvier 2004. 39 p.
- **Eberhart R.J.** Coliform mastitis.In: *Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.*; vol.6(2),1984,p287-300.
- **Erskine RJ, Eberhart RJ, Hutchinson LJ, Spencer SB, Campell MA.** Incidence and types of clinical mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts. In: *J. Am. Vet. Med.Assoc*, vol.192, 1988, p761-765.

- **Fabre JM, Morvan H, Lebreux B, Houffschmitt RM, Langridge S, Booth JM.** Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France, partie 2 : mammites subcliniques. In : *Bull. GTV*, vol.3, 1997, p17-23.
- **Faye B, Landais E, Coulon JB, Lescourret F.** Incidence des troubles sanitaires chez la vache laitière : bilan de 20 années d'observation dans 3 troupeaux expérimentaux. *INRA Prod. Anim*, vol.7 (3), 1994,p 191-206.
- **Federici-Mathieu C Et Godin M.** La machine à traire : fonctionnement, incidence sur la santé des mamelles. In : *Recueil des journées nationales des GTV*, Tours, 2002, p 369-394.
- **Fernando, RS, RB Rindsig et SL Spahr.** Electrical conductivity of milk for detection of mastitis. In: *J. Dairy Sci*, vol.65, 1982, p 659–664.
- **Hanzen C.H.** Propédeutique de la glande mammaire. sémiologie, diagnostic individuel et de troupeau, Université de Liège. Faculté de Médecine Vétérinaire, 2010, p22.
- **Hanzen,C.H.** Physio-anatomie et propédeutique de la glande mammaire Symptomatologie, étiologie et thérapeutiques individuelles et de troupeau des mammites. *Cours de Thériogenologie des animaux de production.Université de Liège.Faculté de Médecine Vétérinaire*, 2013, p7-9.
- **Harmon, RJ.** Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. In: *J Dairy Sci*, vol.77, 1994, p2103 - 2112.
- **Heikkilä, A.-M., J. I. Nousiainen, et S. Pyörälä.** Costs of clinical mastitis with special reference to premature culling. In: *J. Dairy Sci*, vol.95, 2012, p139–150.
- **Heleili N.** *Etude de la mammite subclinique et la sensibilité in vitro des germes isolés aux antibiotiques.* Thèse de Magister, Université de Batna ,2002. 202 p.
- **Hillerton, JE, JW Pankey, et P Pankey.** Effect of Over-Milking on Teat Condition .In: *Journal of Dairy Research*, vol.69 (01), 2002, p81-84.
- **Hogan JS and Smith KL.** Coliform mastitis. In: *Veterinary Research*, vol.34, 2003, p 507–519.
- **Hutton, CT, LK Fox, et DD Hancock.** Mastitis control practices: differences between herds with high and low milk somatic cell counts .In: *J. Dairy Sci*, vol.73 (4), 1990, p1135-1143.
- **Jackson J.A., Shuster D.E., Silvia W.J., Harmon R.J.** Physiological responses to intramammary or intravenous treatment with endotoxin in lactating dairy cows. In: *J. Dairy Sci*, vol.73, 1990, p627-632.
- **Jacoby G, Han P, Tran J.** Comparative in vitro activities of carbapenem L-749,345 and other antimicrobials against multiresistant gram-negative clinical pathogens. In: *J Antimicrob Agents Chemother*, Vol. 41(8), 1997, p1830.

- **Janda J.M. And Abbott S. L.** Historical perspectives on the family Enterobacteriaceae. In: *the Enterobacteriaceae Lippincott Raven Publishers*, Philadelphia, 2006, p1-7.
- **Jean Freney et Muriel Crose.** Enterobacteriaceae-Generalites. paris, ESK, 2007, p980-1010.
- **Jean-Baptiste, Claude, Robert Gandon.** *comparaison entre la méthode épidémiologique et la méthode bactériologique de diagnostic lors d'une épizootie de mammites en élevage bovin*. Thèse Pour Le Doctorat Vétérinaire. Faculté De Médecine De Créteil, 2010.
- **Kinsella C, Austin FH.** A note on the incidence of clinical mastitis in commercial Irish dairy herds. In: *Irish J. Agric. Res*, vol.29, 1990, p79-82.
- **Kossaihati MA, Hovi M, Esslemont RJ.** Incidence of clinical mastitis in dairy herds in England. In: *Vet. Rec*, vol.143, 1998, p 649-653.
- **Leena Suojala, Tarja Pohjanvirta , Heli Simojoki , Anna-Liisa Myllyniemi et al.,** Phylogeny, virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated in clinical bovine mastitis. In: *J Veterinary Microbiology*, vol.147, 2011, p383–388.
- **Lepage P.** Les moyens de diagnostic des infections mammaires en exploitation. In : *Journées Nationales des G.T.V*, Nantes, 2003, p 319-330.
- **Lippolis Jd, Bayles Do, Reinhardt Ta.** proteomic changes in *Escherichia coli* when grown in fresh milk versus laboratory milk. In: *J.proteome Res*. vol.8, 2009, p149-158.
- **Mamoru Ohnishi, Takuo Sawada, Kazuhiko Hirose, et al.** Antimicrobial susceptibilities and bacteriological characteristics of bovine *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* isolates from Mastitis. In: *Veterinary Microbiology*, vol.154, 2011, p202–207.
- **Mialotj.P.** Technique de prélèvement de lait pour examen bactériologique. In : *Rec. Med. Vet*, vol.159, 1983, p1057-1058.
- **Miller, RH.** Traits for sire selection related to udder health and management .In: vol.67 (2), 1984, p 459-471.
- **Milne MH, Barret DC, Fitzpatrick JL, Biggs AM.** Prevalence and aetiology of clinical mastitis on dairy farms in Devon. In: *Vet. Record*, vol.151, 2002, p241-243.
- **Morse D., De Lorenzo M.A., Wilcox C.J., Natzke R.P., Bray D.R.** Occurrence and reoccurrence of clinical mastitis. In: *J Dairy. Sci.*, vol.70, 1987, p21-68.
- **Murdoch PA.** Effects of freezing on the viability of nine pathogens from quarters with subclinical mastitis. In: *J. Dairy Sci*, vol.79, 1996, p 334 -336.
- **Nakajima Y, Mikami O, Yoshioka M, et al.** Elevated level of tumor necrosis factor alfa and interleukine 6 activities in the sera and milk of cows with naturally occurring coliform mastitis. In: *Res. Vet. Sci*, vol.62, 1997, p297-298.

- **Nam H. M, S. K. Lim, H. M. Kang, J. M. Kim, J. S. Moon, K. C. Jang, J. M. Kim, Y. S. Joo, and S. C. Jung.** Prevalence and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea. In: *J. Dairy Sci*, vol.92, 2009, p2020–2026.
- **National Mastitis Council.** Current concepts of bovine mastitis, 4th edition.1996.
- **National Mastitis Council.** *Laboratory handbook on bovine mastitis*, rev. Edn. Madison, WI, USA, 1999, National Mastitis Council.
- **Niar A, Ghazy K, Dahache SY.** Incidence des mammites sur les différents élevages bovins de la wilaya de Tiaret. *4ème Séminaire International de Médecine Vétérinaire Constantine 21-22 novembre 2000.*
- **Norberg, E, H Hogeveen, IR Korsgaard, NC Friggens, KH Sloth, P Lovendahl.** Electrical conductivity of milk: ability to predict mastitis status. In: *J. Dairy Sci*, vol. 87, 2004, p 1099–1107.
- **Ogola, H, A Shitandi, et J Nanua.** Effect of mastitis on raw milk compositional quality. In: *Journal of Veterinary Science*, vol 8 , № 3, 2007, p237-242.
- **Paulin-Curlee GG, Singer RS, Sreevatsan S, et al.** Genetic diversity of mastitis associated *Klebsiella pneumoniae* in dairy cows. In: *J Dairy Sci* ,vol. 90, 2007, p9.
- **Pearson JKL, Mackie DP.** Factors associated with the occurrence, cause and outcome of clinical mastitis in dairy cattle. In : *Vet. Rec*, vol.105, 1979, p456 -463.
- **Peeler EJ, Green MJ, Fitzpatrick JL, Green LE.** Study of clinical mastitis in British dairy herds bulk milk somatic cell counts less than 150 000 cells/ml. In: *Vet. Record*, vol. 151, 2002, p170-176.
- **Pillot J. Pastoret Pp, Govaerts A, Bazin H.** Résistance envers les bactéries. In: *Immunologie animale éd Médecine –Sciences Flammarion*, 1980, p261-268.
- **Pitkala A, Haveri M, Pyorala S, et al.** Bovine mastitis in Finland. Prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. In: *J Dairy Sci* ,vol. 87, 2004, p2433-2441.
- **Pitout JD, Thomson KS, Hanson ND, Ehrhardt AF, Moland ES, Sanders CC.** Plasmid-mediated resistance to expanded-spectrum cephalosporins among *Enterobacter aerogenes* strains. In: *Antimicrob Agents Chemother*, vol.42(3), 1998, p596-600.
- **Plozza, K, JJ Lievaart, G Potts, et HW Barkema.** Subclinical mastitis and associated risk factors on dairy farms in New South Wales. In: *Australian Veterinary Journal*, vol. 89 (1-2), 2011, p41-46.
- **Pluvinage P.H., Ducruet T.H., Josse J., Monicat F.** Facteurs de risque des mammites des vaches laitières. Résultats d'enquête. In : *Rec. Med. Vet*, vol.167(2), 1991, p 105-112.

- **Poutrel B** .Les endotoxine (LPS) des bactéries gram négatif : rôle physiopathologique dans les mammites à coliformes. In : *BULLETIN GTV*, N°42, 2008, p 25-31.
- **Poutrel B**. Généralités sur les mammites de la vache laitière, processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. In : *Rec. Méd. Vét.*, vol. 161, 1985, p 6-7.
- **Poutrel B**.Les mammites colibacillaires chez les vaches laitieres.In:*BULLETIN DES GTV*, N°54, juin 2010, p17-26.
- **Quin PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR**. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Publishing, London, 1994. 648 p.
- **Rahal B**. *Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques en milieu vétérinaire*. In : Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Projet de l'OMS, 3ème rapport d'évaluation, 2001, 68-91p.
- **Rahmouni-Alami I, Mazouz A**. Etudes des protocoles de traitement des mammites bovines au Maroc (enquête de terrain).In : *XXème Congrès Vétérinaire Maghrébin, 8 et 9 mai 2003*, Fès Maroc.
- **Rainard P, Poutrel B**. Protection de la glande mammaire. In : *Biologie de la lactation*. Ed. INSERM-INRA, 1993, p 415-429.
- **Rainard P**. The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. In:*Vet Res*,vol.34,2003,p647 - 670.
- **Rainard, P., Riollet, C**. Innate immunity of the bovine mammary gland.In:*Vet. Res.*, 2006, vol. 37, p369-400.
- **Ramisse J, Brement AM, Lamarre C, Viaud MA, Breard A**. Résultats d'une enquête sur les mammites en Vendée. In : *Le Point Vétérinaire*, vol.13, 1982, p63-73.
- **Remy D**. *Les mammites*. In : Guides France agricole, 2010, p259.
- **Rinaldi, M, RW Li, et AV Capuco**.Mastitis associated transcriptomic disruptions in cattle.In: *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol.138 (4), 2010-a, p267-279.
- **Rinaldi, M, RW Li, DD Bannerman, KM Daniels, C Evoke-Clover, MVB Silva, MJ Paape, B Van Ryssen, C Burvenich, et AV Capuco**. A sentinel function for teat tissues in dairy cows: dominant innate immune response elements define early response to E.coli mastitis. In: *Functional & Integrative Genomics*, vol.10 (1), 2010-b, p21-38.
- **Rosenberger G**. In : *Appareil génitale femelle, Examen clinique des bovins*, Edition du Point Vétérinaire, Rueil-Malmaison, 1979, p373-404.
- **S P Oliver, G M Pighetti, and R A Almeida**. *Mastitis Pathogens and Environmental Pathogens* .The University of Tennessee, Knoxville, TN, USA,Elsevier Ltd. Volume 3,2011, p415–421.

- **Saidi Radhwane.** *Enquête épidémiologique sur les mammites bovines dans certaines élevages du centre (Algérie).* Thèse de Doctorat d'Etat en science vétérinaire. Université Saad Dahlab de Blida, 2012.
- **Saini V, McClure JT, Léger D, Keefe GP, Scholl DT, Morck DW, Barkema HW.** Antimicrobial resistance profiles of common mastitis pathogens on Canadian dairy farms. In: *J Dairy Sci*, vol.95 (8), 2012, p 19-32.
- **Sanchez, A., Contreras, A., Jimenez, J., Luengo, C., Corrales, J.C., Fernandez, C.** Effect of freezing goat milk samples on recovery of intramammary bacterial pathogens. In: *Vet Microbiol*, vol.94(1), 2003, p71-77.
- **Sargeant JM, Morgan A, Scott H, Leslie KE, Ireland MJ, Bashiri A.** Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario : frequency of occurrence and bacteriological isolates. In: *Can. Vet. J*, vol.39, 1998, p33-38.
- **Schepers A.J., Lam T.J., Schukken Y.H., Wilmink J.B., & Hanekamp W.J.** Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. In: *J. Dairy Sci.* 1997, p 1833-1840.
- **Schukken Y.H., Grommers F.H., Van Der Geer D., Brand A.** Effect of freezing on bacteriological culturing of mastitis milk samples. *J. Dairy Sci*, vol.79, 1989, p1906-1908.
- **Schukken YH, Günther J, Fitzpatrick J, et al. Members of the Pfizer Mastitis Research Consortium.** Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. In: *Vet Immunol Immunopathol*, vol.144 (3/4), 2011, p27-89.
- **Schukken YH, Matt Chuff, Paolo Moroni, et al.,** The “Other” Gram-Negative Bacteria in Mastitis Klebsiella, Serratia, and More. In: *Vet Clin Food Anim*, vol.28, 2012, p 239-256.
- **Schukken, YH, RN González, LL Tikofsky, HF Schulte, CG Santisteban, FL Welcome, GJ Bennett, MJ Zurakowski, et RN Zadoks.** CNS mastitis: nothing to worry about. In: *Veterinary Microbiology*, vol.134 (1-2), 2009, p9-14.
- **Sears P. M., McCarthy K. K.** Management and treatment of staphylococcal mastitis. In: *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, vol.19, 2003, p171-185.
- **Seegers H, Billon D, Roussel Ph, Serieys F, Leguenic M, Baudet H, et al.** Aspects économiques et indications du traitement des antibiotiques non systématique au traitement des vaches laitières. In : *Journées Nationales des G.T.V.Nantes*, 2007, p753-763.
- **Seegers H, Menard JI, Fourichon C.** Mammites en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. In : *Rencontres Rech. Ruminants*. 1997, vol 4, p 233-242.

- **Seleim RS, Amany Y, Rashed M, Fahmy BGA.** Mastitis pathogens: attachment-related virulence features, whey protein markers and antibiotic. In: *Vet. Med. J*, vol.50 (3), 2002, p 405-418.
- **Serieys F. et al.** Utilisation de la bactériologie par le vétérinaire pour la maîtrise des mammites : élaboration d'une méthodologie et test en élevage. In : *congrès de la SNGTV*, 2009 : p 651-661.
- **Serieys F.** *Streptococcus uberis*, l'espèce préoccupante. In : *Le Point Vétérinaire*, vol.34(239), 2011, p46-49.
- **Serieys, F.** Concentration cellulaire du lait individuel de vache: influence de l'état d'infection mammaire, du numéro de lactation et de la production laitière. In : *Ann Rech Vét*, sect. 16, 1985.
- **Sipe J.D.** Cellular and humoral components of the early inflammatory reaction The acute-phase response to injury and infection. In: *Gordon A.H., Koj A.25 (Eds.), Elsevier Science Publishers*, Amsterdam, 1985, p3-21.
- **Smith B.P.** Large Animal Internal Medicine, diseases of horses, cattle, sheep and goats, 3ème édition. Saint Louis: Mosby, 2001,p1019-1035.
- **Snyderman, J.I.G.e.R.** *Inflammation : Basic Principles and clinical correlates*, 3e édition. 1999. chapitre 41.
- **Sordillo L.M., Streicher K.L.** Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. In: *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia*, vol.7, 2002, p135-146.
- **Sordillo, L.M., Shafer-Weaver, K., Derosa, D.** Immunobiology of the mammary gland .In:*J. Dairy Sci.*, vol. 80, 1997, p1851-1865.
- **Standardisation De L'antibiogramme A L'échelle Nationale (Médecine Humaine Et Vétérinaire)**, Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, Document édité avec la collaboration de l'OMS, 6ème Edition, 2011.
- **Tadich N.A., Carey A., Porter R., et al.** Case control study of risk factor for toxic mastitis in 26 dairy cows. In: *Vet Rec*. 1998, p143-365.
- **Tzora A, Fthenakis Gc.** Mastitis associated with *Serratia marcescens*. In: *J Ruminant Research*, vol.29, 1998, p125-126.
- **Valérie Livrelli, Richard Bonnet, Bernard joly et Arlette Darfeuille Micahud.** *Précis de bactériologie cliniques*. paris,ESK,2007, 998 p.
- **Victor M Javier ,Oviedo-Boyso, et al.** Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. In: *Journal of Infection*, vol.54, 2007, p399-409.

- **Ward W.R., Hughes J.W., Faull W.B., Cripps P.J., Sutherland J.P., Sutherst J.E.** Observational study of temperature, moisture, pH and bacteria in straw bedding and faecal consistency, cleanliness and mastitis cows in four dairy herds. In: *Vet. Rec.*, vol.151 (7), 2002, p199-206.
- **Wenz J.R., Barrington Gm, Garry Fb, Ellis Rp, Magnuson Rj.** *Escherichia coli* isolated serotypes, genotype and virulence genes and clinical coliform mastitis severity. In: *Journal of Dairy Science*, vol.89, 2006, p3408-3412.
- **Wenz J.R., Barrington G.M., Garry F.B., et al.** Use of systemic disease signs to assess disease severity in dairy cows with acute coliform mastitis. In: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, vol.218, 2001, p567-572.
- **Whitaker DA.** Clinical mastitis in British herds. In: *Vet. Record*, vol. 151, 2002, p248.
- **Wilesmith JW, Francis PG, Wilson C.D.** Incidence of clinical mastitis in a cohort of British dairy herds. In: *Vet. Record*, vol.118, 1986, p199-204.
- **Youssef M'SADAK, Leila MIGHRI, Khemais KRAIEM.** Etude des numérations cellulaires du lait et analyse descriptive des facteurs de risque des mammites en élevage bovin hors sol dans la région de Monastir (Tunisie). In : *Revue « Nature & Technologie ». B-Sciences Agronomiques et Biologiques*, n° 10, Janvier 2014. p56-61.
- **Z. Boufaida Asnoune, M.J. Butel et R. Ouzrout .** Prévalence des principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. In : *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, vol.65 (1-2) 2012, p 5-9.
- **Zadoks RN, Griffiths HM, Munoz MA, et al.** Sources of *Klebsiella* and *Raoultella* species on dairy farms: be careful where you walk. In: *J Dairy Sci*, vol. 94(2), 2011, p1045-51.

Annexes

Enquête épidémiocliniques sur les mammites de la vache laitière

Nom et adresse de l'éleveur :

-Date de prélèvement : -Numéro de prélèvement : L'Age de l'animale : -La Race :	-Ya-il des problèmes antérieurs sur ce quartier ? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non - Utiliser vous la machine à traite ? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non - Hauteur des trayons par rapport au jarret : <input type="checkbox"/> Au-dessous <input type="checkbox"/> Au-dessus -Stade de la lactation:
--	---

Type de la litière	Etat de propreté de la litière	Quartier atteint	Aspect du lait	Aspect du quartier	Température rectale (°c)	Etat général de la vache	Production du lait de quartier
-Paille	-Mauvaise	-AND	- Petits caillots début de traite seulement	- Normale		-Normale	-Normale
-Copeaux de bois	-Moyenne	-ANG	- Caillots Gros	-Enflé et douloureux		- Baisse d'appétit et de vivacité	-Plus de la moitié de normale
- Sol en béton (Sans litière)	-Bonne	-POD -POG	-Aspect d'eau ou cidre	-Très enflé et douloureux		- Vache bien malade	-moins de la moitié de normale

Système d'élevage	Nettoyage de la Machine à traite	Lavage des mains	Pratique de pré-trempage	Contrôle 1ers jets	Désinfection des trayons après la traite	Pratique de tarissement	Traitement préventif au tarissement
-Semi-intensif	-Eau + détergent	- Oui	-Oui	-Sans	-Oui	-Oui	-Oui
-Extensif	-Eau + eau de javel	-Non	-Non	-Sur sol	-Non	-Non	-Non
-Intensif	-Eau seulement			-Dans récipient			

Annexe 2

Matériel utilisé au laboratoire (Verreries et appareillages) :

- Etuves microbiologiques ;
- Autoclave ;
- Bec benzène ;
- Bain marie ;
- Microscope optique ;
- Anse de platine ;
- Pinces ;
- Densitomètre ;
- Portoirs ;
- Agitateur pour tube ;
- Pipettes pasteur ;
- Boîte de pétri ;
- Gants chirurgicaux ;
- Lames et lamelles ;
- Tubes stériles ;
- Eau physiologique stérile ;
- Papier absorbant ;
- Feutre.

Annexe 3

Milieux, Réactifs et solutions :

➤ **Gélose nutritif :**

Composition (gramme / litre d'eau distillée) :

- ✓ extrait de viande 1,0g/L
- ✓ extrait de levure 2.5g/L
- ✓ peptone 5,0g/L
- ✓ chlorure de sodium 5,0g/L
- ✓ Agar 15,0g/L
- ✓ pH = 7,0

➤ **Gélose au sang :**

Composition (gramme / litre d'eau distillée) :

- ✓ Extrait de viande de boeuf 10,0
- ✓ Peptone 10,0
- ✓ Chlorure de sodium 5,0
- ✓ Agar 15,0
- ✓ H₂O 1000ml
- ✓ pH 7,3 ±0,2

➤ **Gélose Mac-Conkey :**

Composition (gramme / litre d'eau distillée) :

- ✓ peptone 20,0 g
- ✓ lactose 10,0 g
- ✓ sel biliaires n°3 1,5 g
- ✓ cristal violet 0,001 g
- ✓ rouge neutre 0,05 g
- ✓ chlorure de sodium 5,0 g
- ✓ Agar 15,0 g

➤ **Gélose de Mueller Hinton**

Composition (gramme / litre d'eau distillée) :

- ✓ Composition : (gramme / litre d'eau distillée)
- ✓ Infusion de viande de boeuf 300,0
- ✓ Hydrolysate de caséine 17,5
- ✓ Amidon 1,5
- ✓ Agar 7,0
- ✓ pH 7,3 ±0,1

➤ **Bouillon nutritif (bouillon trypticase soja) ;**

Composition (gramme/litre d'eau distillée) :

- ✓ Peptone de caséine (bovin) 17 g
- ✓ Peptone de soja 3 g
- ✓ Chlorure de sodium 5 g
- ✓ Phosphate 2,5 g
- ✓ Glucose 2,5 g
- ✓ Eau purifiée 1 L

- Réactif de l'oxydase ;
- L'eau oxygénée H₂O₂ ;
- Violet de gentiane phéniqué ;
- Réactif de Fuschine ;
- Réactif de Lugol (réactif iodo-ioduré) ;
- Alcool à 70 ° ;
- Glycérol;
- Disques antibiotiques pré-imprégnés ;
- L'eau physiologique stérile ;
- Réactif TDA ;
- Réactif ONPG ;
- Réactif VPI ;
- Réactif VP II ;
- Réactif de JAMES ;
- Huile de vaseline stérile ;
- Poudre de zinc ;
- Galerie API 20^E (Bio Mérieux) ;
- Souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 ;
- Milieux de conservation.