



Université Saâd DAHLEB, BLIDA
Faculté des Sciences Agro - Vétérinaires et Biologiques
Département des Sciences Vétérinaires



Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention de :

Diplôme de Docteur Vétérinaire

*CONTRIBUTION A L'ETUDE DES ECHECS
THERAPEUTIQUES LORS DES MAMMITES CLINIQUES
BOVINES D'ORIGINE BACTERIENNE DANS LA
REGION DU CENTRE*

Présenté par :

AMARA Smail & MSELA Amine

Membres du Jury :

Président : Dr MENOUIRI N.

M.A.A.

Examineur : Dr RAHAL K.

Professeur

Examineur : Dr BAAZIZ DJ.

M.A.A.

Promoteur : Dr AIT BELKACEM. A

M.A.A.

Co - Promotrice : Dr KECHIH.

Chef service au L.R.D.B.K

Remerciements :

Nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage de pouvoir terminer ce modeste travail.

On ne saurait remercier assez le **Dr AIT BELKACEM**, notre promoteur, pour nous avoir, proposé ce sujet et dirigé nos travaux, pour les conseils qu'il nous a prodigués et enfin pour ses encouragements.

Il nous a fait un privilège et un grand honneur en nous confiant ce travail.

Nous avons été très impressionnés par sa simplicité, sa modestie et son humanisme.

En témoignage de notre profonde reconnaissance.

A Madame **Dr. KECHIH**, notre Co-promotrice pour nous avoir si bien encadré au cours de notre étude.

A Monsieur **MENOUIRI N**, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury.

Hommage respectueux.

A Monsieur **Dr. RAHAL K**, pour avoir bien voulu examiner notre travail.

A Madame **Dr. BAAZIZ DJ**, pour avoir bien voulu examiner notre travail.

Nous remercions particulièrement les **Dr : TARZAALI**, pour nous avoir fourni la documentation nécessaire à la réalisation de cet écrit.

Un grand merci aux personnels du Laboratoire Régional Vétérinaire de Draa Ben Khedda, wilaya de Tizi-ouzou.

Nos remerciements au **Dr : DJERBAL**, directeur du Laboratoire Régional Vétérinaire de Draa Ben Khedda wilaya de Tizi-Ouzou ; pour son accueil et pour avoir été disponible tout au long de la réalisation des analyses bactériologiques, au niveau du laboratoire.

Nous remercions **Dr BOUDAUD** et **Dr BELAHOUAL**, pour leurs précieuses aides et pour tous leurs conseils.

Nous remercions également tous les vétérinaires qui ont bien voulu répondre à notre questionnaire et pour leurs aides précieuses pour la réalisation des prélèvements nécessaires à la conduite de notre étude.

Et à tous ceux qu'on ne peut citer, mais qui se reconnaîtront ...

Et pour être sûr de n'oublier personne, que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué, par leurs conseils, leurs encouragements ou leur amitié, à l'aboutissement de ce modeste travail, trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance

Dédicaces

- A mes parents -

Pour avoir toujours cru en moi et m'avoir permis de réaliser ces longues études pour exercer le métier que j'avais choisi. Je ne vous le dirai jamais assez : merci pour tout!

- A mes frères et sœurs -

Younes, Abdelwahab, Hadjira et Aicha

Merci pour votre présence à mes cotés et me soutenir.

- A ma famille -

Mes grands parents, mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines

Je me sens si bien lorsque je vous retrouve.

- A mes amis -

BABILA, BABAY, HAMADA, STAKHTOU, SBA3, KAMAL, ZINOUE, WAHID,

Amine, Djaber, ZOLA, CHOUCHE, BABLBAL et ma préférée IMENE

Merci pour votre amitié, votre soutien, et tous les bons moments passés, présents et à venir.

Et à toi très chère je dédie ce travail et j'espère que tu te reconnaitras

A tous ceux que j'aurais oublié, que vous m'en excusiez...

* AMARA Smail *

Dédicaces

-A ma très chère tante défunte « Saida »-

Partie beaucoup trop tôt merci pour tes conseils, ta gentillesse, tous que tu m'as offert et que les mots ne peuvent exprimer

-A mes parents-

Pour m'avoir soutenue et encouragée toutes ces longues années afin de me permettre de réaliser un rêve d'enfance,
Pour avoir cru en moi et m'avoir appris à faire confiance...
Pour avoir supporté les moments difficiles, et ma mauvaise humeur de certains jours...

Et pour partager maintenant ce moment de bonheur,
Un seul merci même infini ne suffit pas, je vous dédie cette thèse,
Avec tout mon amour.

-A mon frère Mounir à mes sœurs, Lydia, Kenza et Amina-

Merci de m'avoir soutenue dans les moments difficiles.

-A mon grand-père et ma grand-mère-

En remerciement de vos encouragements et de votre présence rassurante

-A mes tantes, oncles, cousins et cousines-

Pour leurs encouragements et leur soutien dans les moments difficiles.

-A mes amis-

Ghiles, Mouh, Samir, Hamid, Nabil, Zinou, Wahid, Yacine, Hakim
Rabah, Mourad, Imene, Zola et Chouchou

Merci d'avoir toujours été là pour moi

A mon frère et mon binôme Smail, Nchallah notre amitié durera pour toujours

A tous ceux qui je n'ai pas cités leur nom et qui sont chers à mon cœur

*** MSELA Amine ***

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX.....	I
LISTE DES FIGURES.....	II
LISTE DES GRAPHES.....	III
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IV
RESUME (en français).....	VI
RESUME (en arabe).....	VII
RESUME (en anglais).....	VIII
INTRODUCTION	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : les mammites cliniques

I.1. Rappel Anatomo-histologique et physiologique de la mamelle	2
I.1.1. La mamelle.....	2
I.1.2. Anatomie de la mamelle.....	2
a- morphologie externe.....	2
b- morphologie interne.....	2
I.1.3. Histologie de la mamelle.....	3
a- Tissu tubulo-alvéolaire ou parenchyme sécrétoire.....	4
b- Le stroma.....	4
I.1.4. Physiologie de la lactation.....	4
I.2. Le tarissement.....	5
1.3. Mécanisme de défenses.....	6
1.3.1. Les défenses passives.....	6
1.3.2. Les défenses actives.....	6
I.4. Les mammites.....	6
I.5. Facteurs de risques	
I.5.1. Facteurs favorisants.....	6
I.5.2. Facteurs déterminants.....	7
I.6. Etiologies.....	7
I.6.1. Mammites cliniques.....	7
I.7. Classification des mammites cliniques.....	8

I.7.1. Classification en fonction des symptômes.....	8
➤ Mammites suraiguës.....	8
➤ Mammites aiguës.....	8
➤ Mammites subaiguës.....	9
➤ Mammites chroniques.....	9
1.7.2. Classification en fonction de l'agent causal.....	9
➤ Mammites d'environnement.....	9
➤ Mammites de tarissement.....	9
➤ Mammites de traite ou « Mammites contagieuses ».....	10
I.8. Pathogénie.....	10
I.9. Diagnostic et dépistage des mammites cliniques.....	11
➤ Diagnostic bactériologique du laboratoire.....	11
I.10. Tests de diagnostic rapides.....	12
• Speed® Mam Color.....	12
• LIMAST test.....	12
• HYMAST test.....	12
• PETRI-FILM.....	12

Chapitre II: Les antibiotiques et l'antibiorésistance

II.1. Les antibiotiques	
II.1.1. Rappel historique.....	13
II.1.2. Définition	14
II.1.3. Notions générales sur les antibiotiques	15
II.1.4. Classification des antibiotiques et leurs indications.....	17
II.1.5. Traitement des mammites cliniques	19
II.1.5.a. Choix de l'antibiotique	20
II.1.5.b. Voie d'administration	20
II.1.5.c. Causes possibles de l'échec thérapeutique	25
II.2. La résistance aux antibiotiques	26
II.2.1. Le phénotype de résistance	26
II.2.2. Rappels de terminologie.....	27
• Résistance naturelle	27
• Résistance acquise.....	27
II.2.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	27
II.2.3.a. Support génétique de la résistance	28
• Résistance par mutation chromosomique	28
• Résistance par acquisition de gènes	28
• Le phénotype de résistance	28

PARTIE EXPERIMENTALE

I.	Etude expérimentale.....	29
II.	Matériel et méthodes.....	29
	II.1. Prélèvement.....	29
	II.1.a. Matériels.....	29
	II.1.b. Techniques de prélèvement.....	30
III.	Laboratoire.....	31
	III.1. Méthode classique.....	31
	III.1.1. Matériel et réactifs utilisés.....	31
	III.1.2. Schémas d'identification des bactéries.....	31
	III.1.2.a. Staphylococcus aureus.....	32
	III.1.2.b. Streptocoques.....	32
	III.1.2.c. E. coli et les Pseudomonas.....	32
	III.2. La méthode rapide (SMC).....	33
	III.2.1. Principe du test.....	33
IV.	Résultats bactériologiques.....	34
	IV.I. Identification des bactéries.....	34
	IV.2. Antibiogramme.....	39
	a. E. coli.....	39
	b. Staphylocoque aureus.....	40
	c. Streptocoques.....	42
	Conclusion.....	43
V.	Le questionnaire.....	44
	Discussion.....	52
	Conclusion générale.....	54
	Recommandation.....	55
	Références bibliographiques	
	Annexe	

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1 : Caractéristiques générales des germes contagieux et des germes d'environnement

Tableau 2 : Date de découverte de quelques molécules antibiotiques

Tableau 3: Classification et propriétés antibactériennes des principales molécules antibiotiques

Tableau 4: Propriétés antibactériennes et indications principales des antibiotiques utilisés

Tableau 5 : Critères de choix d'un antibiotique

Tableau 6: Classification des principaux antibiotiques utilisés en pathologie mammaire

Tableau 7: Matériel et réactifs utilisés

Tableau 8 : Le pourcentage des prélèvements stériles dans différentes études

Tableau 09 : Comparaison des résultats bactériologiques obtenus par la méthode classique et celle dite SVMC

Tableau 10 : Comparaison des résultats bactériologiques révélés par les deux méthodes pour E. coli

Tableau 11 : Comparaison du profil de sensibilité aux antibiotiques révélés par les deux méthodes pour les Staphylocoques aureus.

Tableau 12 : Comparaison du profil de sensibilité aux antibiotiques révélés par les deux méthodes pour les Streptocoques

LISTE DES FIGURES

Figure I: Anatomie des quartiers

Figure II : Histologie de l'alvéole

Figure III: Système sécrétoire de la glande mammaire

Figure IV: -Physiologie de l'éjection du lait, L'effet de l'ocytocine

Figure V : Différents stades de l'inflammation

FigureVI: Techniques de prélèvement du lait

LISTE DES GRAPHERS

- Graphe 1 :** Isolement, 50 mammites cliniques
- Graphe I' :** Répartition des prélèvements à deux germes
- Graphe 2 :** Répartition des germes, 50 prélèvements, 45 germes
- Graphe 3:** les antibiogrammes des E. coli
- Graphe 4:** les antibiogrammes des Staphylocoques
- Graphe 5 :** les antibiogrammes des Streptocoques
- Graphe 6:** fréquence d'intervention en élevage laitier
- Graphe 7 :** Importance des mammites cliniques
- Graphe 8:** Critères du choix de l'antibiotique
- Graphe 9:** fréquences des échecs
- Graphe 10:** les intra-mammaires utilisés en cas de mammite clinique
- Graphe 11 :** les intra-mammaires utilisés en cas de mammites sub cliniques
- Graphe 12:** taux des intra-mammaires utilisé en lactation par rapport au tarissement
- Graphe 13:**pourcentage des éleveurs connaissant les mammites sub-cliniques
- Graphe 14:** comportement de l'éleveur quand le vétérinaire l'informe sur les mammites sub-cliniques
- Graphe 15:** pourcentage de réalisation du traitement intra-mammaire par l'éleveur
- Graphe 16 :** pourcentage des éleveurs qui poursuivent le traitement jusqu'au bout
- Graphe 17 :** pourcentage des vétérinaires qui font appel au laboratoire
- Graphe 18 :** les causes qui empêchent le vétérinaire de faire appel au laboratoire
- Graphe 19 :** pourcentage des vétérinaires qui connaissent les kits rapides d'antibiogramme
- Graphe 20 :** pourcentage des vétérinaires intéressés par les kits rapides d'antibiogramme
- Graphe 21 :** prix proposés par les vétérinaires

LISTE DES ABREVIATIONS

<i>A. pyogenes</i>	<i>Actinomyces pyogenes.</i>
A.D	Antérieur Droit.
A.G	Antérieur Gauche.
Ac	Anticorps.
Ac.	Acide Clavulanique.
ADC	Arginine Décarboxylase
ADN	Acide Désoxyribonucléique.
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
Ag	Antigène.
AM	Ampicilline
AMC	Amoxicilline + Acide clavulanique.
ARN	Acide Ribonucléique.
ATB	Antibiotique.
C	Chloramphenicol
CFL	Céfalexine.
CFP	Céfopérazone.
CFQ	Céfquinome.
CLO	Cloxacilline.
CMB	Concentration Minimal Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice.
COL	Colistine.
CS	Colistine
CXT	Cefotaxime
DNX	Danofloxacin.
E	Erythromycine
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli.</i>
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay.
ENB	Entérobactéries.
ENR	Enrofloxacin
G-	Gram négatif.
G+	Gram positif.
GEN	Gentamycine.
GM	Gentamycine
IgA	Immunoglobuline A.
IgG	Immunoglobuline G.
IgM	Immunoglobuline M.
IL	Incubation Limite.
LDC	Lysine Décarboxylase
LIST	Listéria.
LPS	LipoPolySaccharide.
MYC	Mycoplasme.
N	Néomycine
ODC	Ornithine Décarboxylase
OX	Oxacilline
PCR	Polymérase Chaîne Réaction.
Peni G	Penicilline G

PNN	PolyNucléaire Neutrophiles.
PSE	<i>Pseud Pseudomonas.</i>
R	Résistant
RESABO	Réseau de surveillance de la résistance aux antibiotiques chez les bovins.
RM	Rouge de Méthyl
S	Sensible
S. =	<i>Staph Staphylococcus.</i>
SCN	Staphylocoques Coagulase Négative.
SCP	Staphylocoques Coagulase Positive.
SDM / TMP = ST	Sulfadimidine + Triméthoprime.
SMC	Speed® Mam Color.
SP	Spiramycine
SPI	Spiramycine.
<i>Str. = Strep = STRE</i>	<i>Streptococcus.</i>
Supp. <i>Staph</i>	Supplément Staphylocoques.
SXT	Trymitoprime/Sulfathoxacyl
TE	Tetracycline
TET/NÉO/BAC	Tétracycline + Néomycine + Bacitracine.
TSI	Tri-Sugar-Agar
TYL	Tylosine.
UB	Flumequine
VA	Vancomycine
VP	Voges Proskrover
XNL	Ceftiofure
β-lacatmines (ase)	Bétalactamines (ase).

Résumé :

L'étude réalisée porte sur les échecs thérapeutiques dans le traitement des mammites cliniques bovines d'origine bactérienne.

L'expérimentation a duré 6 mois menée dans le Laboratoire Régional Vétérinaire de Draa-Ben-Khedda, à partir de l'étude bactériologique de 50 échantillons de lait issus de vaches atteintes de mammites cliniques provenant de différentes régions de Tizi-Ouzou et de Bouira.

L'identification des germes et leur profil de sensibilité aux antibiotiques, a été effectuée à l'aide de deux méthodes: la méthode classique de laboratoire et par un test rapide (Speed®Mam Color).

20% des prélèvements se sont révélés stériles, 66% représentent une seule espèce, 12% une association de deux germes et 2% des prélèvements contaminés.

Les 40 prélèvements non stériles ont permis d'isoler 48 germes, nous avons constaté une prédominance des *Staphylocoques aureus* avec une fréquence de 37,77%, les *E. coli* représentent 35,55% et les *Streptocoques* non groupables 20%.

L'antibiogramme a révélé que 83,58% des antibiotiques testés étaient actifs sur les *E. Coli*, 73,68% sur les *Staphylocoques* et 78,26% sur les *Streptocoques* ce qui nous permet de dire que l'antibiorésistance ne peut pas à elle seule expliquer le taux élevé des échecs thérapeutiques constatés par les vétérinaires questionnés (95%).

76% des vétérinaires ne font pas appel au laboratoire, d'où un défaut de choix des molécules, 60% des traitements sont réalisés par les éleveurs, ce qui implique le non respect de la règle de l'antibiothérapie, ajouté au problème de la biodisponibilité, tout cela pourrait expliquer ce taux élevé des échecs thérapeutiques.

La fiabilité des kits a été constaté à travers un taux important de concordance entre les deux tests (66,66%) pour les bactéries isolées et un grand taux de spécificité (88,88%) pour les *Staphylocoques* et (81,81%) pour les *Streptocoques*, ainsi qu'un taux important de concordance entre les deux tests pour les antibiogrammes, Amoxicilline (100%), Spiramycine (88,88%).

Ce qui nous permet de conclure que la fiabilité et le prix du kit rapide représentent une sérieuse perspective pour le choix de l'antibiotique.

Mots clés :

Mammite clinique, vache laitière, antibiotique, antibiogramme, échec thérapeutique.

SUMMARY:

The study focuses on treatment failures in the treatment of bovine clinical mastitis caused by bacteria.

The experiment lasted six months conducted in the Regional Veterinary Laboratory in Draa Ben Khedda, from the bacteriological study of 50 samples of milk from cows with clinical mastitis from different regions of Tizi-Ouzou and Bouira .

The identification of the bacteria and their antibiotic susceptibility profile was carried out by using two methods: the conventional laboratory and the rapid test (Speed® Mam Color) method.

20% of samples were found sterile, 66% represent a single species, 12% a combination of two bacteria and 2% of infected samples.

The 40 non-sterile samples were used to isolate 48 seeds; we found a predominance of *Staphylococcus aureus* with a frequency of 37.77%, *E. coli* represent 35.55% and *Streptococcus* non grouped ones 20%.

The antibiogram revealed that 83.58% of the antibiotics tested were active on *E. coli*, the *staphylococci* 73.68% and 78.26% on *Streptococci*, which allows us to say that antibiotic resistance can not alone explain the high rate of treatment failures detected by veterinarians questioned (95%).

76% of veterinarians do not use the lab, which implies a lack of choice of molecules, 60% of treatments are carried out by farmers, that implies disrespect of the antibiotics rule, added to the problem of bioavailability, all this might explain this high rate of treatment failure.

The reliability of the kits was found through a high rate of concordance between both tests (66.66%) for bacteria isolated and a high rate of specificity (88.88%), for *Staphylococcus* (81.81%) for *Streptococcus*, and a high rate of concordance between the two tests for susceptibility, amoxicillin (100%) and Spiramycin (88.88%).

This allows us to conclude that the reliability and the price of the kit are a serious prospect fast for the selection of the antibiotic.

Keywords:

Clinical mastitis, dairy cow, antibiotic, antimicrobial, treatment failure.

ملخص:

تتناول الدراسة المنجزة عوامل فشل علاج التهاب الضرع السريري للأبقار التي تسببها البكتيريا.

التجارب استمرت ستة أشهر و أجريت في المخبر البيطري الجهوي بذراع بن خدة، اعتمادا على الدراسة الجرثومية لـ 50 عينة من حليب الأبقار المصابة بالتهاب الضرع السريري من مناطق مختلفة لكل من تيزي وزو والبويرة .

تم تعريف البكتيريا وملامح حساسيتها للمضادات الحيوية باستخدام طريقتين : الطريقة الكلاسيكية للمخبر التقليدية وطريقة الاختبار السريع (Speed ® mam color).

تبين أن 20 ٪ من العينات عقيمة ، 66 ٪ منها تمثل نوعا واحدا ، و 12 ٪ مزيج من اثنين من البكتيريا و 2 ٪ من العينات ملوثة.

سمحت العينات الأربعين (40) غير العقيمة بعزل 48 بكتيريا، ولاحظنا غالبية من المكورات العنقودية الذهبية (Aureus Staphylocoques) مع تواتر 37.77 ٪ ، " الإشريكية كولي" تمثل 35.55 ٪ و"الستريبتوكوك" غير المصنفة 20 ٪ .

والانتيبيوغرام (Antibiogram) كشفت أن 83.58 ٪ من المضادات الحيوية كانت ناشطة على "الإشريشيا كولي" ، و73.68 ٪ على "الستافيلوكوك" و 78.26 ٪ على "الستربتوكوك" الشيء يسمح لنا ان نقول ان المقاومة للمضادات الحيوية لا يمكن لوحدها أن نفسر المستوى المرتفع من فشل العلاج الملاحظ من طرف الأطباء البيطريين المستجوبين (95 ٪).

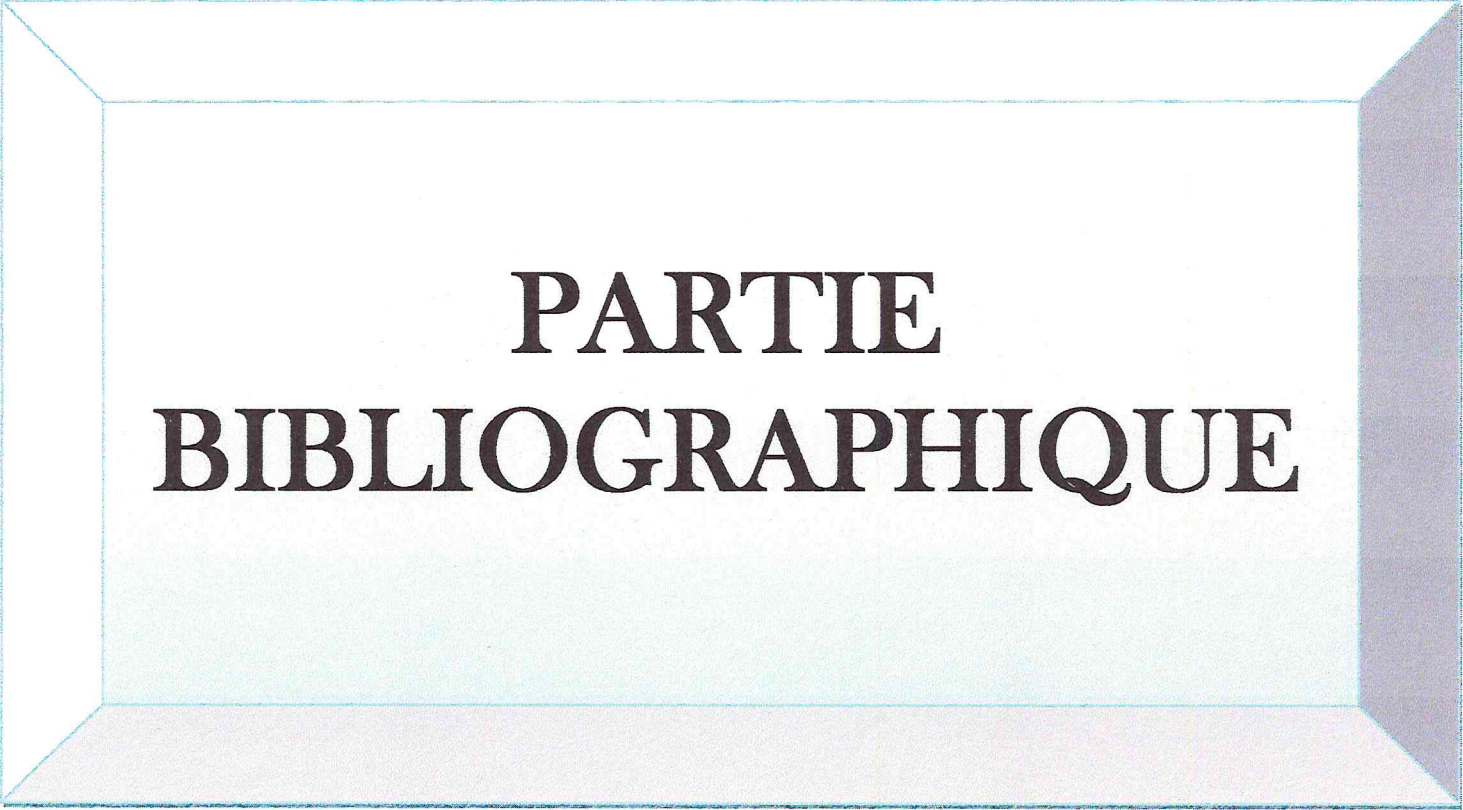
و76 ٪ من الأطباء البيطريين لا يلجئون للمخابر، وينتج عن ذلك خطأ في اختيار المضادات الحيوية ، 60 ٪ من العلاج يقوم به المربون ، وهذا يعني عدم احترام قاعدة العلاج بالمضادات الحيوية ، إضافة إلى مشكلة توفر المضادات ، كل هذا قد يفسر هذه النسبة المرتفعة من فشل العلاج.

تمت معاينة نجاعة هذا "الكيت" من خلال ارتفاع معدل التوافق بين الاختبارين (66.66 ٪) للبكتيريا المعزولة ونسبة عالية من الدقة (88.88 ٪) "الستافيلوكوك" و (81.81 ٪) "الستربتوكوك" ، ونسبة عالية من التوافق بين الاختبارين للحساسية للمضادات الحيوية، " أموكسيسيلين" (100 ٪) ، (88.88 ٪) "السيبراميسين".

وهذا يسمح لنا أن نستنتج بأن نجاعة وسعر هذا "الكيت" ينبئان بمستقبل زاهر لاختيار المضاد الحيوي.

كلمات البحث :

التهاب الضرع السريري ، بقرة حلوب ، مضادات الجراثيم ، الانتيبيوغرام ، فشل العلاج.



**PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE**

Chapitre I:
Les mammites cliniques

INTRODUCTION :

Le cheptel bovin algérien est constitué de 1 650 000 têtes dont 56% sont représentées par des vaches laitières (**GHOURI, 2005**). La relance des importations de ces dernières n'a pas pour autant amélioré la production laitière nationale et nos éleveurs ont des difficultés à valoriser les animaux importés avec les ressources alimentaires dont ils disposent et les pathologies rencontrées (**BRUNSCHWIG, 2004**)

De part sa large consommation, le lait bénéficie actuellement du soutien de l'état. L'Algérie est considérée comme étant le premier consommateur laitier du Maghreb, et le second pays dans le monde importateur de lait (**BENELKADI, 2005**) : un algérien consomme trois à quatre fois plus de lait qu'un autre maghrébin soit 100 à 110 litres de lait par an, ce qui correspond à la moyenne nutritionnelle recommandée par l'OMS, qui est de 90 litres par habitant et par an [**SOUKEHAL, 2004**].

Parmi les pathologies dominantes auxquelles sont confrontées nos vaches laitières, la mammite, se trouve toujours parmi le « Top 3 » des maladies les plus coûteuses des entreprises laitières du monde entier (**DESCOTEAUX, 2004**).

Les mammites représentent la principale cause d'utilisation des antibiotiques tant à des fins curatives (traitements des mammites en lactation et au tarissement) que préventives (traitement au tarissement) (**GEDILAGHINE, 2005**), une étude américaine estime que le coût total d'une mammite clinique est de 100 à 120 Euros par cas (**CHASTANT et al. 2002**).

L'objectif de cette présente étude est l'identification des germes responsable de mammites cliniques et la détermination de la résistance de ces bactéries aux antibiotiques, par deux méthodes (la méthode classique et les kits rapide de réalisation d'antibiogramme), puis effectué une comparaison entre ces méthodes.

I.1. Rappels anatomo-histologiques et physiologiques de la mamelle :**I.1.1. La mamelle :**

La mamelle synthétise du lait au détriment même des réserves corporelles et son travail s'impose et inhibe la fonction de la reproduction qui lui serait concomitante. (FOURAR *et al*, 2007)

La part allouée à la mamelle et à la fonction qu'elle assure dans la continuité de la reproduction de l'espèce impliquée est si importante que son fonctionnement prend le pas sur les autres aspects de la physiologie de l'animal (BEROUAL, 2003).

En effet, la fonction de la mamelle se caractérise par la production successive de deux sécrétions différentes : le colostrum et le lait, indispensables à la survie de la descendance des espèces.

I.1.2. Anatomie :**a- Morphologie externe :**

La vache possède deux paires de mamelles inguinales, les deux quartiers antérieurs et les deux quartiers postérieurs. Chaque mamelle se prolonge par un trayon au sommet duquel s'ouvre le canal du trayon (HOLLMANN, 1974). Les mamelles sont réunies extérieurement par une masse hémisphérique appelée le pis (HANZEN, 2000) Généralement, les dimensions et le poids des mamelles varient suivant la race, l'âge, des individus et l'état fonctionnel (BARONE, 1990).

Chaque mamelle se prolonge par un unique trayon (papillammae) nommé également mamelon ou tétine, cet appendice de forme cylindrique ou conique est nettement élargi à sa base chez certains sujets, au sommet duquel s'ouvre le canal du trayon par un seul orifice, l'ostium papillaire qui est punctiforme au repos mais aisément dilatable (HOLLMANN, 1974).

b- Morphologie interne :

L'extrémité libre du trayon est percée au centre par le « méat du trayon » qui est fermé par un sphincter. En allant vers les alvéoles, se trouve un repli muqueux « la resette de Furstenberg » qui constitue en cas d'infection mammaire le principal point de passage des leucocytes du sang vers le lait (DOSOGNE *et al*, 2001) et se constitue par un court conduit papillaire « le canal du trayon ». On notera la présence de l'anneau veineux de Furstenberg qui est un repli annulaire séparant le sinus mammaire (sinus glandulaire) et le sinus du trayon

qui seront à leur tour réunis dans le sinus lactifère en un seul et unique. De là commence l'arborisation de 5 à 8 canaux galactophores ; canaux intra-lobulaires puis intra-lobaires. Chaque lobule est constitué par des acini, donc l'acinus est l'unité essentielle du tissu glandulaire de la mamelle (DRION *et al*, 1998 ; SOLTNER, 2001).

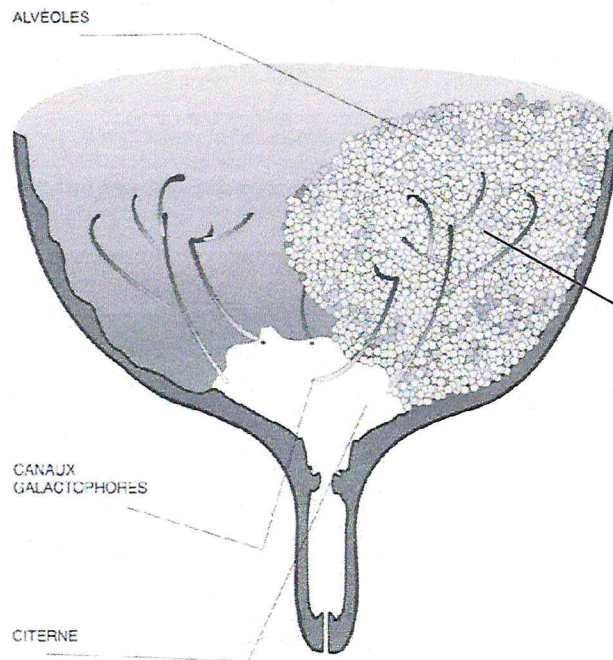


Figure I : Anatomie des quartiers

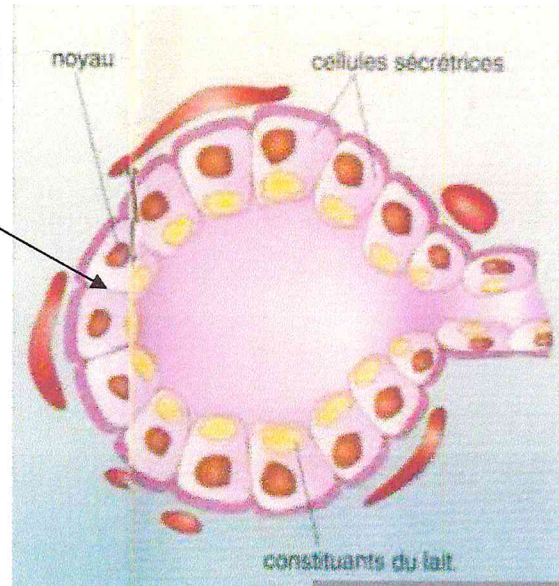


Figure II : Histologie de l'alvéole

<http://lycees.ac-rouen.fr/francoisdes/pedagogie/lait/mamelle.jpg>

I.1.3. Histologie de la mamelle :

La glande mammaire est un organe qui apparaît et disparaît de façon cyclique avant et après la lactation. Cette glande exocrine, tubulo-alvéolaire est constituée de deux types de tissus :

I.1.3.a. Le tissu tubulo-alvéolaire ou parenchyme sécrétoire :

Il est formé de canalicules ou galactophores qui drainent les alvéoles, appelés aussi acini, de 100 à 300 microns de diamètre, représentent l'unité sécrétoire de la glande mammaire. Ils sont regroupés en lobules, eux-mêmes rassemblés en lobes. Le fonctionnement mammaire est commandé par des mécanismes hormonaux (DERIVAUX, ECRORS, 1980)

Le canal galactophore présente une dilatation appelée : sinus galactophore ou citerne qui est séparée du canal du trayon par l'intermédiaire de la Rosette de Fürstenberg (anneau tissulaire renfermant des lymphocytes, impliqué dans les premières étapes de la réponse immunitaire : reconnaissance de germes) et se continue par le canal du trayon qui constitue la première ligne de défense contre les infections mammaires. [HANZEN, 1999].

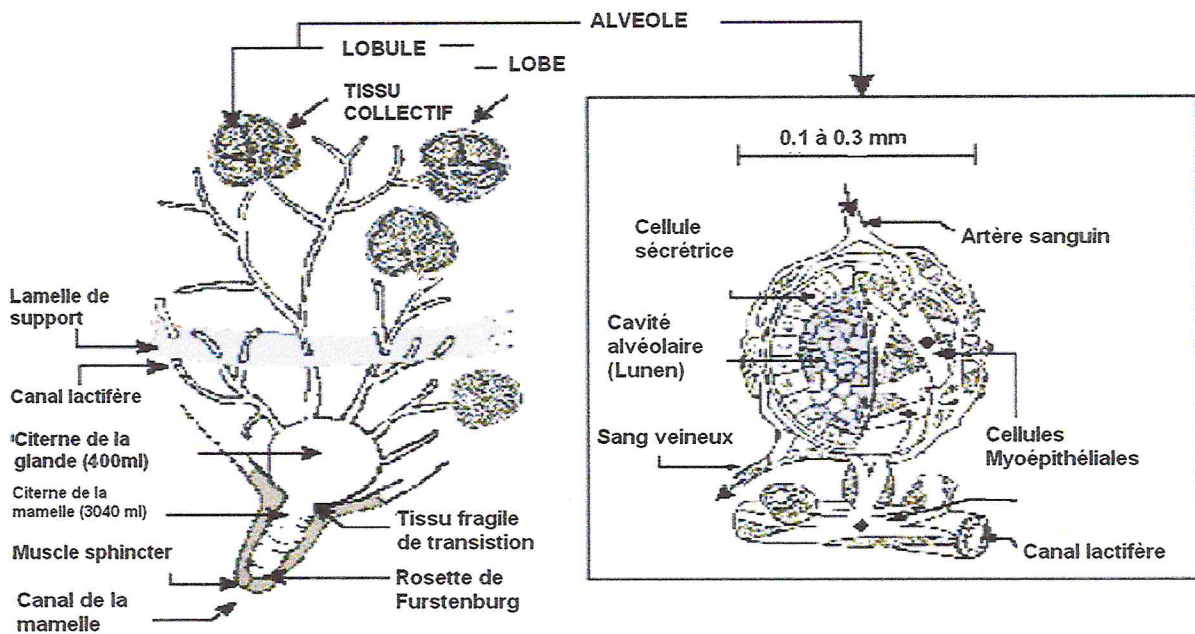


Figure III: Système sécrétoire de la glande mammaire (WATTIAUX, 1999)

I.1.3.b. Le stroma:

Il est formé de tissu conjonctif et de tissu adipeux. Il s’insinue entre les parties sécrétoires et constitue la majorité des tissus des glandes non sécrétrices tandis que chez les femelles en lactation, il se réduit au profit du parenchyme sécrétoire. (GHOURI, 2005)

I.1.4. Physiologie de la lactation :

➤ **Galactopoïèse :**

L’excitation extérieure du mamelon par succion ou par traite est transmise par voie nerveuse au niveau de la région hypothalamo-hypophysaire qui y répond par voie humorale en sécrétant la prolactine, l’ACTH et l’ocytocine qui sont déversés dans le milieu intérieur d’où elles agiront sur la glande mammaire.

L’ocytocine, déversée dans le sang, agit au niveau des cellules myoépithéliales des acini qui, en se contractant, poussent le lait dans les canaux galactophores (DERIVAUX, ECROR, 1980).

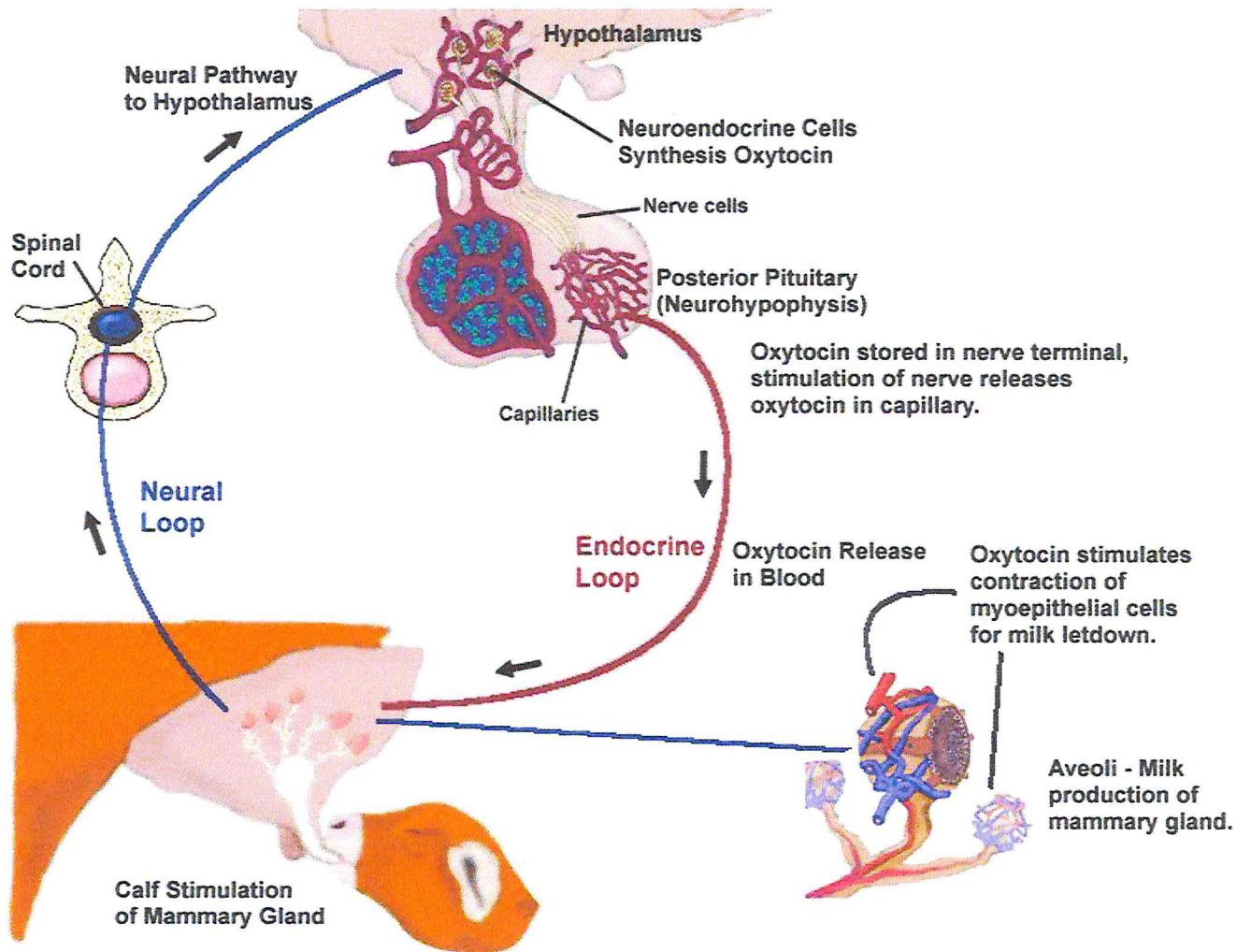


Figure IV:
 -Physiologie de l'éjection du lait-
 L'effet de l'ocytocine (BOUDRY, 2005)

I.2. LE TARISSEMENT

➤ Fin de lactation

Le tarissement se définit comme une phase physiologique transitoire en fin de lactation; le tarissement se produit par diminution des réflexes de stimulation, donc par chute des influences hormonales (SERIEYS, 1997)

I.3. Mécanismes de défenses :

On peut classer les défenses de la mamelle en deux grands types de mécanismes

I.3.1 Les défenses passives :

Ce sont des mécanismes dont la fonction principale n'est pas une fonction de défense.

Ils siègent essentiellement au niveau du canal du trayon (**LEBRET, BERTHELOT ET PETIT, 1990**).

I.3.2. Les défenses actives :

Ces mécanismes sont essentiellement ceux qui sont mis en jeu une fois que l'agent infectieux a dépassé le canal du trayon (**LEBRET, BERTHELOT ET PETIT, 1990**).

Plusieurs protéines du lait sont douées d'activités antibactériennes non spécifiques dont le lysozyme, la lactoferrine, le système lactoperoxydase / thiocyanate / peroxyde d'hydrogène, Le système du complément, Les anticorps, etc.....

I.4. Les mammites**➤ Définition d'une mammite**

Une mammite désigne, une inflammation d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle due généralement à une infection bactérienne. Les infections mammaires peuvent être ou non associées à des signes cliniques, on distingue alors les mammites cliniques des mammites sub-cliniques [**POUTREL, 1985**].

I.5. Facteurs de risques :**I.5.1. Facteurs favorisants :**

a- Facteurs liés à l'animal : l'hérédité, l'anatomie, la production laitière, l'âge et le rang de lactation, le stade de lactation, la traite, les lésions de la mamelle et du trayon

b- Facteurs liés à l'élevage : le logement, le vacher, l'alimentation

I.5.2. Facteurs déterminants :

➤ Les germes :

Tableau 1 : Caractéristiques générales des germes contagieux et des germes d'environnement (HANZEN, LOUP CASTEIGNE., 2002).

Caractéristiques	Germes contagieux	Germes d'environnement
Germes principaux	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>staphylococcus aureus</i>	Coliformes <i>Streptococcus uberis</i>
Source principale	Pis de vache infecté	Environnement
Nombre des vaches atteintes	Elevé	Faible
Durée de l'infection	Longue	Courte
Type de mammite	Sub clinique/chronique	Clinique
Sévérité de la mammite	Moyenne	Forte
Période à risque	Toute la lactation	Avant ou après le vêlage
Perte économique	Diminution de la production	Traitement, mortalité
Prévention	Hygiène de la traite Traitement au tarissement	Amélioration de l'hygiène de l'environnement

I.6. ETIOLOGIE :

De très nombreux micro-organismes sont susceptibles de franchir la barrière constituée par le canal du trayon et de se multiplier dans la mamelle. Bactéries, virus (leucose, fièvre aphteuse), levures et algues peuvent être la cause d'infections mammaires et de mammites.

Cependant, ce sont les bactéries qui sont responsables de la très grande majorité des mammites dans environ 90% des cas (BERTHELOT et BERGONIER, 1993).

1.6.1. Mammites cliniques:

Parmi les différents germes incriminés ; nous distinguons :

_ *Staphylococcus aureus* : c'est un germe qui entraîne un taux d'infection clinique faible, il peut également, dans certains cas, provoquer des mammites cliniques dont certaines avec des symptômes aigus et très graves (mammite gangreneuse) (HANZEN et PULVINAGE, 2008).

_ *Streptococcus uberis* : c'est un germe saprophyte du milieu extérieur, donc il cause des mammites cliniques à (20 à 30%), qui se déclenchant surtout pendant la période du tarissement et au cours des premières semaines de la lactation et il est souvent associé aux infections causées par : *E. coli*.

_ Entérobactériacées : ce groupe rassemble les **Gram(-)** du tube digestif principalement des Coliformes : *E. coli*, qui est responsable de mammites cliniques au début et en fin du tarissement (**HANZEN et PULVINAGE, 2008**).

_ *Mycoplasma bovis* : cet agent cause fréquemment des mammites cliniques récidives et les vaches peuvent être des porteuses asymptomatiques de l'infection (**DESCOTEAUX, 2004**).

I.7. Classification des mammites cliniques :

I.7.b. Classification en fonction des symptômes :

Elle se traduit par une inflammation, visible à l'œil nu, de la glande mammaire :

- **Signes fonctionnels** : la perturbation des fonctions sécrétoires entraîne une modification de la quantité et de l'aspect du lait (caillots, présence du sang).
- **Signes locaux** : le quartier atteint devient : chaud, rouge, douloureux et tuméfié (Signes cardinaux de l'inflammation).
- **Signes généraux** : ils sont liés à la libération de toxines. On peut observer de l'hyperthermie, de l'abattement, une chute d'appétit, une arumination, de la déshydratation et parfois une paraplégie (**HANZEN et PULVINAGE, 2008**).

➤ Mammites suraiguës :

C'est une inflammation très brutale de la mamelle apparaissant habituellement dans les jours suivant le vêlage.

L'état général de l'animal est souvent très affecté et nous pouvons noter de la fièvre et un abattement profond. La mamelle est extrêmement congestionnée, douloureuse, chaude et volumineuse. La sécrétion lactée est soit interrompue, soit très modifiée et présente alors un aspect séreux, aqueux ou hémorragique (**RADOSTITS et al, 1997**). Elle est rare mais souvent mortelle (**VESTWEBER & LEIPOLD HW, 1993**). Ce type de mammite se caractérise par une très grande rapidité d'apparition et d'évolution

➤ Mammites aiguës :

C'est une inflammation brutale de la mamelle ne s'accompagnant pas d'effets généraux. Les symptômes restent localisés au niveau de la mamelle qui apparaît rouge, gonflée, douloureuse et chaude. La sécrétion lactée présente un aspect crémeux, de couleur bleue verdâtre et d'odeur nauséabonde. Le quartier atteint est le siège d'une inflammation

intense et l'état général de l'animal peut être gravement affecté (VESTWEBER & LEIPOLD HW, 1993).

La production laitière est modifiée en qualité et en quantité. Cette mammite évolue moins rapidement, parfois pendant quelques semaines, mais peut dans certains cas, conduire à la mort de l'animal. Elle survient à tous les stades de la lactation et est déclenchée par différentes bactéries.

➤ **Mammites subaiguës :**

C'est une inflammation bénigne de la mamelle qui ne se manifeste que par des altérations de la sécrétion. Elle est caractérisée par la présence de flocons et de grumeaux dans le lait des premiers jets. Le produit de sécrétion apparaît plus ou moins visqueux, traversant difficilement le filtre à lait (WEISEN J. P, 1974 ; POUTREL B, 1985).

➤ **Mammites chroniques :**

C'est une inflammation modérée mais persistance de la mamelle, évoluant lentement sur plusieurs mois, voire plusieurs années, parfois durant la vie entière de l'animal. Elle fait habituellement suite à une mammite aiguë ou suraiguë. L'état général de l'animal n'est pas affecté. Les signes locaux sont extrêmement discrets et se traduisent par la présence, dans le parenchyme mammaire, de zones fibrosées de taille et de localisation variables, palpables après la traite. Le lait présente des grumeaux dans les premiers jets. Puis, la sécrétion diminue, le quartier s'indure et finit par se tarir complètement et s'atrophier. (VESTWEBER & LEIPOLD HW, 1993).

I.7.b. Classification en fonction de l'agent causal

Selon la nouvelle nomenclature de classification des mammites ; nous distinguons :

Les mammites d'environnement, les mammites de tarissement et les mammites de traite.

➤ **Mammites d'environnement :**

Les Principaux germes responsables sont : *Streptocoques agalactiae*, *streptococcus uberis*, *streptococcus dysgalactiae*, *streptococcus equinus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ; Bactéries Gram(-) dont : *Escherichia Coli*, *Klebseilla*. *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Proteus spp* et *Citrobacter spp*. et d'autres germes d'environnement: *Actinomyces pyogènes*, *Bacillus spp*, les champignons et les levures (HANZEN, 2005).

➤ **Mammites de tarissement :**

Streptococcus uberis et *Streptococcus dysgalactiae* sont aussi responsables de nombreuses mammites qui se produisent en début et en fin de la période de tarissement. (HANZEN, 2005).

➤ **Mammites de traite ou « mammites contagieuses » :**

Sont imputables le plus souvent à *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae* et plus occasionnellement *Corynebacterium bovis* et aux Mycoplasmes. L'infection est sub-clinique. Les manifestations cliniques sont le plus souvent imputables à une infection par les Mycoplasmes ou par *Staphylococcus aureus* (HANZEN, 2005).

I.8. PATHOGÉNIE :

La colonisation de la mamelle par voie endogène est exceptionnelle, donc la voie diathélique était la principale voie de contamination, elle se fait par capillarité par l'intermédiaire du canal du trayon, principalement dans les 20 minutes qui suivent la traite (ALEXANDRE, 2005).

Le lait mammiteux constitue un meilleur milieu de culture que le lait sain, tout au moins pour les germes responsables de mammites (HANZEN, 2000).

L'apparition de la mammite est plus complexe trois stades sont distingués : invasion, infection puis inflammation.

➤ **Stade d'invasion :**

L'infection de la glande mammaire se produit toujours par le canal du trayon, sauf dans le cas de la tuberculose dans laquelle la voie de pénétration peut être hématogène, (BLOOD et HENDERSON, 1976).

➤ **Stade d'infection :**

Les germes se multiplient rapidement et envahissent le tissu glandulaire, une population bactérienne s'installe alors dans le canal du trayon, puis la multiplication et l'extension au tissu mammaire peut se produire fréquemment ou épisodiquement selon la sensibilité de ce tissu (CULLEN, 1966).

➤ **Stade d'inflammation :**

Dans ce cas la mammite clinique se manifeste et/ou la numération leucocytaire du lait est élevée (CULLEN, 1966).

En général, la présence d'un germe constitue un obstacle au développement des autres germes. C'est la raison pour laquelle dans une exploitation, la flore se limite habituellement à une, voire deux espèces pathogènes (HANZEN, 1999).

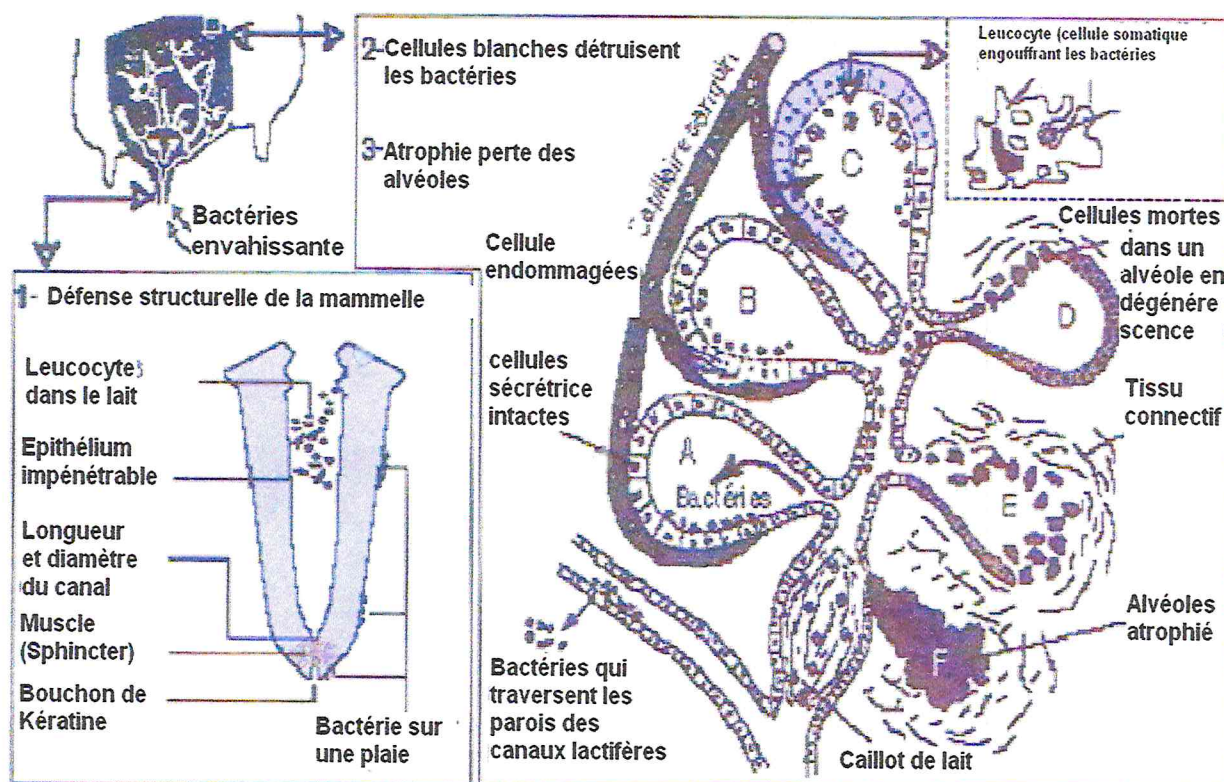


Figure V : Différents stades de l'inflammation (WATTIAUX, 1999)

I.9. DIAGNOSTIC ET DÉPISTAGE DES MAMMITES CLINIQUES :

➤ Diagnostic bactériologique du laboratoire :

Considéré comme un examen complémentaire dans la démarche diagnostic (FAROULT et LE PAGE, 2006). Consiste à mettre en évidence et à identifier des bactéries pathogènes dans le lait des quartiers infectés, cette méthodologie s'avère très nettement inadaptée à une utilisation à grande échelle (MARTEL, 1991) et ne peut pas être systématique, pour des raisons de coût et de délai d'obtention des résultats (BERTHELOT et BERGONIER, 2001).

Plusieurs méthodes permettent de déterminer le type d'agent pathogène qui cause les mammites. Ce sont : la culture bactériologique standard du lait, la Polymérase Chaîne Réaction (PCR), les plaques Pétrifilm™ ainsi que les Biplates et Triplates (JODI, 2007).

I.10. Tests de diagnostics rapides :

- **Speed® Mam Color :**

Il s'agit d'une galerie de micro-puits permettant l'exteriorisation de certaines propriétés des germes fréquemment rencontrés, plus quelques pathogènes sinon plus rares, du moins plus exigeants. En outre, une série de puits est additionnée avec différents antibiotiques. Le test devrait donc permettre l'évaluation de l'activité de 14 molécules.

- **LIMAST TEST:**

Le test commercialisé dans les pays scandinaves, sous le nom LIMAST® (Mybac-Vettech AB, Stockholm, Suède) un test réalisable « au pis » de la vache pour le diagnostic des mammites à Coliformes.

- **HYMAST TEST :**

Le HYMAST test aux Etats-Unis, appelé HY MASTITIS test en Israël, comporte 4 milieux sélectifs utilisables par 2, chaque milieu étant présent d'un côté d'un bilame en plastique que l'on immerge dans le lait, la croissance bactérienne visible sur l'un ou l'autre côté est associée à un changement de couleur du milieu.

- **PETRI-FILM**

Sont des milieux de cultures sélectifs, intéressantes pour la numération des *S. aureus* et des Coliformes (*E. coli*, *klebsiella*). Les résultats sont disponibles dans les 22 à 24 heures suivantes. Les études ont démontré une sensibilité comparable ou meilleure à la culture standard du lait pour la détection de *S. aureus* et des Coliformes (JODI, 2007).

Chapitre II:
Les antibiotiques et l'antibiorésistance

La découverte de l'antibiotique a doté le praticien d'une arme efficace contre les microbes, poussés par le succès que les antibiotiques ont eu en médecine humaine, ils ont été introduits en médecine vétérinaire et même en agriculture.

Avec l'émergence de l'antibiorésistance, les praticiens se rendent compte que les microbes tentent peu à peu de nous désarmer, par peur de voir les antibiotiques un jour inefficaces, les praticiens tentent de mettre une antibiothérapie raisonnée mais est-ce trop tard? Peut-on ralentir cette utilisation excessive d'antibiotiques et éliminer ce phénomène de résistance !!! Des questions auxquelles seul l'avenir va nous apporter des réponses.

Dans ce chapitre, après un bref rappel historique, nous allons parler des antibiotiques et de la place qu'ils occupent en médecine vétérinaire et des risques de leur utilisation ainsi que de quelques mécanismes de résistance.

II.1. Les antibiotiques :

II.1.1. Rappel historique :

La première preuve d'un antagonisme entre certains être vivants, décrite pour la première fois en 1823, est apportée par Pasteur et Joubert ; en 1877 ils démontrent en effet que *Bacillus bovis* atténue la virulence du bacille du charbon.

D'autres exemples suivent, aboutissant en 1889 à la notion d'« antibiose », créée par Vuillemin, par opposition à celle de « symbiose ». A la fin du 19ème siècle, Ernest Duchesne démontre à l'occasion de sa thèse de doctorat en médecine que l'inoculation de cultures de *Penicillium glaucum* protège les cobayes de la virulence d'une dose létale de bactéries pathogènes.

Il envisage alors une utilisation à but thérapeutique des propriétés antimicrobiennes de certaines moisissures, mais ses résultats ne sont pas publiés, et il ne peut poursuivre ses travaux.

Deux ans après, la première enzyme protéolytique d'activité antibiotique, la pyocyanase, est découverte. Produite par *Pseudomonas aeruginosa*, elle est notamment active sur le vibron cholérique et le bacille de la diphtérie. En 1922, Alexander Fleming découvre dans les sécrétions nasales et les larmes une substance d'activité analogue à celle de la pyocyanase, qu'il nomme « lysozyme », mais cette protéine est inactive sur la plupart des pathogènes pour l'homme. Néanmoins, cette découverte va permettre celle, 6 ans plus tard, de la pénicilline (POL D, 2004).

Durant l'été 1928, Fleming travaille sur la grippe et le rhume, et a placé des souches de Staphylocoques dans des boîtes de Pétri. A son retour de vacances, il observe que ses géloses ont été contaminées par des spores de champignons provenant d'un laboratoire voisin, mais surtout que ces moisissures, souches de *Penicillium notatum*, inhibent la croissance des colonies de Staphylocoques poussant à leur périphérie (**POL D, 2004**). Ceci permet d'élucider le mécanisme de l'antagonisme entre micro-organismes, qui résulte de l'action de substances chimiques particulières (**MAILLARD R, 2002**).

En parallèle, les premiers sulfamides sont découverts au début des années 30, révolutionnant la thérapeutique des pneumonies, puis les sulfones, actifs contre la lèpre.

Ce sont les premiers antibactériens de synthèse, Ce n'est qu'en 1940 qu'ont lieu les premières expérimentations en vue d'une utilisation thérapeutique de la pénicilline: Florey et Chain reprennent les résultats de Fleming, parviennent à isoler un sel sodique de la pénicilline, et réalisent des essais sur diverses espèces animales pour en tester l'innocuité et mettre en évidence ses vertus thérapeutiques. Ils s'associent peu après avec un industriel américain, Pfizer, et la pénicilline est finalement produite en grande quantité dès 1943.

II.1.2. Définition :

D'après la définition traditionnelle formulée par **WAKSMAN en 1942**, les antibiotiques sont des substances chimiques produites par différentes espèces de microorganismes (bactéries et champignons), qui ont le pouvoir d'inhiber la croissance d'autres microorganismes ou même de les détruire (**SABINE ROBERT-DERNUET, 1995**). Pour désigner ces substances d'origine naturelle ou synthétique, on emploie des termes généraux. (**SABINE ROBERT-DERNUET, 1995**)

Par exemple, on appelle agent antimicrobien toute substance qui a un pouvoir sur les microorganismes en général (**SABINE ROBERT-DERNUET, 1995**)

Tableau 2 : Date de découverte de quelques molécules antibiotiques (MAILLARD R ,2002)

Micro-organismes	Famille	Molécule	Date de découverte
Penicillium	Pénicillines	Pénicilline	1929
Streptomyces	Aminoglycosides	Streptomycine	1944
		Néomycine	1949
		Kanamycine	1957
Tobramycine		1967	
Amikacine		1975	
	Tétracyclines	Chlortétracycline	1948 1949
	Quinolones	Acide nalidixique	1962
Cephalosporum	Phénicolés	Chloramphénicol	1946
	Macrolides	Erythromycine	1952
	Céphalosporines	Céphalotine	1954

Actuellement, les principaux composés antibactériens employés en médecine vétérinaire sont issus de bactéries actinomycétales du genre *Streptomyces*, de champignons ou de bacilles. Les composés les plus récents ont été produits par semi-synthèse (ENRIQUEZ B ,2002).

II.1.3. Notions générales sur les antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères :

- ❖ **leur origine** : biosynthétisés par des champignons, des bacilles ou des *Streptomyces*, issus du génie chimique (M.C. CHATELLET, 2007) .
- ❖ **leur structure chimique** : dérivés d'acides aminés, hétérosidiques ou polycycliques (M.C. CHATELLET, 2007) .
- ❖ **leur activité** : antibactérienne, antifongiques, antimitotiques (ENRIQUEZ B ,2002).

La première caractéristique d'un antibiotique est son spectre d'activité, c'est-à-dire l'ensemble des espèces bactériennes qui lui sont sensibles, lorsque le spectre d'activité est limité à un certain nombre d'espèces bactériennes, il est dit « étroit », tandis qu'un antibiotique actif sur de nombreuses bactéries est dit à spectre large. Enfin, une bactérie insensible à un antibiotique est définie comme résistante (PUYT J-D, 1996).

La CMI : CHABABBERT en 1963, la définit comme étant la plus faible concentration d'antibiotiques d'une gamme capable d'inhiber toute croissance visible de la souche étudiée. Par contre (FLANDROIS et CARRET, 1990), la définit comme l'inhibition suffisante de la croissance bactérienne pour être cliniquement significative

L'étude de la courbe d'inhibition de la croissance bactérienne par un antibiotique permet de définir deux zones : les zones de bactériostase et de bactéricidie (M.C. CHATELLET, 2007):

- ❖ **Lors de bactériostase :** la concentration en antibiotique limite la croissance bactérienne, mais le nombre de bactéries issues de la multiplication, dépasse celui de micro-organismes tués par l'antibactérien : les antibiotiques agissant par stabilisation de la population bactérienne et sont dits bactériostatiques.
- ❖ **Lors de bactéricidie :** la population bactérienne diminue car la teneur en antibactérien entraîne la mort de plus de bactéries que la multiplication n'en produit.

Le mécanisme d'action des antibactériens se caractérise par : (M.C.CHATELLET, 2007):

- ❖ Inhibition de la formation de la paroi bactérienne lors de la multiplication cellulaire
- ❖ Désorganisation de la structure de la membrane cellulaire de la bactérie
- ❖ Blocage de la synthèse biologique des protéines dans les ribosomes,
- ❖ Blocage de la biosynthèse protéique par entrave à la réplication de l'ADN bactérien.

Les antibiotiques agissent de manière très spécifique, ce qui explique leur faible toxicité pour l'animal traité (ENRIQUEZ B, 2002), il apparaît être intéressant d'associer plusieurs antibiotiques, dans certains cas, afin d'élargir le spectre d'activité et de bénéficier d'un effet synergique ou encore de diminuer les risques de sélectionner une souche bactérienne résistante (ENRIQUEZ B, 2002), chaque molécule est alors administrée à la posologie préconisée lors d'utilisation individuelle (ESPINASSE J, 1983), néanmoins, il faut respecter certaines règles: en effet, elles peuvent être simplement additives (cas de l'association de certains bactériostatiques), antagonistes (cas de l'association de certains bactéricides avec des bactériostatiques (ENRIQUEZ B, 2002).

L'association implique également le risque d'ajouter des toxicités propres, d'augmenter la sensibilisation de l'organisme et surtout de créer un vide bactériologique par attaque des bactéries commensales de l'animal, favorisant l'installation de colonies bactériennes résistantes à ces antimicrobiens (ESPINASSE J, 1983), donc il n'est pas conseillé d'associer plus de deux antibiotiques (ENRIQUEZ B, 2002)

II.1.4. Classification des antibiotiques et leurs indications:

Tableau 3 : Classification et propriétés antibactériennes des principales molécules antibiotiques (M.C. CHATELLET, 2007)

Famille	Sous famille	Origine	Molécule(s)
Bêta- Lactamines	Pénicillines	Naturelle	Pénicilline G
		Semi-Synthétique	Oxacilline et Cloxacilline (groupe M) Ampicilline et amoxicilline (groupe A)
	Céphalosporines	Naturelle ou Semi-Synthétique	Céfalotine, Cefalexine (1ère génération)
			Céfalonium (2ème génération)
			Céfopérazone, Ceftiofur (3ème génération) Cefquinome (4ème génération)
Polypeptides	/	Naturelle	Colistine Bacitracine
			Aminosides
Macrolides	/	Naturelle ou Semi-Synthétique	
Tétracyclines		Naturelle ou Semi-Synthétique	Oxytétracycline, chlortétracycline
Phénicolés		Semi-Synthétique	Florfénicol
Apparentés aux macrolides	Lincosamides	Naturelle	Lincomycine, clindamycine
Sulfamides		Synthétique	Sulfaguandine, sulfadimidine, sulfadiméthoxine...
Quinolones		Synthétique	Acides nalidixique et oxolinique (1ère génération)
			Fluméquine (2ème génération)
			Enro-, dano-, marbo-, difloxacin (3ème génération)

Tableau 4: Propriétés antibactériennes et indications principales des antibiotiques utilisés (Marie-Claude CHATELLET, 2007):

Famille ou molécule(s)	Activité	Mécanisme d'action (cible)	Spectre d'activité	Principales indications
Pénicilline G	Bactéricides	Inhibition de synthèse de la paroi	Étroit (Gram+), étendu aux Gram – pour les plus récentes	Infections générales, septicémies infections respiratoires, urinaires, mammaires, ostéoarticulaires
Pénicilline groupe M				
Pénicilline groupe A				
Céphalosporine			Large	Infection respiratoires, digestives, génito-urinaires, mammaires, articulaires
Collistine	Bactéricide	Perturbation de la membrane plasmique	Entérobactéries	Entérotoxémie, infections digestive et mammaire
Bacitracine		Inhibition de la synthèse de la paroi	Cocci Gram + et -, bacilles Gram+, spirochète	Infection cutanées
Aminosides sauf spectinomycine	Bactéricide	Inhibition de la synthèse protéique (ribosomes)	Étroit (Gram – et streptocoques) sauf gentamycine	Infections générales (urologique) Infections gastro-intestinales
Macrolides	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique (ribosomes)	Gram +, ++, +, quelques entérobactéries	BPIE, infections mammaires
Tétracyclines	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique (ribosomes)	Large	Infections générales, mammittes
Florfénicol	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique (ribosomes)	Large	Infections respiratoires
Lincosamides	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique (ribosomes)	Cocci et bacilles Gram+, mycoplasmes, anaérobies	Infections mammaires
Sulfamides	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique (ADN)	Large	Mammittes, panaris interdigité
Quinolones (1 ^{ère} génération)	Bactéricide	Inhibition de la synthèse protéique (ADN)	Étroit (Gram +), étendu aux	Infections du tractus urinaire, intestinales
Quinolones (2 ^{ème} et 3 ^{ème} génération)			Gram – selon la génération	Entérites, mammittes colibacillaires, avortement salmonelliques ...

II.1.5. Traitement des mammites cliniques :

Les mammites sont la principale affection en élevage laitier, leur traitement est de loin la première cause d'utilisation des antibiotiques, avec environ deux traitements intra-mammaires par vache et par an (un en lactation et un au tarissement), auxquels il convient d'ajouter des traitements par voie générale assez nombreux (SERIEYS F, 2004).

En 1994, le chiffre d'affaires des anti-infectieux vétérinaires représentaient 35% du chiffre d'affaires total des médicaments avec autorisation de mise sur le marché (AMM), avec 191 millions d'euros.

Les intra-mammaires représentaient 20% du chiffre d'affaires des antibiotiques (GUERIN A, 2003).

Ainsi, l'enquête de FABRE *et al.* (FABRE *et al.*, 2002) a mis en évidence que pour les mammites cliniques, essentiellement traitées par voie locale, seulement 65,2% des éleveurs réalisent le traitement tel qu'il est indiqué par le fabricant, alors que 32,6% modulent le traitement en fonction de la gravité et 2,2% ne font jamais le traitement complet.

Enfin, seulement 48% des éleveurs de cette dernière enquête identifiaient systématiquement les vaches traitées.

Il apparaît donc bien qu'aujourd'hui le traitement des mammites, réalisé le plus souvent sans diagnostic préalable et avec une automédication très répandue, représente un maillon faible dans le développement d'une agriculture raisonnée et durable (SERIEYS F, 2004).

Pour la réussite du traitement antibiotique, il est capital de respecter trois critères ; on doit donc traiter :

- ❖ **Rapidement** : Le plus tôt possible afin d'éviter l'extension de l'inflammation et de l'infection.
- ❖ **Massivement** : Pour éviter d'avoir des doses inférieures aux concentrations minimales inhibitrices des germes présents dans la mamelle et ainsi créer des phénomènes de résistance.
- ❖ **De façon prolongée** : En lactation, il est indispensable de respecter le protocole proposé par le fabricant (les plus souvent, trois traitements consécutifs). Il ne faut pas interrompre le traitement lors de la disparition des signes cliniques sous peine d'échec thérapeutique (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

II.1.5.a. Choix de l'antibiotique

L'antibiotique utilisé varie en fonction du type de germes supposé à l'origine de la mammite (Gram⁺ ou Gram⁻), de la gravité de la mammite (suraiguë, aigue, chronique ou sub-clinique) et de la voie d'administration utilisée (tableau 5), (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

Tableau 5 : Critères de choix d'un antibiotique, (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

Formes	Germes		Antibiotique	Choix du traitement		
	Gram+	Gram-		Général	Local	Complémentaire
Suraiguë	+	++	Spectre large	+	+	+
Aigue	++	++	Diagnostic précis	+/-	+/-	+/-
Chronique	++	+/-		-	+	-
Sub-clinique	+++	-		-	+	-

III.1.5.b. Voie d'administration :

Les deux voies d'administration possibles sont la voie générale et la voie galactophore.

La première voie doit toujours être accompagnée d'un traitement local.

La voie galactophore est la plus utilisée car elle est très efficace et la gamme d'antibiotiques est étendue ; les injections intra mammaires doivent être bien réalisées pour éviter tout risque septique.

L'avantage de cette voie est de permettre une bonne diffusion des antibiotiques dans toute la mamelle et pour tous les cas de mammites, afin de prévenir une généralisation de l'infection, des traitements complémentaires sont associés : l'application de pommades décongestionnante, la corticothérapie ou la calcithérapie.

Un traitement bien réalisé, associé à un trempage des trayons, permet donc, dans bon nombre de cas, une guérison véritable avec élimination de l'infection, mais connaît une minorité d'échecs (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

Tableau 6: Classification des principaux antibiotiques utilisés en pathologie mammaire(LEPERLIER I, 2004)

Famille	Molécule	Spectre d'action ¹	Mode d'action	Distribution	Nom déposé injectable	Nom déposé intra-mammaire	Nom déposé HL (hors lactation)	Avantages	Inconvénients		
β-lactamines	Pénicilline	G + St.uberis St.dysgalactiae	Bactéricide	Extra-cellulaire	Stop M		Vonapen HL		SPECTRE ETROIT Ne traverse la BHM ² qu'en cas d'inflammation importante		
	A	Ampicilline	G + et G -			Colampi Colicilline	Ampiclox Dielomam Synulox				
		Amoxicilline									
	M	Cloxacilline	G -					Orbenin HL Orbenor HL Coliclox HL	Efficace contre Staph. à β-lactamases	(le pH du lait se rapprochant de celui du sang)	
Céphalosporines	Céphalexine	G + et G -	Bactéricide	Extra-cellulaire			Rilexine				
Aminosides	Néomycine	G + surtout G + et G -	Bactéricide	Extra-cellulaire Faible	Cobactan	Cobactan	Vonapen HL		Peu efficace contre les streptocoques		
Polypeptides	Gentamycine	G +	Bactériostatique	Extra-cellulaire		Gentamam		Reste dans le compartiment d'administration			
							Bacitracine				
							Colistine				
Macrolides et apparentés	Spiramycine	G + et surtout staphylocoques	Intra-cellulaire Large Concentration élevée dans le lait (pH acide)	Suanovil Spirovot Tylan	Spéciorlac	Coliclox Mammitel Mammici		Temps d'attente lait			
	Tylosine										
	Lincomycine										
	Pirlimycine				Pirsue			A.M.M. mammaire			

Famille	Molécule	Spectre d'action ¹	Mode d'action	Distribution	Nom déposé injectable	Nom déposé intra-mammaire	Nom déposé HL (hors lactation)	Avantages	Inconvénients
Tetracycline	Tetracycline	G+ et G-	Bactériostatique	Large Homogène		Mastijet			Inhibée par calcium
Quinolones	Marbofloxacine	G+ (staph.) et G-	Bactéricide	Large	Marbocyl			Volumes faibles temps d'attente lait courts	
Sulfamides + Triméthoprim		G+ et G-	Bactériostatique	Large (triméthoprim en intra-	Amphop rim setotryl		Spectre large		

spectre d'action¹ :

BHM2 : barrière hémato-méningée

II.1.5.c. Causes possibles de l'échec thérapeutique :

Malgré une antibiothérapie raisonnée et appropriée, des échecs thérapeutiques ou la non guérison bactériologique ne sont pas rares (DU PREEZ JH, 2000), (GUERIN-FAUBLEE, 2003).

D'après (FAROULT B, 1994), les taux de guérison bactériologique suite au traitement, pendant la lactation, des infections à *Staphylococcus aureus*, sont le plus souvent inférieurs à 50% voire 40%. Concernant les infections à *Streptococcus uberis*, les taux de guérison bactériologique habituellement cités sont de l'ordre de 80% : certes, ils sont beaucoup plus élevés par rapport à ceux obtenus avec *S. aureus*, toutefois, ces résultats ne sont pas aussi élevés qu'avec d'autres espèces de streptocoques (SERIEYS F, 2003).

Rappelons que pour être efficaces les antibiotiques administrés lors d'un traitement doivent atteindre les bactéries responsables de l'infection en concentration suffisante et pendant un temps suffisant. L'efficacité de l'antibiothérapie repose sur la qualité de la dynamique « bactérie-antibiotique-milieu/hôte ».

Les échecs de l'antibiothérapie des mammites peuvent être expliqués par un ou plusieurs des phénomènes suivants (DU PREEZ JH, 2000), (SANDHOLM M. LOUHI M, 1991) :

- Les antibiotiques n'atteignent pas le site de l'infection à une concentration adéquate :
 - problèmes de maintien de la concentration suffisante pendant la période de temps requise, dose trop faible, intervalle trop grand entre deux injections, durée du traitement trop courte (les schémas thérapeutiques recommandés par les fabricants et validés par l'AMM étant un compromis entre l'efficacité recherchée et la nécessité de minorer les pertes économiques dues au lait non commercialisable);
 - limites pharmacocinétiques :
 - Absorption, disponibilité, élimination,
 - Séquestration des antibiotiques due à l'ionisation,
 - Interactions biologiques avec les constituants du lait (protéines, Ca^{++}),
 - Obstacles à la diffusion pendant les traitements intra mammaires (Edèmes, formation d'abcès, fibrose).

- Facteurs liés aux bactéries :
 - Latence bactérienne : les bactéries ne se multiplient pas, ne sont pas sensibles à la plupart des antibiotiques ;
 - Localisation des bactéries : la localisation intracellulaire et l'invasion tissulaire de certaines bactéries (notamment *S. aureus*) peuvent constituer un obstacle à leur atteinte par les antibiotiques ;
 - résistance intrinsèque assurée par les gènes chromosomiques, ce type de résistance existait avant même l'usage des antibiotiques, (due à la forme et à la constitution de la paroi de certaines bactéries constituant un obstacle à la pénétration d'antibiotiques, ou encore à l'existence d'enzymes comme les bêtalactamases dégradant « naturellement » les bêtalactamines) ;
 - résistance acquise ou émergence de nouvelles résistances aux antibiotiques, résultat de l'adaptation des bactéries suite aux traitements ou résultat de mutations faites au hasard, inhérentes à la biodiversité des aptitudes microbiennes. L'usage des antibiotiques est un des facteurs qui crée une pression de sélection exercée sur les bactéries laquelle est responsable de l'émergence de nouvelles résistances et/ou de leur possible diffusion.

II.2. la résistance aux antibiotiques :

II.2.1. Le phénotype de résistance : La lecture de l'antibiogramme permet d'obtenir l'expression phénotypique de la résistance c'est-à-dire de déterminer la sensibilité de la souche vis-à-vis d'un nombre important d'antibiotiques. Le choix judicieux des antibiotiques testés permet parfois de reconnaître le mécanisme de résistance et le génotype correspondant (FLANDROIS JP et al, 1991), (JARLIER V, 1985), (LEMOZY J, 1985).

II.2.2. Rappels de terminologie :

- Résistance naturelle – Résistance acquise :
- ❖ La résistance naturelle ou « intrinsèque » : correspond à la résistance de toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre bactérien à un antibiotique ; par exemple, les *Entérocooccus* sont naturellement résistants à la lincomycine (BNU HOI A, 1985). Le mécanisme de cette résistance est variable mais son support génétique est généralement chromosomique (AZELE FERRON, 1989). La résistance naturelle fait partie du patrimoine génétique habituel de l'espèce, transmissible héréditairement à la descendance (AZELE FERRON, 1989).
- ❖ La résistance acquise :
correspond à l'acquisition d'une résistance à un antibiotique par une souche normalement sensible, cette résistance est évolutive, elle varie au cours du temps en fonction de la localisation; (épidémie) de l'utilisation des antibiotiques (GUERIN-FAUBLEE et al, 1999). L'acquisition de la résistance peut être liée à un apport plasmatique ou à une mutation chromosomique (GUERIN-FAUBLEE et al, 1999).

II.2.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques :

La résistance aux antibiotiques est connue depuis longtemps et a donné lieu à de nombreuses revues.

Les mécanismes de résistances sont multiples (BRYAN LE, 1988), (CHOPRA I, 1988) :

- ❖ La résistance peut être liée à une diminution de la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie (CHOPRA I, 1984), (GUIMANN L, 1986), (NIKAIDO H, 1989) ou à son efflux (CHOPRA I, 1984), (CHOPRA I, 1988), (KAATZ GW et al, 1993), (LEVY SB, 1992) .
- ❖ Des mutations au niveau de la cible d'action de l'agent antibactérien peuvent diminuer ou annuler son activité (FONTANA R, 1985), (GUIMANN L, 1980), (MALOUIN Fet al, 1986), (REYNOLDS PE ,1984).
- ❖ La métabolisation de l'antibiotique par des enzymes bactériennes constitue un mécanisme fréquent d'inactivation (JARLIER V, 1985), (LEMOZY J, 1985), (PHILIPPON A et al, 1986).
- ❖ La bactérie modifie son métabolisme en fonction des conditions environnementales, ce qui peut modifier l'action des antibiotiques (AMYES SGB, 1990).

Cette résistance est liée à une information génétique située sur le chromosome, un plasmide, ou sur un élément transposable ou transposon (GRINSTED J, 1986), (SANDERS CC, 1988), (SCHIMTT R, 1986), (VINCENT S et al, 1992), (WIEDEMANN B, 1985).

II.2.3.a. Support génétique de la résistance :

La résistance liée à une information est portée par le code génétique de la bactérie (AZELE FERRON, 1989).

Le support de cette information peut être le chromosome bactérien, un plasmide ou un élément génétique transposable ou transposon (GRINSTED J, 1986), (SANDERS CC, 1988), (SCHIMTT R, 1986), (VINCENT S et al, 1992), (WIEDEMANN B, 1985).

L'acquisition d'une résistance est due soit à une mutation d'un gène existant, soit à l'acquisition d'un nouveau gène (AZELE FERRON, 1989), il existe des cas où ce gène est non exprimé ou normalement réprimé, les *E. coli* possédant un gène généralement non exprimé codant pour une céphalosporinase (JARLIER V, 1985)

- ❖ **Résistance par mutation chromosomique :** L'événement mutation ne rend compte que d'un faible pourcentage de souche résistante rencontrée en clinique, ce type de résistance est caractérisé par sa spontanéité, sa rareté, sa spécificité et sa stabilité (M.J. MATHIEU et al, 2008).
- ❖ **Résistance par acquisition de gènes :** Une bactérie initialement sensible acquiert une information génétique sous forme d'ADN plasmidique ou de transposon. Cette information permet l'expression à un ou plusieurs antibiotiques. Des plasmides de résistance peuvent s'intégrer dans le génome bactérien (WOODWARD B et al, 1989).

Inversement, il existe des transposons localisés initialement dans un chromosome que l'on retrouve actuellement sur des plasmides. C'est le cas du gène codant pour la résistance des *Staphylococcus aureus* à la méticilline (BERGER-BACHL, 1989) ou du gène codant pour la pénicillinase SHV1 naturellement présent sur le chromosome de la *Klebsiella pneumoniae* et retrouvé ensuite sur des plasmides chez des espèces variées d'entérobactéries (PHILIPPON A et al, 1987), rappelons que les plasmides possèdent un pouvoir de répllication autonome de l'ADN chromosomique et que leur transfert est possible entre bactéries parfois très éloignées sur le plan taxonomique.



**PARTIE
EXPERIMENTALE**

I. Etude expérimentale:

- Objectifs de l'étude :

Les échecs thérapeutiques constatés sur terrain lors du traitement des mammites, nous ont conduit à poser de nombreuses questions parmi elles : Ya t'il des résistances bactériennes a mesure des échecs thérapeutiques constatés ? Est-ce un défaut d'identification qui a conduit à l'utilisation des substances inadaptées? Ou est-ce un non respect de la règle de l'antibiothérapie ?

Et pour cela nous avons fixé comme objectif :

- ☆ Identification des bactéries responsable des mammites cliniques et leurs profils de sensibilité aux antibiotiques.
- ☆ Comparer les résultats obtenus par la méthode classique (méthode de référence) avec le test rapide « Speed Mam Color ».
- ☆ Recueillir des informations sur certaines pratiques d'élevage laitier vis-à-vis de la problématique posée.

II. Matériel et méthodes :

50 prélèvements ont été analysés au niveau de Laboratoire Régional Vétérinaire de Draa Ben khedda , wilaya de Tizi-Ouzou, pendant deux périodes, une de 4 mois qui s'est étalée de Juillet à Octobre 2009, et l'autre de 15 jours de 17 Décembre 2009 au 03 Janvier 2010.

- ✓ Par la méthode classique (méthode de référence appliquée au niveau de ce laboratoire) sur des prélèvements frais et par la méthode rapide après congélation.
- ✓ Analyser le questionnaire élaboré en fonction de la problématique posée.

II.1. Prélèvements :

II.1.a. Matériels :

Pots de prélèvement stériles et gants d'examen.

Coton hydrophile ou compresses alcool à 70 °.

Papier absorbant.

Feutre indélébile pour pots de prélèvement sans étiquettes.

Glacière avec pains de glace pour la bactériologie effectuée par la suite.

II.1.b. Techniques de prélèvement :

Nous avons remis aux vétérinaires des tubes de prélèvement stériles, puis nous avons rappelé à ces vétérinaires la méthode de prélèvement à suivre, mais la plus part des prélèvements ont été réalisés par nous même.

Technique :

La première étape est le nettoyage correct du trayon avec de l'eau tiède, du savon et une lavette. On essuie ensuite avec du papier absorbant et on renouvelle l'opération jusqu'à ce que le papier soit propre. Après avoir revêtu des gants on procèdera à la désinfection du trayon, surtout le bout, avec un coton imbibé d'alcool à 70 °. Puis, on prend un flacon stérile entre le pouce et l'index et on oriente le bouchon vers le bas, on dévisse celui-ci avec la main droite. Le bouchon est placé immédiatement entre le pouce et l'index de la main gauche, protégeant l'ouverture du pot.

On approche le flacon à l'horizontale du trayon, on élimine les premiers jets sur le sol puis on dirige 3 à 4 jets vers le récipient, on rebouche celui-ci immédiatement (figure 1). On identifie le pot en utilisant le numéro de la vache concernée, le quartier et la date du prélèvement. Ce dernier est ensuite placé dans la glacière.

III. Laboratoire :

III.1. Méthode classique :

III.1.1. Matériel et réactifs utilisés:

Tableau 7: Matériel et réactifs utilisés

Appareillage		Réactifs et autre
<ul style="list-style-type: none"> -Etuve -Agitateur magnétique -Microscope photonique -Réfrigérateur -Autoclave -Anse à ensemencer -Portoirs -Ecouvillons -Pipettes pasteur -Tubes à essais -Lames et lamelles -Bec benzen -Boite de pétrie -Distributeur d'antibiotiques 		<ul style="list-style-type: none"> -Plasma de lapin -ADH, ODH, LDH -Disque oxydase -Disque ONPG -Réactif de KOVACS -Réactif de VP1 et VP2 -Rouge de méthyle -Huile de vaseline -Eau oxygénée -violet de gentiane -Lugol -Alcool à 96° -Fushine -Eau physiologique -Eau distillée stérile
Milieux de culture		Matériel biologique
<u>Solides :</u> <ul style="list-style-type: none"> - Gélose Muller Hinton - Gélose Chapman - Gélose Hektoen - Gélose BEA - Gélose Sabouraud - Gélose Pseudomonas 	<u>Liquides :</u> <ul style="list-style-type: none"> -Bouillon BHIB -Milieu urée indole 	<ul style="list-style-type: none"> -Echantillons de lait prélevés (mammite clinique) -Souches de bactérie ATCC : <ul style="list-style-type: none"> Escherichia coli ATCC 25922 Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 Enterococcus faecalis ATCC 29212 Staphylococcus aureus ATCC 25923

III.1.2. Schémas d'identification des bactéries :

Après enrichissement avec le milieu BHIB pendant une heure nous avons procédé par les étapes figurant dans le tableau de l'analyse des prélèvements.

III.1.2.a. Staphylococcus aureus :

Etape1 : isolement	Etape 2 : identification			Etape 3 : profils de sensibilité aux antibiotiques
Chapman	Coloration de Gram	Catalase	Coagulase	Antibiogramme
Les souches de S. aureus forment des colonies luxuriantes, s'entourent d'une aréole jaune due à la fermentation du manitol (24 à 48h)	Cocci en grappe de raisin Gram (+)	(+) (pour les différencier des streptocoques)	(+) (pour S. aureus)	Gélose Mueller Hinton (M.H) coulée en boîtes de pétrie sur une épaisseur de 4mm, Avec une suspension de 0.5Mc farland

III.1.2.b. Streptococcus :

Etape1 : isolement	Etape 2 : identification				Etape 3 : profils de sensibilité aux antibiotiques
BEA	Coloration de Gram	Catalase	L'hémolyse	Groupe (Pastorex Strep)	antibiogramme
Petit colonie noir esculine +	Cocci (en chaîne) immobile Gram (+)	(-)	Non hémolytique	Non groupable : Forte chance que ça soit des S.uberis Groupe D	Gélose Mueller Hinton additionnée de 5% de sang de mouton, Avec une suspension de 0.5Mc farland

III.1.2.c. les E. coli et les Pseudomonas :

Pseudomonas :

Etape1 : isolement	Etape 2 : identification		Etape 3 : profils de sensibilité aux antibiotiques
Gélose pseudomonas	Coloration de Gram	Oxydase	antibiogramme
Colonies larges, isolées, de couleur verte et collante, grandes avec partie centrale bombée et un contour irrégulier (œufs sur plat) avec odeur de fleur	Bacille mobile Gram (-)	(+)	Gélose Mueller Hinton (M.H) coulée en boîtes de pétrie sur une épaisseur de 4mm, Avec une suspension de 0.5Mc farland

E. coli :

Etape1 : isolement	Etape 2 : identification		Etape 3 : profils de sensibilité aux antibiotiques
Gélose Hektoen	Coloration de Gram	Autre teste	antibiogramme
Colonie ronde de couleur saumon	Bacille Gram (-)	- Mannitol Mobilité - TSI - ONPG - Test du R.M. & Test du V.P. - Teste Urée-indole - ODC, LDC, ADC	Gélose Mueller Hinton (M.H) coulée en boîtes de pétrie sur une épaisseur de 4mm, Avec une suspension de 0.5Mc farland

III.2. La méthode rapide (SMC)

III.2.1. Principe du test (SMC) :

« Speed® Mam Color » est une mini-galerie de culture dans laquelle :

* **14** Puits sont consacrés aux sensibilités et résistances bactériennes pour 14 molécules (ou associations de molécules) d'antibiotiques.

* **07** Puits sont consacrés à l'identification de la (ou des) bactérie(s) pathogène(s).

* **03** Puits (Brevet BVT) signalent le délai de lecture pour considérer uniquement l'antibiogramme de l'agent pathogène et non celui d'un éventuel contaminant. L'un de ces 3 puits se nomme puits **IL** (Incubation Limite). Il est le seul puits à ne pas recevoir le prélèvement de lait.

Le résultat de l'antibiogramme de l'agent pathogène doit se lire avant ou pendant l'expression du puits **IL**.

Les résultats obtenus par « Speed® Mam Color » se lisent puits par puits.

Le développement bactérien est révélé par un virage de couleur (variable selon le puits).

- Indique alors une résistance de l'agent pathogène aux antibiotiques des puits correspondants (pour les 14 puits antibiotiques).
- Indique le type d'agent pathogène présent (pour les 7 puits d'identification bactérienne).

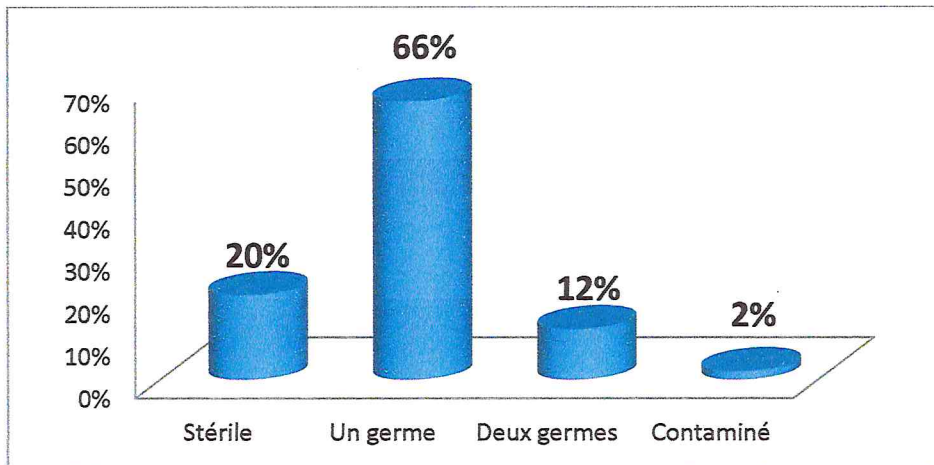
RESULTATS BACTERIOLOGIQUES

IV. Résultats bactériologiques :

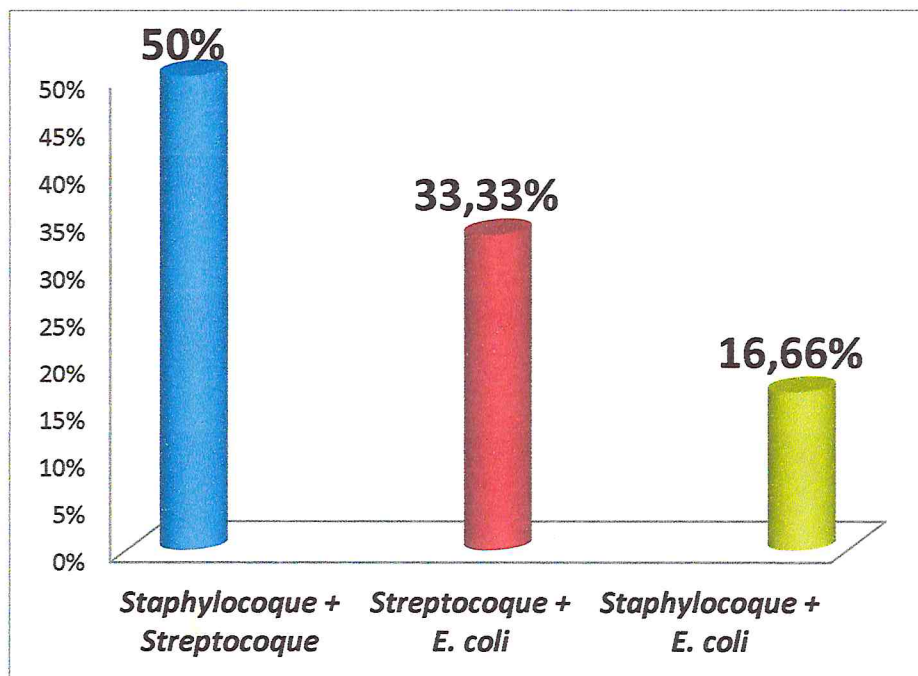
Les résultats obtenus par la méthode classique seront par la suite comparés à ceux obtenus par la méthode rapide ;

IV.1. Identification des bactéries :

IV.1.a. Méthode classique :



Graph 1: Isolement, 50 mammites cliniques



Graph 1' : répartition des prélèvements à deux germes

➤ Interprétation et discussion :

Les pourcentages des prélèvements contaminés sont proches de ceux décrits dans les études similaires (**BARKENA, 1997; FABRE, 1997 ; MITENBURG, 1996 et SARGEANT, 1998**) qui sont respectivement de 11,9%, 31,4%, 27,6% et 17,6%.

Le faible pourcentage des prélèvements contaminés est dû à la réalisation des prélèvements par nous même, en respectant chaque étape de la réalisation du prélèvement ;

Les prélèvements stériles sont inférieurs à ceux présentés par (**MANNER, 2001**) 35%, et légèrement supérieurs à ceux présentés par (**FABRE, 1997 ; MITENBURG, 1995**) qui sont respectivement de : 3,8% et 2,4%

Les prélèvements stériles peuvent être dus :

- Dans certains cas, le lait peut être effectivement stérile lors du prélèvement. Ceci est particulièrement vrai pour les mammites à Colibacilles, les Entérobactéries sont productrices d'Entérotoxines responsables des symptômes. Alors même que toutes les entérobactéries ont été lysées, les symptômes persistent : la lyse bactérienne a libéré les endotoxines contenus dans les bactéries qui sont responsable de la persistance des symptômes (**PHILIPON 1991 et BOUCHOT, 1985**)
- Une inflammation de la mamelle peut exister sans aucun germe ne la provoque (**PHILIPON, 1991 et BOUCHOT, 1985**)
- Les milieux de culture peuvent être inappropriés à la culture de certaines bactéries exigeantes.
- Certaines cultures exigent du temps pour pousser.
- La présence d'anti-infectieux, notamment des antibiotiques, peut inhiber la croissance bactérienne (**PHILIPON, 1991**)

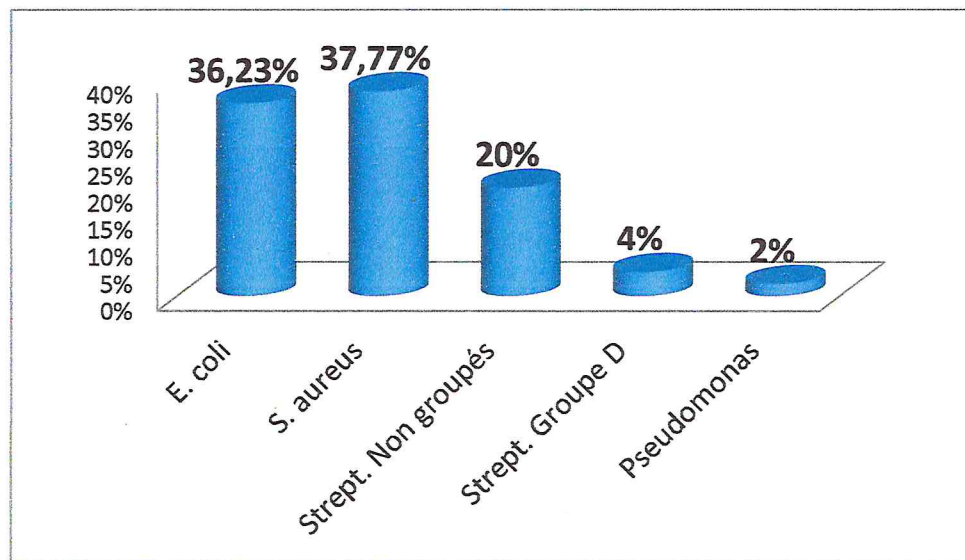
Tableau 8 : Le pourcentage des prélèvements stériles dans différentes études :

Etude	BERG (2001)	BARKENA (2001)	SARGEANT et al. (1998)	BOUAZIZ (2001)
%	10	11,9	17,6	20

Etude	NOIRETERRE (2006)	ARGENTE et al. (2005)	MANNER (2001)	MEKADEMI (2006)
%	30	31	35	82,14

Les prélèvements à deux germes peuvent être pris en considération car ils sont des germes majeurs (MANNER, 2001).

- Nos résultats sont proches de ceux constatés par (BOUAZIZ, 2001- MESSADI et al. 1999, BERG, 2001 et BARKENA et al, 1997) qui sont respectivement de 7,1%, 8%, 10%, et 14,4% ,supérieurs à ceux rapportés par (BEROUAL 2003, FABRE et al. 1997 et MILTENBERG et al. 1996) qui sont respectivement de 1,12%, 1,3%, et 3,1%, et à ceux de SMITH et al 1985 de 4,7% et MANNER, 2001 avec 5,3%.



Graph 2 : Répartition des germes, 50 prélèvements, 48 germes

➤ **Interprétation et discussion :**

Les trois principaux germes sont représentés par 94% (à savoir staphylocoques, streptocoques, *E. coli*), ce qui est supérieur de l'étude de (MANNER, 2001) 82%.

Les pourcentages d'*E. coli* 36,23%, *Staphylococcus aureus* 37,77% et (20%) pour *Streptocoque* non groupable.

Dans notre étude nous avons constaté une prédominance de *Staphylocoques* avec une fréquence de 37,77% ce qui s'explique par le grand pourcentage d'isolement de ce germe dans les pays en voie de développement (ACHACHE, 1982 et MEKEDEMI, 2006)

Nous avons pu isoler 20% des *Streptocoques* non groupables (*uberis*) qui est inférieur à celui de (FABRE *et al.*, 1997) qui est de 48%, ce qui se rapproche de (BERG, 2001) 14%.

Les *E. coli* représentent 36,23%, ce qui représente un taux supérieur à ceux observés par (NOIRETERRE, 2006 et FALLET, 1999 et MANNER, 2001) qui sont respectivement de 22,6%, 23,7% et 25,3%

Nous avons pu isoler une souche de *Pseudomonas*,

Parmi les *Streptocoques* isolés, il faut noter l'absence de *Streptocoques dysgalactis* et *Agalactis*.

Aucun isolement de levure ou de moisissure n'a été enregistré dans notre recherche.

Tableau 09: Comparaison des résultats bactériologiques obtenus par la méthode classique et celle dite SMC :

	Nombre de prélèvement	Pourcentage	
Concordance parfaite	26	66,66%	
Laboratoire (+) SMC (-)	9	23,09%	E. coli 54,56%
			Staph. 22,72%
			Strept. 22,72%
SMC (+) et laboratoire (-)	4	10,25%	50% Listeria
			50% Strept.
TOTAL	39	100%	

Un (01) prélèvement a été perdu (éclatement lors de la congélation).

➤ **Interprétation et discussion :**

Un très grand pourcentage de concordance parfaite (66,66%) mais au dessous de celui constaté par (MANNER, 2001).

Sans doute à cause de la grande proportion des prélèvements stériles (23,09%) dus à la congélation des prélèvements.

23% des prélèvements traités par SMC sont stériles, ce qui est du à la congélation pendant une durée de plus de deux (02) mois, sachant que 55,55% des prélèvements stériles ont révélé la présence d' *E. coli* par la méthode classique, et selon de nombreuses études les colibacilles diminuent largement avec la congélation (**GHOURI, 2005**), et que 22,72% de ces prélèvements stériles contenues des *Streptocoques* et que selon **MANNER**, il faut que les *Streptocoques* atteignent un certains nombre pour qu'ils soient détectables par la méthode SMC.

Sur 4 prélèvements d'autre souches ont été isolés par SMC qui sont des *Listeria* et des *Streptocoques*, cela peut être expliquer par un manque de spécificité des puits de *Listeria* qui a permis la multiplication des *Streptocoques*, sachant que ces prélèvements en contiennent. (**MANNER, 2001**)

Pour les *Staphylocoques* une grande spécificité (88,88%) proche de celle constatée par (**MANNER, 2001**) 96%.

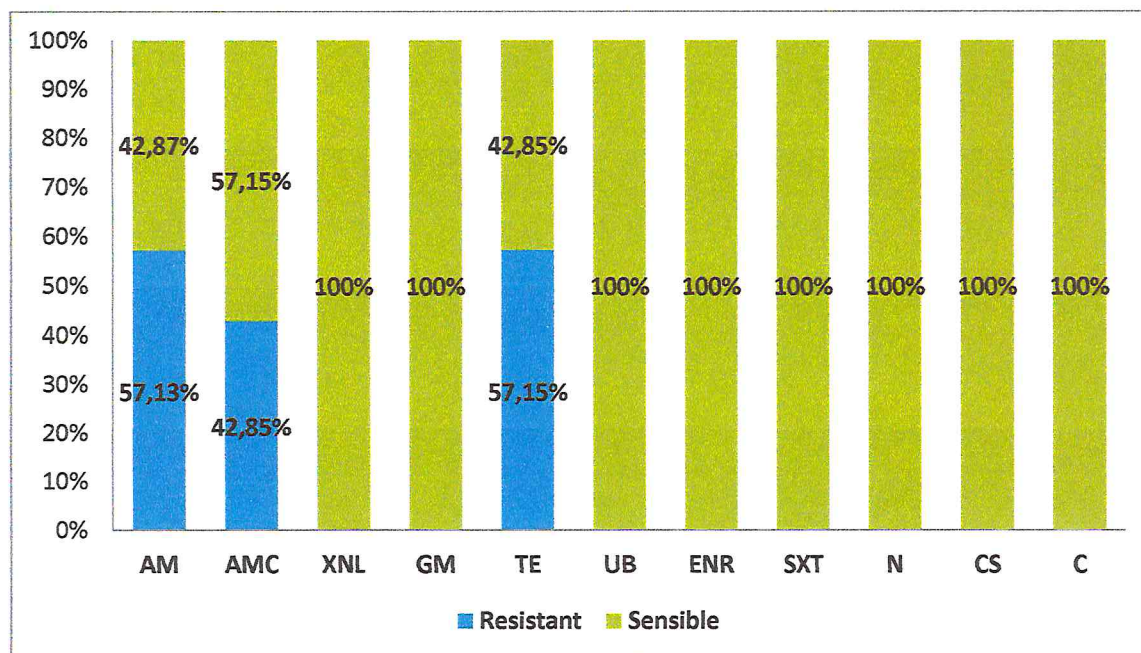
Bien que l'isolement des *Pseudomonas* soit rarement isolé dans les mammites, nous avons pu isoler une bactérie par la méthode classique confirmée par la méthode rapide.

ANTIBIOGRAMME

IV.2. Antibiogramme :

Nous avons pu comparer que 20 antibiogrammes de prélèvement mono-germes issus de la méthode rapide, avec la méthode classique, la comparaison des résultats obtenus par la méthode rapide qui ont révélé l'existence de deux bactéries, n'était pas faisable puisque nous ne savons pas à qui attribuer la résistance.

a- E. coli :



Graph 3 : les antibiogrammes des E. coli

a-1- Interprétation et discussion :

L'antibiogramme des E. coli révèle que la plupart des antibiotiques possèdent une efficacité optimale avec une résistance pour l'Amoxicilline + Acide Clavulanique, Ampicilline et Tétracyclines.

Amoxicilline + Acide Clavulanique : 42,85% de résistance supérieur à celui de (MANNER, 2001) avec 98% de sensibilité.

Ampicilline : 42,85% de résistance est supérieur à ceux présentés par (LEHTOLAINEN et al, 2003) 7%, et se rapproche de ceux présentés par (RESABO, 2001) 41% et (MEKONNEN et al. 2005) 50%.

La **Tétracycline** : 42,85% de résistance est supérieur à ceux présentés par (LEHTOLANIEN et al. 2003) 14% et (RESABO, 2001) 37% et inférieur à celui de (MEKONNEN et al. 2005) 50%.

Gentamycine : 100% de sensibilité concorde parfaitement avec les résultats rapportés par (BEROUAL, 2003 et LEHTOLANIEN et al. 2003) soit 100% et 99% de sensibilité.

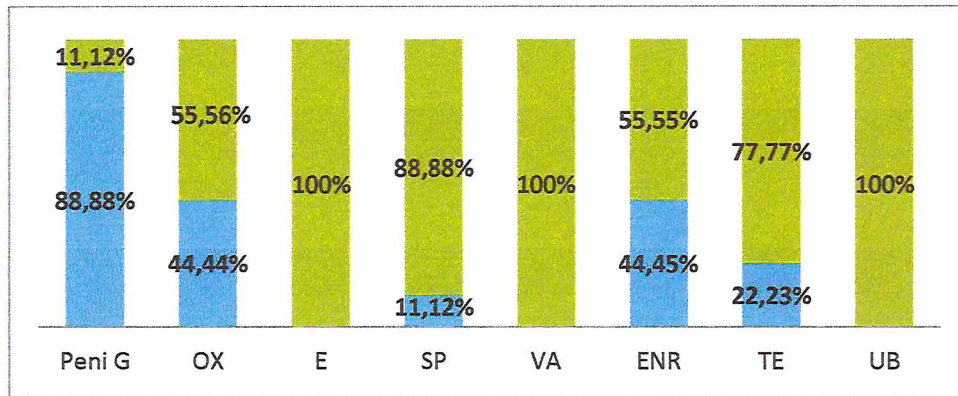
a-2- Comparaison des résultats bactériologiques obtenus par la méthode classique et SMC :

Molécules		Concordance parfaite	Laboratoire (R) SMC (S)	Laboratoire (I) SMC (S)	Laboratoire (S) SMC (R)
AMC	Nombre	7	/	/	/
	Pourcentage	100%	/	/	/
GM	Nombre	6	/	/	1
	Pourcentage	85,71%	/	/	14,29%
SXT	Nombre	7	/	/	/
	Pourcentage	100%	/	/	/

Tableau 10 : Comparaison des résultats bactériologiques révélés par les deux méthodes pour *E. coli*

Une bactérie s’est révélée résistante par la méthode rapide, mais sensible par la méthode classique.

b- *Staphylocoque aureus* :



Graph 4: les antibiogrammes des *Staphylocoques*

b-1- Interprétation et discussion :

Il ressort du graphe que certains antibiotiques sont très actifs sur les bactéries, à savoir la Vancomycine, la Bacitracine et l’Erythromycine qui n’ont montré aucune résistance parmi les souches étudiées.

Certaines bactéries ont montré une résistance vis-à-vis de la Tétracycline, l'Enrofloxacin, la Spiramycine et l'Oxacilline.

Pour la Tétracycline la résistance est de 77,77% supérieure à celle rapportée par (BOULET *et al*, 2005 et MESSADI *et al*, 1999) 23%, (MEKONNEN *et al*, 2005) 25%, (ACHACHE 1982) 26,6% (RAHAL *et al*, 2003) 49,36%.

Pour la Spiramycine, le taux de résistance (11,12%) inférieur à celui de (FOURAR, 2007) 68%, mais la Spiramycine reste très actif contre les *staphylocoques*, avec un grand pourcentage de sensibilité (88,88%), ce qui est inférieur à celle obtenus par (ACHACHE 1982) 100% et concorde avec ceux obtenus par (BOUTET *et al*. 2005) 89,48%.

Pour la Peni G un grand taux de résistance a été enregistré (88,88% des bactéries) ce qui se rapproche de celui rapporté par (RAHAL *et al*, 2003) 78,26%.

b-2- Comparaison des résultats bactériologiques obtenus par la méthode classique et SMC :

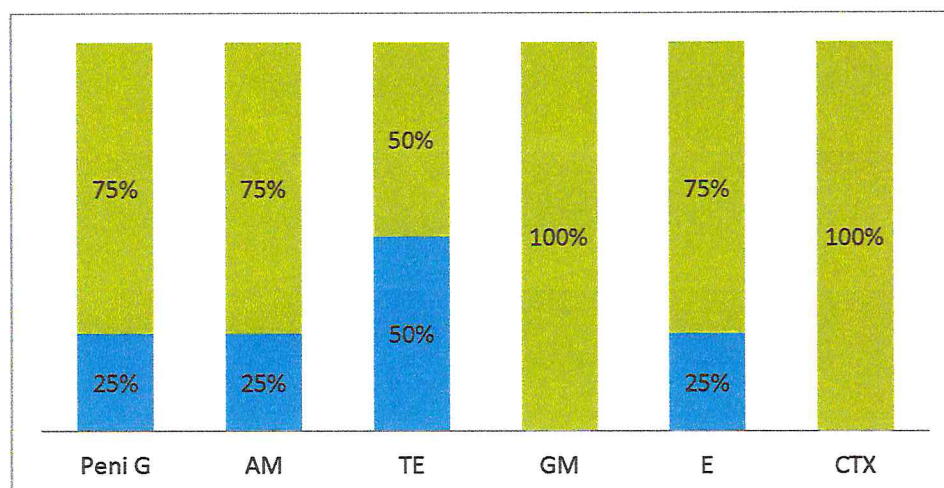
Molécule		Concordance parfaite	Laboratoire (R) SMC (S)	Laboratoire (R) SMC (S)
SP	Nombre	8	1	0
	Pourcentage	88,88%	11,12%	0%

Tableau 11 : Comparaison du profil de sensibilité aux antibiotiques révélés par les deux méthodes pour les *Staphylocoques aureus*

Nous avons enregistré une grande concordance pour la Spiramycine 88,88%.

Une souche bactérienne a présenté une résistance à la Spiramycine par la méthode classique s'est montré sensible avec la méthode rapide.

(MANNER, 2001) a eu des résistances bactériennes qui se sont révélés sensibles par la méthode rapide, en expliquant que le Spiramycine après injection parentéral se concentre plus fortement dans le lait que dans le sang.

c- Streptocoques :**Graph 5:** les antibiogrammes des Streptocoquesc-1- Interprétation et discussion :

Dans le Graphique (05) l'antibiogramme des *Streptocoques* s'est révélé résistant à la tétracycline, la Peni G, l'Ampicilline et l'Erythromycine à des pourcentages différents, tandis qu'ils sont sensibles à la Gentamycine et à la Cefotaxime.

Pour Ampicilline 25% de résistance qui est supérieur à celui rapportée par (ACHACHE, 1982) 16,6%.

Pour la Tétracycline 50% de résistance, ce taux est supérieur à celui rapporté (ACHACHE, 1982) 33,33% et proche de celui rapporté par (MEKONNEN et al. 2005) 45%.

Pour la Peni G 25% de résistance, ce taux est inférieur à celui présenté par (GHOURI, 2005) 100%.

c-2- Comparaison des résultats bactériologiques obtenus par la méthode classique et SMC :

Molécule		Concordance parfaite	Laboratoire (R) SMC (S)	Laboratoire (S) SMC (R)
GM	Nombre	2	0	2
	Pourcentage	50%	0%	50%

Tableau 12 : Comparaison du profil de sensibilité aux antibiotiques révélés par les deux méthodes

Pour les *Streptocoques* la concordance parfaite est de l'ordre de 50%.

SMC a révélé une souche résistante à la Gentamycine tandis que la méthode classique la donne sensible.

La même chose a été noté par MANNER avec un pourcentage différent.

GANIERE montre que pour 4 souches de *Streptococcus uberis*, la CMB de la Gentamicine est jusqu'à 32 fois supérieure dans un milieu contenant du lait. (MANNER, 2001)

Conclusion :

Le test rapide est bien adapté à la réalité du terrain que sa soit en terme de rapidité ou en terme de molécules d'antibiotiques utilisées.

Malgré un grand taux de concordance parfaite, un risque de donner un résultat faux positif (cas de la Gentamycine) ou faux négatif (cas de la Spiramycine) existe.

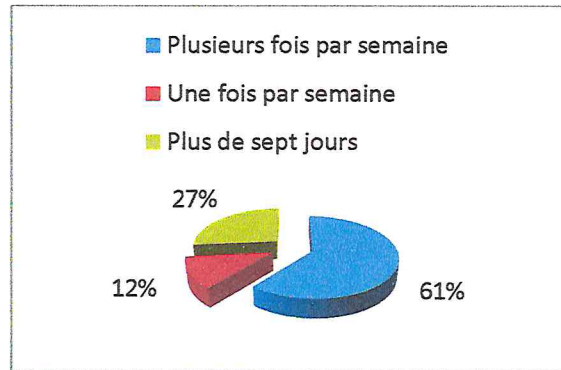
Nous concluons que son utilisation et les résultats obtenus peuvent être pris en considération.

LE QUESTIONNAIRE

V. Le questionnaire :

On a distribué 150 questionnaires aux vétérinaires dans les régions de Tizi-Ouzou, Bouira, Médéa et Blida, mais on n'a pu récolter que 64, dont voici les informations obtenues :

1) Votre intervention en élevage laitier :

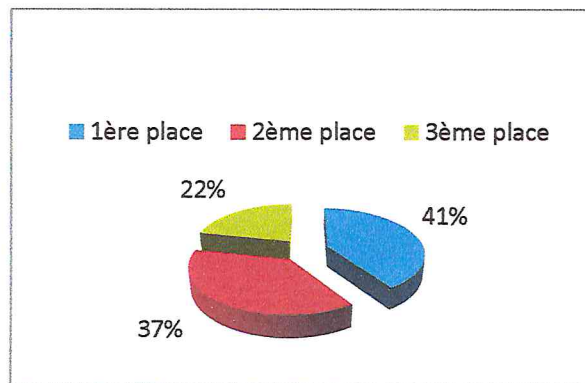


Graph 6: fréquence d'intervention en élevage laitier

Interprétation :

Selon le graphique (6) plus de la moitié des vétérinaires (61%) interviennent plusieurs fois par semaine en élevage laitier.

2) En élevage laitier, les mammites cliniques occupent :

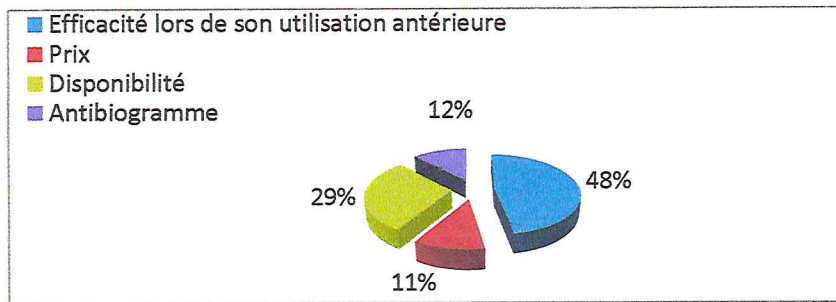


Graph 7: Importance des mammites cliniques

Interprétation :

D'après le graphique (7), 41% des vétérinaires estiment que les mammites cliniques occupent la première place en élevage laitier.

3) Le choix de l'intra mammaire se base sur:



Graphe 8: Critères du choix de l'antibiotique

Interprétation :

Il ressort du graphique (8) que le premier critère de choix de l'antibiotique se base sur l'efficacité lors de son utilisation antérieure.

4) Rencontrez vous des échecs après traitement?



Graphe 9: Pourcentage des vétérinaires qui rencontrent des échecs

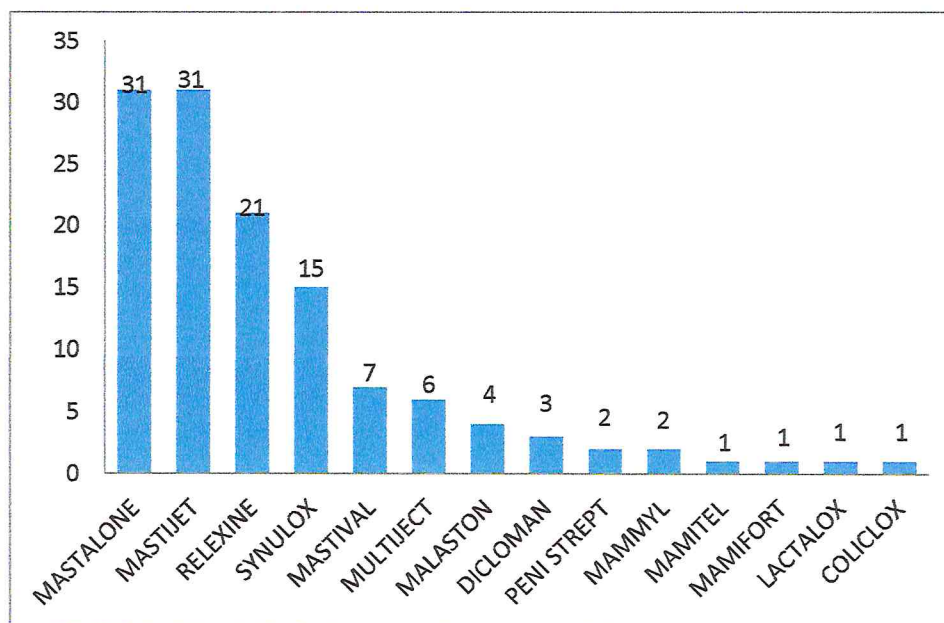
Interprétation :

Selon le graphique (9), 95% des vétérinaires reconnaissent un échec dans les traitements des mammites.

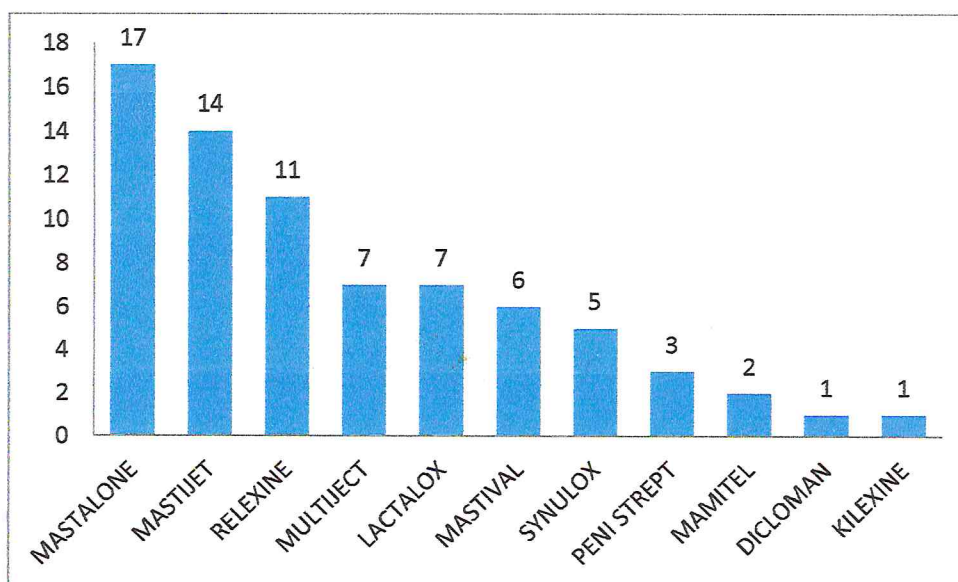
Si oui, quelle est votre conduite ?

- Refaire un autre intra-mammaire ;
- Faire un traitement généralisé ;
- Prolonger le traitement ;
- Réaliser un antibiogramme ;
- En cas de proximité du tarissement, faire le tarissement.

**5) Quels sont les intra mammaires les plus utilisés dans les cas suivants :
(nom du médicament)**



Graphe 10: les intra-mammaires utilisés en cas des mammites cliniques

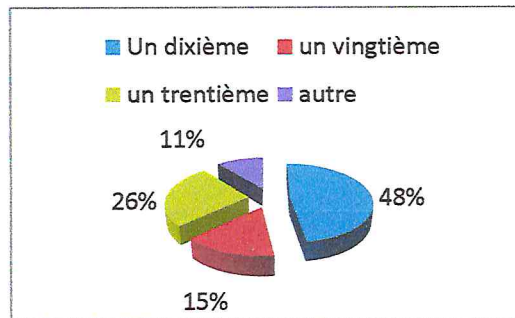


Graphe 11: les intra-mammaires utilisés en cas de mammites sub-cliniques

Interprétation :

Par comparaison entre le graphe (10) et (11) les mêmes intra-mammaire sont utilisés pour traiter les mammites cliniques et sub-cliniques

6) Que représente le volume des intra mammaires utilisés en période de tarissement par rapport à ceux utilisés en période de lactation :

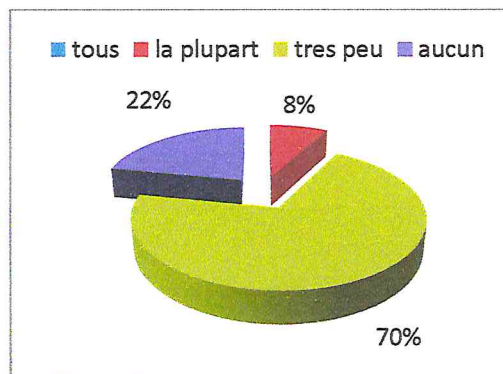


Graphe 12: taux des intra-mammaires hors lactation par rapport au intra-mammaires en lactation

Interprétation :

D'après le graphique (12), 48% des vétérinaires interrogés admettent que pour un intra-mammaire utilisé au tarissement, dix sont utilisés en lactation

7) D'après vous, les éleveurs connaissent-ils les mammites sub-cliniques ?

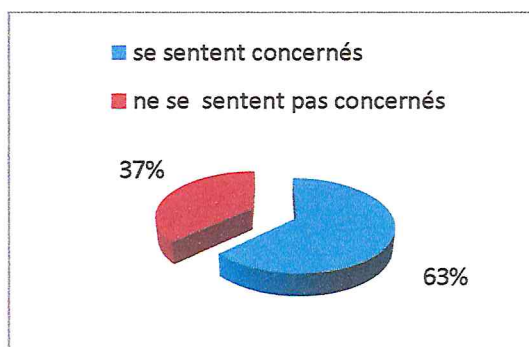


Graphe 13: pourcentage des éleveurs qui connaissent les mammites sub-cliniques

Interprétation :

D'après le graphique (13), 70% des vétérinaires déclarent que très peu d'éleveurs connaissent les mammites sub-cliniques

8) Quand vous les informez

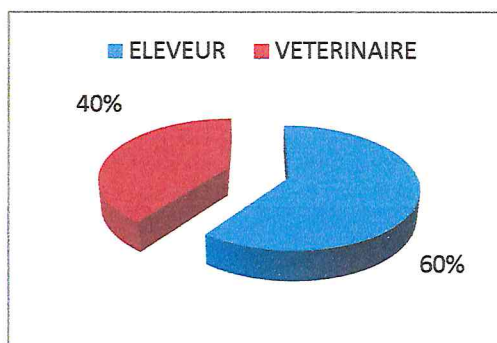


Graph 14: comportement de l'éleveur quand le vétérinaire l'informe sur les mammites sub-cliniques

Interprétation :

D'après le graphique (14), 63% des éleveurs se sentent concernés quand les vétérinaires les informent sur les mammites sub-cliniques

9) Le traitement est-il réalisé par :

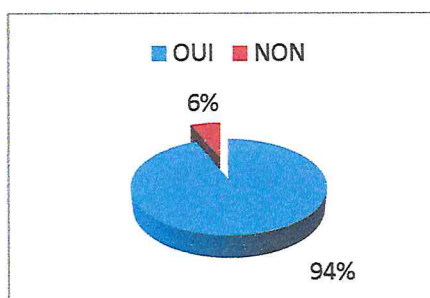


Graph 15: pourcentage de réalisation du traitement intra-mammaire par l'éleveur

Interprétation :

D'après le graphique (15), 60% des traitements sont réalisés par les éleveurs

10) Si l'éleveur administre le traitement, est- il mené jusqu'au bout ?



Graphique 16: pourcentage des éleveurs qui poursuivent le traitement jusqu'au bout

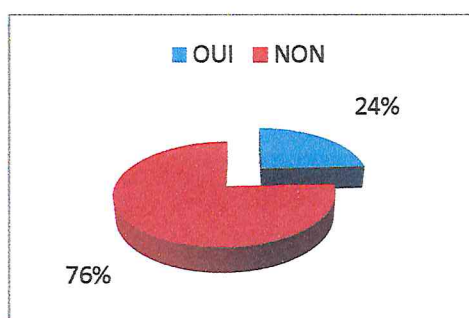
Interprétation :

Selon le graphique (16), 94% des éleveurs mènent le traitement jusqu'au bout

***Comment le savez-vous ?**

- il n'a pas intérêt à arrêter le traitement
- y a pas moyen de savoir

11) Faites-vous appel au laboratoire ?

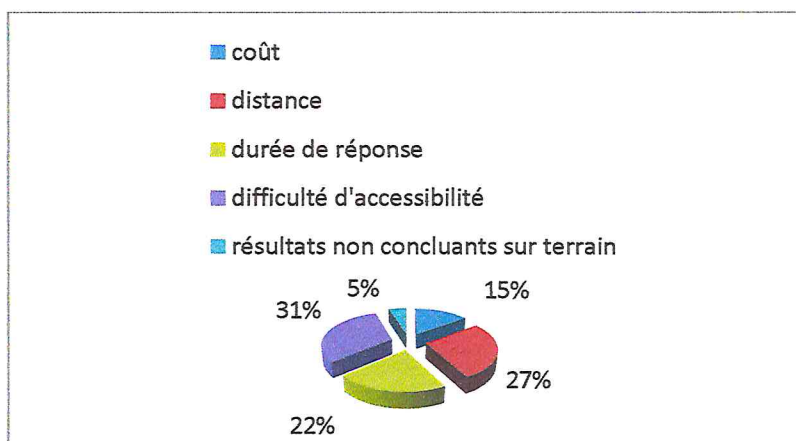


Graphique 17: pourcentage des vétérinaires qui font appel au laboratoire

Interprétation:

Il ressort du graphique (17), que la plupart des vétérinaires interrogés ne font pas appel au laboratoire (76%)

12) Si vous ne le faites pas, pourquoi ?

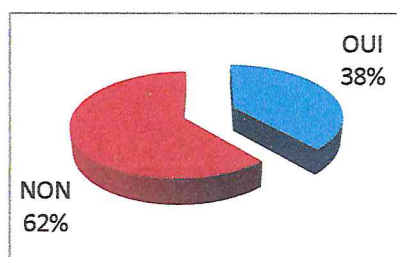


Graph 18: les causes qui empêchent le vétérinaire de faire appel au laboratoire

Interprétation :

La distance et la durée de réponse représentent les causes les plus évoquées par le vétérinaire (49%) lorsqu'il ne fait pas appel au laboratoire.

13) Est-ce que vous avez déjà entendu parler des kits rapides d'antibiogramme ?

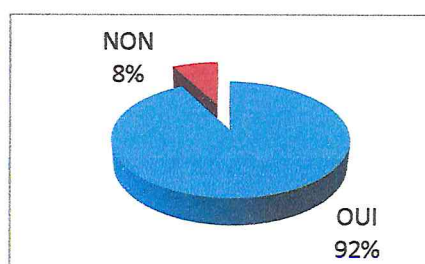


Graph 19: pourcentage des vétérinaires qui connaissent les kits rapides d'antibiogramme

Interprétation :

Il ressort du graphe (19), que 62% des vétérinaires n'ont pas entendu parler des Kits

14) Êtes-vous intéressés par les kits?

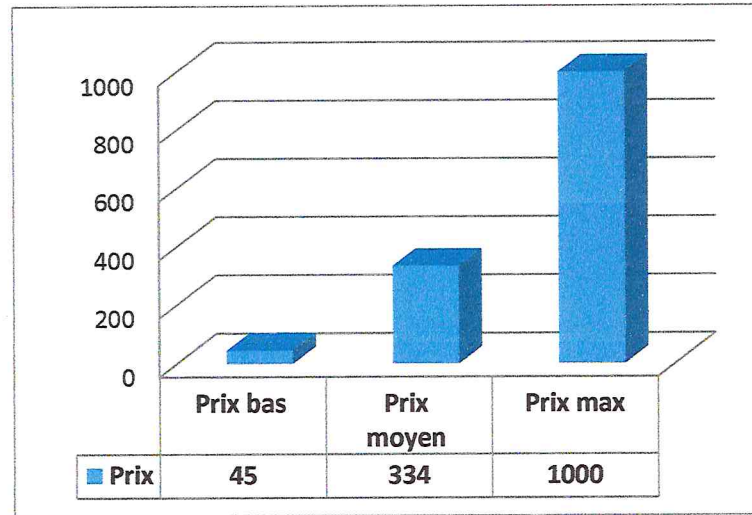


Graph 20: pourcentage des vétérinaires intéressés par les kits rapides d'antibiogramme

Interprétation :

Il ressort du graphe (20), que 92% des vétérinaires sont intéressés par ce Kit

15) D'après vous, quel est le prix idéal pour que ce Kit soit vulgarisé auprès des vétérinaires?



Graph 21 : prix proposés par les vétérinaires

Interprétation :

Il ressort du graphe (21), que le prix moyen proposé par les vétérinaires est de 334DA

Discussion :

D'après le questionnaire 95% des vétérinaires interrogés connaissent des échecs de traitement, alors que la plupart des antibiotiques que nous avons testés au laboratoire étaient actifs sur les souches isolées.

Cela nous renvoie vers les conditions de réalisation du traitement, vu que 60% des traitements intra-mammaires sont réalisés par l'éleveur.

Ainsi, (FABRE *et al*,1996) ont mis en évidence que pour les mammites cliniques, essentiellement traitées par voie locale, seulement 65,2% des éleveurs réalisent le traitement tel qu'il est indiqué par le fabricant, alors que 32,6% modulent le traitement en fonction de la gravité et 2,2% ne font jamais le traitement complet seulement 48% des éleveurs de cette dernière enquête identifiaient systématiquement les vaches traitées..

En dernier lieu cet échec peut être d'une part dû à un défaut de choix de molécule, puisque 76% des vétérinaires ne font pas appel au laboratoire et parmi les critères de choix de l'antibiotique seulement 12% choisissent l'antibiogramme comme critère,

D'autre part, 5% des vétérinaires déclarent des résultats non concluants sur le terrain malgré la réalisation de l'antibiogramme et cela peut être du à la forme galénique utilisée et le problème de biodisponibilité des molécules, rarement dus à un phénomène de résistance de la bactérie.

Cependant, de récentes études (ERSKINE RJ *et al*, 2002), (GUERIN-FAUBLEE *et al*, 2003), (MAKOVEC JA *et al*, 2003), (PENGOV A *et al*, 2003) menées sur l'action des antibiotiques vis-à-vis des principaux germes responsables d'infections mammaires, ont montré que ceux-ci demeurent majoritairement sensibles aux principaux antibiotiques utilisés pour le traitement des mammites. (PENGOV A *et al*,2003), arrivent à la conclusion que l'antibiorésistance ne peut expliquer les échecs thérapeutiques des mammites dus notamment aux souches de *Staphylococcus aureus* qui sont responsable des mammites les plus difficiles à guérir.

La plupart des vétérinaires interrogés avouent être intéressés par les Kits rapides, mais la plupart (62%) disent ne pas connaître les Kits rapides de réalisation d'antibiogramme.

Seul son prix représente un inconvénient (**500 DA**) sachant que le prix proposé par les vétérinaires est de (**334 DA**) mais demeure toujours inférieur au prix lors du recours à la méthode classique (**3000 DA**), cet inconvénient peut être réglé en enlevant les puits des bactéries sans intérêt immédiat pour le vétérinaire.

70% des éleveurs ne connaissent pas les mammites sub-cliniques, d'où le faible taux de traitement au tarissement (1/10), mais 63% des éleveurs se sentent intéressés quand les vétérinaires les informent, ce qui nécessite un travail de vulgarisation et de sensibilisation auprès de ces derniers.

Conclusion générale:

Tout au long de notre étude qui a duré près de deux années, nous avons traité 50 prélèvements de laits mammitiques de vache provenant de différentes régions du centre de l'Algérie avec la méthode classique d'isolement et d'antibiogramme et avec la méthode rapide, notre travail a été complété par une enquête auprès des vétérinaires praticiens, ce qui nous a permis de conclure:

- ❖ Le *Staphylococcus aureus* représentent la bactérie la plus isolées dans nos prélèvements (38%), suivi d'*E. coli* (36%) et de *Streptococcus uberis* (20%), il y a lieu de constater que les échecs thérapeutiques ne sont pas à la mesure des résistances isolées au laboratoire.
- ❖ La résistance révélée au laboratoire ne peut pas expliquer les échecs mais une utilisation anarchique des antibiotiques et le non respect des règles de l'antibiothérapie dans le traitement des mammites conduit souvent à un échec du traitement (95%), sans qu'il y ait forcément une résistance de la bactérie
- ❖ La fiabilité du Kit rapide a été constatée dans nos résultats et son prix représentent une sérieuse perspective pour le choix de l'antibiotique dans le traitement des mammites.
- ❖ Un manque important de formation continue, et d'information des vétérinaires sur les services qu'offrent les Laboratoires Vétérinaires Régionaux, et sur les nouveautés présentes sur le marché des matériels vétérinaires, tels que les Kits rapides d'antibiogrammes.
- ❖ L'absence de concordance de la gamme d'antibiotiques testés au niveau du laboratoire avec celle utilisée sur terrain (antibiogramme non adapté aux molécules présentes sur le terrain), et l'absence de données fiables sur le profil de résistance des germes aux antibiotiques en Algérie, nous prive d'une base sur laquelle on peut entreprendre un travail de sensibilisation et d'information des vétérinaires.
- ❖ Le défaut de sensibilisation et de formation des éleveurs témoigne du faible pourcentage de la prévention (traitement au tarissement),

A notre avis l'échec du traitement ou de l'antibiorésistance n'est pas la cause mais la conséquence d'un échec du système d'élevage traditionnel basé sur des pratiques non adaptées aux objectifs d'un élevage moderne, d'où l'importance de la formation des éleveurs.

Recommandations :

- ❖ Accessibilité aux laboratoires :
 - Rapprochement du laboratoire et de l'information au profit des vétérinaires, en installant ce genre de structure à travers les différentes régions du pays et les rendre accessibles à tout moment.
 - Adaptation de l'antibiogramme en fonction de la pathologie et des antibiotiques utilisés sur terrain.
 - Centralisation des données enregistrées dans les laboratoires régionaux et la création d'un centre de suivi de la résistance des germes, afin de mieux étudier ce phénomène et de proposer des solutions.

- ❖ Pour les vétérinaires :
 - Assurer la formation continue
 - Etudier la possibilité de subvention des kits rapides d'antibiogramme

- ❖ Pour les éleveurs :
 - Sensibilisation des éleveurs sur la question de la gestion des élevages et l'hygiène de la traite.
 - Formation des éleveurs sur la détection des mammites sub-cliniques et les sensibiliser sur les risques du non respect des règles du traitement et des délais d'attente.

XIV- Références bibliographiques:

- **ACHACHE, S. (1982).** Choix de l'antibiotique dans le traitement des mammites bovines. Etude bibliographique du sujet, suivie d'une étude pratique de quelques prélèvements de lait mammitieux dans la région d'Alger. Thèse pour l'obtention du diplôme de Docteur Vétérinaire. 131 p.
- **ALEXANDRE, A. (2005).** Utilisation des comptages cellulaires dans la comparaison de deux préparations hors-lactation. Thèse de diplôme de Docteur Vétérinaire. Université Claude-Bernard - Lyon1. 94 p.
- **AMYES SGB. TOWNER KJ.** trimethoprim- resistance ;epidemiology and molecular aspets. *J Med microbial* 1990; 31:1-19.
- **ARGENTÉ, G., LARDOUX, S., LE BERRE, K et LABBE J-F. (2005).** Valeur de l'observation clinique des symptômes simples de mammite pour prédire les bactéries en cause. *Bull. Group. Tech. Vét.*, 32, 39-46.
- **AZELE FERON.** Bactériologie a l'usage des Etudiants en Médecine 1989.
- **BARKENA, H.W., SCHUKKEN, Y.H., LAM T.G.M., BEIBOER, M.L, BENEDICTUS, G et BRAND, A. (1997).** Incidence of clinical mastitis in dairy herd in three bulk milk somatic cell count cohort. *Epidémiologie et santé animale*, 31-3205-06, 15, 1.
- **BARONER, 1990.** Anatomie comparer des mammifères domestiques tome 4. Splanchnologie II ed. vigot, PARIS.
- **BENELKADI K** " Industrie du lait en Algérie. Un Marche de 1,7 milliard de litres", *Mag Vet*, N° 50, (Avril - Mai 2005), 23 - 23.
- **BERG, C. (2001).** Infections intramammaires des vaches laitières en fin de lactation : Nature et sensibilité aux antibiotiques des bactéries pathogènes isolées. Thèse de Doctorat Vétérinaire, ENV Nantes, 101p.
- **BERGER-BACHI B.** Genetics of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* .J *Antimicrob Chemother* . 1989 : 23: 671-680.
- **BEROUAL, K. (2003).** Caractérisation des germes d'origine bactérienne responsables des mammites bovines dans la région de la Mitidja. Mémoire de Magister. ISV. Université de Blida, 134p.

- **BERTHELOT X. BERGONIER D. (1993)**, mammites et qualité du lait chez les bovins. *Le point vétérinaire*, 25, 155,103-111

- **BLOOD, D.C et HENDERSON, J.A. (1976)**. Médecine Vétérinaire. 2ème édition française d'après la 4ème édition anglaise. Vigot frères. Paris, 295 - 297.

- **BOUCHOT, M.C., CATEL, J., CHIROL, C., GANIÈRE, J.P et LE MENEZ, M. (1985)**. Diagnostic bactériologique des infections mammaires des bovins. *Recueil Médecine Vétérinaire* ; 567-576.

- **BNU HOI A . Cocci a gram positif et macrolides lincosamides streptogramines.**
In :Courvalin Goldstein , Philippon , Sirot Eds. (l'antibiogramme) 1985 ; 41-48 MPC Vidéom ,Paris.

- **BOUAZIZ, O. (2001)**. Prévalence des différents germes responsables des mammites cliniques de la vache dans l'est algérien. SIPSA (Mai 2001). Laboratoire de Recherche de Pathologie Animale de Développement des Elevages et Surveillance de la chaîne alimentaire de D.A.O.A.

- **BOUTET, P., DETILLEUX, J., MOTKIN, M., DELIEGE, M., PIRAUX, E., DEPINOIS, A., DEBLIQUY, P., MAINIL, J., CZAOLICKI, G et LEKEUX, P. (2005)**. Comparaison du taux cellulaire et de la sensibilité antimicrobienne des germes responsables de mammite subclinique bovine entre les filières conventionnelle et biologique. *Ann. Méd. Vét*, 2005, 149, 173-182.

- **BRUNSCHWIG P.** « Les conditions d'élevage et d'alimentation des troupeaux laitiers algériens utilisant des génisses françaises importées ». Rapport de mission, (Juillet 2004). Institut de l'élevage. 33 p.

- **CHASTANT, S., MIALOT, J.P et REMY, D. (2002)**. Les mammites chez les bovins. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Reproduction Animale. 113 p.

- **CHOPRA I . Antibiotic resistance resulting from decreased drug accumulation .British Med Bull 1984 ; 40 : 11-17.**

- **CHOPRA I** .Mechanisms of resistance to antibiotics and other chemotherapeutic agents .J Appl Bacterial 1988; Symposium Suppl : 149-166.
- **CULLEN, G.A. (1966)**. Cells in milk. Veterinary Bulletin, 36, 337 - 346.
- **DERIVAUX J, ECRORS F**. « Physiologie de la gestation et obstétrique vétérinaire». Les éditions Point vétérinaire, (1980), p 273.
- **DESCÔTEAUX, L. (2004)**. La mammite clinique. Stratégie d'intervention. Symposium sur les bovins laitiers. Catalogue des publications du: CRAAQ.
- **DOSOGNE H., ARENDT J., GABRIEL A., BURVENICH C**. « Aspects physiologiques de la sécrétion laitière par la mamelle bovine ». *An. Méd. Vét.* (2000), 144, 357 - 382.
- **DU PREEZ JH**. Bovine mastitis therapy and why it fails. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 2000, 71 (3), 201-208.
- **ENRIQUEZ B**. Les antibiotiques en médecine vétérinaire. Pharmacie et Toxicologie expérimentales et cliniques : notions générales sur les antibiotiques, les antibiotiques antibactériens, les antibiotiques antifongiques. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Pharmacie et Toxicologie. 2002, 157p.
- **ENRIQUEZ B**. Sulfamides, quinolones, nitrofuranes et nitroimidazolés à propriétés antibactériennes. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Pharmacie et Toxicologie. 2002, 70p.
- **ESPINASSE J**. Antibiothérapie et antibioprévention chez les bovins. *Rec.Méd.Vét.*, 1983, 159 (6), 549-559.
- **FABRE JM, BAZIN S, FAROULT B, CAIL P, BERTHELOT X**. Lutte contre les mammites: résultats d'une enquête réalisée auprès de 1038 élevages français. *Bull. Group. Tech. Vét.*, 1996-2-B.-517, 13-16.

- **FABRE, J.M., MORVAN, H., LEBREUX, B., HOUFFSCHMITT, P.H et BERTHELOT, X. (1997).** Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France, partie 1 : mammites cliniques. *Bull. Group. Tech. Vét.*, 3-B, 17-23.

- **FALLET, D. (1999).** Quelques aspects de l'épidémiologie des mammites cliniques de la vache laitière. Etude bibliographique et résultats d'enquête. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 143p.

- **FAROULT B.** Traitement des infections mammaires à *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* : les questions que se pose le praticien. *Bull. Group.Tech. Vét.*, 1994-2-B.- 475, 13-17.

- **FAROULT, B et LE PAGE, PH. (2006).** Bactériologie et lutte contre les mammites bovines. Bulletin des GTV. N°33-Février : 2006

- **FLANDROIS J-P, CARRET G.** Les antibiogrammes .*Gazette Médicale* .1990.97.63-66.

- **FONTANA R .** Penecillin-binding proteins and the intrinsec resistance to B-lactams in Gram positive cocci .*J Antimicrob Chemother* 1985; 16: 412-416.

- **FOURAR Nabil, Belkacem Yasmine.** Dépistage et diagnostic bactériologique et électrophorétique des mammites sub-clinique. PFE Blida **2007**

- **GEDILAGHINE, V. (2005).** La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action GTV partenaire dans le département de la manche. Thèse de diplôme de Docteur Vétérinaire. ENV Alfort.

- **GHOURI, I. (2005).** Etude des mammites subcliniques avec suivi des vaches pendant le tarissement dans la région de la Mitidja. Mémoire de Magister. Option : Reproduction.

- **GRINSTED J .** Evolution of transposable element.*J Antimicrob Chemother* 1986;suppl C 18: 77-83.

- **GUERIN-FAUBLEE V, CARRET G, HOUFFSCHMITT P.** In vitro activity of 10 agents against bacteria isolated from cows with clinical mastitis. *The Veterinary Record*, 2003, 466-471.
- **GUERIN-FAUBLEE V, CARRET G.** L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées Nationales GTV-INRA 1999.
- **GUIMANN L.** Mécanisme de résistance non enzymatique. B-lactamines et épidémiologie de la résistance. *Med Mai Infect* 1980 ; 11 bis : 655-660.
- **HANZEN C.H.** « Pathologie de la glande mammaire de la vache laitière. Aspects individuels et d'élevage », (1999), p163
- **HANZEN C.H.** « propédeutique et pathologie de la reproduction male et femelle, biotechnologie de la reproduction et pathologie de la glande mammaire » . 4^{ème} édition (2000), Université de Liège
- **HANZEN C.H.** «Approche épidémiologique de la reproduction bovine. La gestion de la reproduction. Un problème individuel ou de troupeau». 2ème Doctorat, Chapitre 28, (2005), 24.
- **HANZEN, CH et PULVINAGE, PH. (2008).** La pathologie infectieuse de la glande mammaire approche individuelle.
- **HOLLMANN, K. (1974).** Cytology and fine structure of mammary gland. In LARSON B.L. SMITH.V.R, lactation IA. Comprehensive treatise. Academic Piers. New York. 3.95.
- **HOUFFSCHMITT P.** Lait de mammite : recul sur les analyses bactériologiques après congélation en élevage. *Journées Nationales des G.T.V.*, Tours 2004 :823-825.
- **<http://lycees.ac-rouen.fr/francoisdes/pedagogie/lait/mamelle>.**
- **JARLIER V.** Entérobactéries et B-lactamines.in Courvalin , Goldstein ,Philipo,Sirot ,eds (l'antibiogramme) .1985 ;87-101 MPC.Videom ,Paris.
- **JODI, W. (2007).** Diagnostiquer la mammite, in : Le producteur de lait Québécois, Sept 2007.

- **KAATZ GW , SEO SM Ruble CA** .Efflux-Mediated fluoroquinolone Resistance in *Staphylococcus aureus* .Antimicrob . Agents Chemother 1993 ; 37 : 1086-1094.
- **LEBRET P. BERTHELOT X. PETIT C. (1990)**, connaissances fondamentales. Les infections ammaires de la vache laitière, 1,49 pp

- **LEHTOLAINEN T, SCHWIMMER A, SHPIGEL NY, HONKANEN-BUZALSKI T, PYORALA S.** In vitro antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolates from clinical bovine mastitis in Finland and Israel. *J. Dairy Sci.*, 2003, 86: 3927-3932.

- **LEMOZY J , BISMUTH R , COURVALIN P** . Entérobactéries et aminosides. In : Courvalin Goldstein , Philippon , Sirot ,eds .(l'antibiogramme).1985 :111-125.MPC Videom , Paris .

- **LEVY SB** .Active Efflux Mechanism for Antimicrobial Resistance . Antimicrob Agents Chemother 1992 ;36: 695-703.

- **MAILLARD R.** Les principales familles d'antibiotiques. La dépêche technique, 2002, 80 (Suppl), 3-9.

- **MALOUIN F , BRAYAN LE** . Modification of penicillin binding proteins as mechanisms of N-lactam resistance .Antimicrob Agents Chemother 1986 ;30 :1-5. de médecin vétérinaire. Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin

- **MANNER, Y. (2001)**. Méthode de bactériologie des mammites cliniques. Etude expérimentale d'un test bactériologique rapide : Le Sensi Vet Mam color. Thèse de diplôme de Docteur Vétérinaire. ENV Nantes, 88 p.

- **MARIE CLAUDE CHATELLET.** Ecole vétérinaire d'alfort .Thèse pour le doctoral enquête en Anjou.

- **MEKONNEN, H.S., WORKINEH, M., BAYLEYEGN, A., MOGES et K. TADELE. (2005)**. Antimicrobial susceptibility profiles of mastitis isolates from cows in three major Ethiopian. *Revue Méd. Vét*, 156, 7, 391-394.

- **MILTENBURG, J.D., DE LANGE, D., CRAUWELS, A.P.P., BONGERS, J.H., TIELEN, M.J.M, SCHUKKEN, Y.H et ELBERS, A.R.W. (1996).** Incidence of clinical mastitis in a random sample of dairy herds in the southern Netherlands. *Vet. Rec.*, 139, 204-207.

- **NIKAIDO H .** O₆ter membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance . *Antimicrob Agents Chemother.* 1989; 33: 1831-1836.

- **NOIRETERRE, P. (2006).** Suivis de comptages cellulaires et d'examens bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. Etude expérimentale au centre d'élevage Lucien Bizet de Poisy. Thèse de diplôme de Docteur Vétérinaire. ENV Lyon.

- **PHILIPPON A , PAUL G .Nevot P .**Mécanisme de résistance enzymatique aux B lactamases .*Presse Méd* 1986 ;15 :2290-2295.

- **POL D.** Biologie amusante. Nouvelle série inédite. La découverte des antibiotiques. In : Le site web de Didier Pol. [en-ligne], Mai 2004 (dernière mise à jour avril 2006).Montrouge (Fr). [<http://www.didier-pol.net/1antibio.htm>] (consultée le 2 juin 2006).

- **POUTREL B.** Généralités sur les mammites de la vache laitière : processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. *Rec. Méd. Vét.*, 1985

- **PUYT J-D.** Bases bactériologiques de l'antibiothérapie. In : *Antibiothérapie vétérinaire. Quel avenir ?* : Virbac Editions, 1996, 9-21.

- **RADOSTIS. (1997).** *Veterinary médecine*, Huitième édition.

- **RAHAL, M.K., GUETARNI, D., BEROUAL, K., KEBBAL. S., GHARBI, S., TALIMAAMAR, H et K. RAHAL. (2003).** Aperçu sur la Résistance des germes isolés de mammites bovines, dans la Mitidja. Quels risques pour la santé publique ? et quelles conséquences pour la thérapeutique vétérinaire. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie.* 243 - 249.

- **RESABO. (2001).** Résistance aux antibiotiques en France l'exemple des fluoroquinolones. Sensibilité (%) de *S. aureus* isolés des mammites des bovins. (Réseau RESABO, 1996-2001).

- **REYNOLDS PE .**Resistance of the antibiotic target site .*British Med Rull* 1984 ; 40 : 3-10.

- **SABINE ROBERT-DERNUET**. Antibiotiques Et Antibiogrammes 1995.

- **SANDERS CC , GATES ML , SANDERS WL Jr**. Heterogeneity of class I B-lactamase expression in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1986;32:1893-1895.

- **SANDHOLM M. LOUHI M**. Mammites bovines: pourquoi y a-t-il des limites à l'antibiothérapie ? mammites des vaches laitières- Société Française de Buatrie, 1991, 88-97.

- **SARGEANT, J.M., MORGAN-SCOTT, H., LESLIE, K.E., IRELAND, M.J et BASHIRI, A. (1998)**. Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario: Frequency of occurrence and bacteriological isolates. Can. Vet. J., 39, 33-38.

- **SCHIMITT R**. Molecular Biology of transposable elements. J Antimicrob Chemother 1986; 18.Suppl C:25-34.

- **SERIEYS F**. Abord du traitement des infections à *Str. uberis*. *Point Vét.*, 2003, 34 (239), 36-37. L'antibiothérapie,

- **SERIEYS F**. « Le tarissement des vaches laitières. Une période clé pour la santé, la production et la rentabilité du troupeau ». Editions France Agricole, (1997), P 224.

- **SERIEYS F**. Traitement ciblé des mammites : enjeux et faisabilité. *Point Vét.*, 2004, 35 (246), 54-59.

- **SOLTNER, D**. « La reproduction des animaux d'élevage ». Zootechnie Générale. Sciences et techniques agricoles. Tome 1, (2001).

- **SOUKEHAL, A**. La filière lait en Algérie. Journée Technique FAO - ONUDI (27 Juin 2004), 5 p.

- **VESTWEBER & LEIPOLD HW ; 1994**, symptômes lors de mammites ; modifié d'après Vestweber 1993.

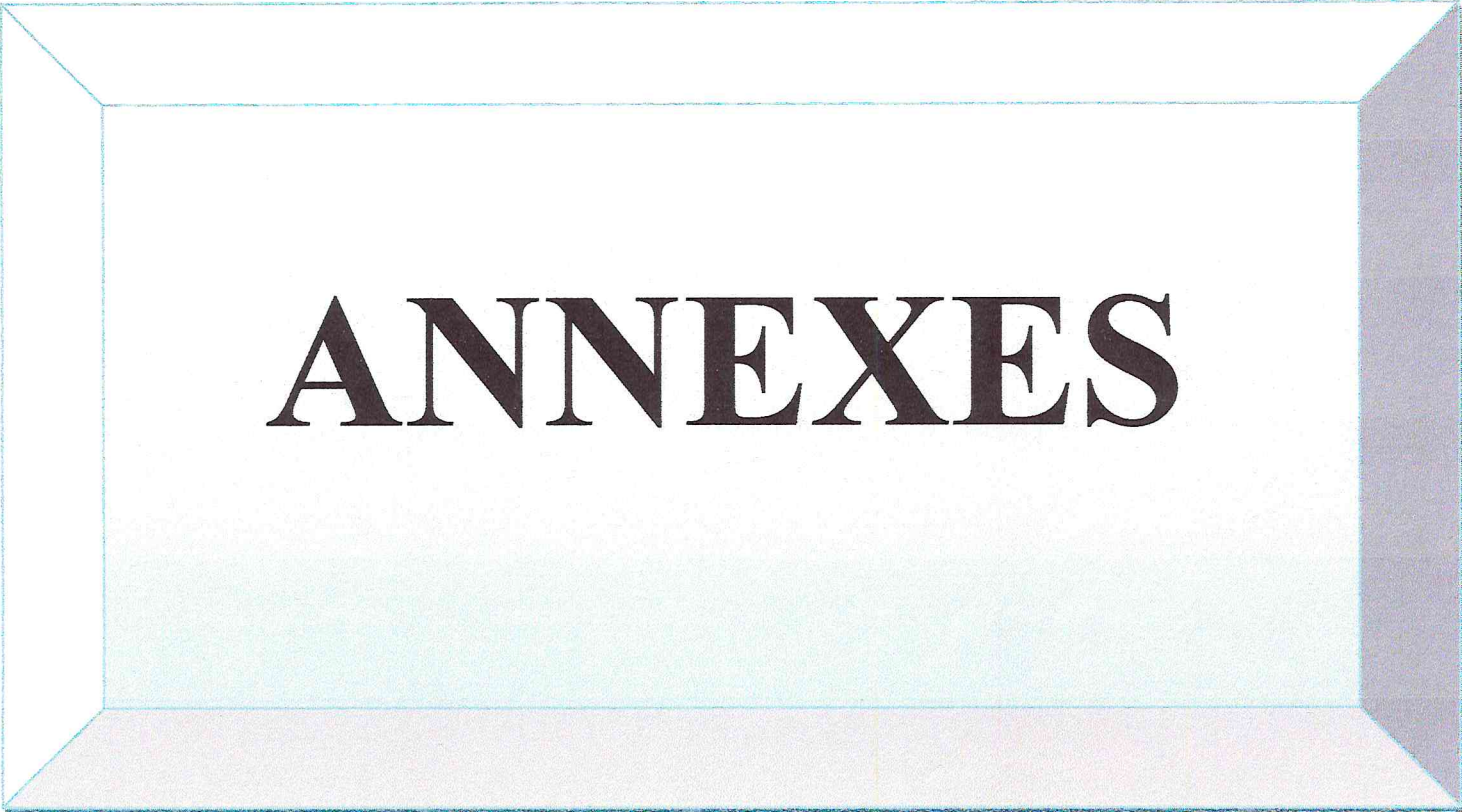
- **VINCEAT S** , MINKLER P, BINEZIEWSKI B , ETTER I , SHLAES DM . Vancomycine Resistance in *enterococcus gallinarum* . Antimicrob Agents Chemother 1992; 36:1392-1399.

- **WATTIAUX M.A.** « Reproduction et sélection génétique. Chapitre 12 : évaluation de la condition corporelle ». (1999).Institut Babcock pour la recherche et le développement international du secteur laitier. University Wisconsin - Madison.

- **WEISEN 1974**, Prophylaxie des mammites, 2, dépistage des mammites. Edition Vigot frères.

- **WIEDEMANN B** , **MEYER JF** , **NIES BA** , **LOW J.** Transposable multiresistance . J Antimicrob Chemother 1985 ; 16 : 416-417.

- **WOODWARD MJ** , **MCLAREN I** , **WRAY C** .Genetic evidence for a chromosomally 15 integrated multiresistance plasmid in *Salmonella* Dublin . J Med Microbiol 1989; 28 : 205-210.


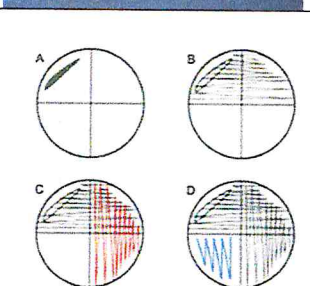
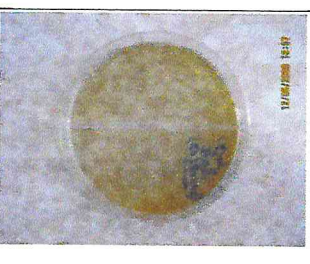
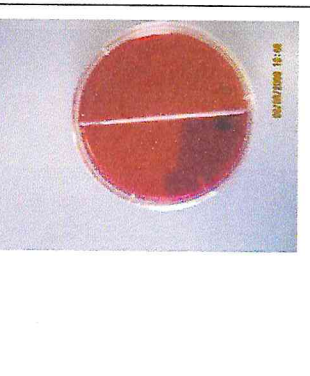
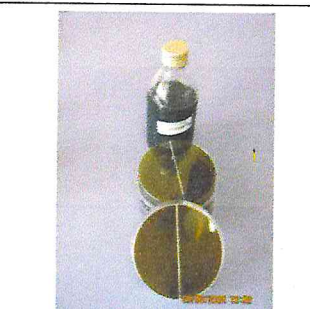





ANNEXES

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

a) milieu de culture :

tableau 1 : caractéristiques des milieux de culture et techniques d'ensemencement


<u>Nom du milieu</u>	<u>Caractéristiques</u>	
Enrichissement (BHIB)	Le milieu BHIB a été utilisé pour l'enrichissement des prélèvements.	
Ensemencement	<ul style="list-style-type: none"> ❖ A} Dépôt de l'échantillon. ❖ B} Stries serrées sur la première moitié. ❖ C} Tourner la boîte à 90°, des stries serrées à nouveau sont effectuées sur la moitié de la boîte. ❖ D} Le dernier quadrant est ensemencé sans entrer en contact avec les quadrants précédents 	
Milieu Muller Hinton	Utiliser comme milieu, un lieu où toutes les bactéries recherchées poussent. Dans le cas où il n'ya pas de pousse bactérienne dans les autres milieux, mais il ya une pousse dans le milieu Muller Hinton, on réensemence à partir de ce milieu afin de corriger une éventuelle erreur d'ensemencement des autres milieux	
Milieu Chapman	Ce milieu contient une base peptonée, un rouge phénol et un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75 g.L^{-1}), ce qui permet un isolement sélectif de <i>Staphylococcus</i> tolérant les fortes concentrations en NaCl. [1] Milieu sélectif et différentiel pour l'isolement des staphylococcus aureus [1]	
Milieu Hektoen	Pour la recherche des entérobactéries.	

<p>BEA :</p>	<p>C'est un milieu sélectif des streptocoques peu exigeants [2].</p>	
<p>Gélose Sabouraud</p>	<p>La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes [2].</p> <p>✓ Incuber à 20 - 25°C de 3 à 5 jours.</p>	
<p>Gélose Pseudomonas :</p>	<p>Fournie par le laboratoire pour l'isolement des Pseudomonas.</p> <p><u>Remarque</u> : la Gélose Sabouraud et la Gélose Pseudomonas sont ensemencée par des stries sur la surface.</p>	

b) Techniques utilisés pour l'identification :

tableau 2 : les différents techniques pour l'identification des bactéries.

<u>Nom de la méthode</u>	<u>Techniques de réalisations</u>
Coloration de Gram	<p><u>But :</u> Permet de diviser les bactéries en 2 groupes : Gram + (celles qui retiennent le violet de gentiane après le lavage à l'alcool), et Gram- (celles qui sont décolorées et prennent ensuite la couleur d'un second colorant).</p> <p><u>Technique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Préparation du frotti : prélèvement par une pipette pasteur ou une anse de platine de quelques gouttes ou une parcelle de la colonie à étudier et la déposer sur une lame propre et l'étaler. ✓ Fixation : Pour tuer les germes, fixer leurs structures cytologiques sans altération et augmenter la perméabilité membranaire aux colorants. Elle peut se faire par la chaleur, l'alcool-Ether ou l'acide osmique. ✓ Coloration proprement dite : Quelques gouttes de solution aqueuse de violet de gentiane sont répandues sur le frotti, puis l'excès du violet est jeté après une minute de contact. Ensuite le frotti est recouvert de lugol de Gram ; cette liqueur prend une teinte mordorée ; on la jette au bout de quelques secondes. ✓ Décoloration : La lame est ensuite décolorée à l'alcool qui sera versé goutte à goutte jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'action décolorante. ✓ Coloration de contraste : Après lavage à l'eau de robinet, le frotti est recoloré à la fushine de Ziehl au 1/10 pendant 1 mn puis lavé à l'eau, séché et examiné par microscope optique à l'immersion par grossissement x 100. ✓ Lecture : Les bactéries Gram + apparaissent en bleu noir et les Gram – en rouge ;
Recherche de la Catalase	<p><u>But :</u> Différencier chez les Cocci Gram + les Staphylocoques des Streptocoques ;</p> <p><u>Technique :</u> Prélever une colonie et la déposer sur une lame propre, puis déposer sur cette colonie une goutte d'H₂O₂.</p> <p><u>Lecture :</u> Dégagement des bulles gaz : La bactérie est Catalase +.</p>
Recherche de la coagulase	<p><u>Technique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - À partir du milieu Chapman déjà ensemencé, prendre une colonie et la mettre dans un bouillon BHIB et l'incuber à 37°C pendant 24 h. - Mesurer dans un tube à essai : 0,5 ml de dilution de plasma de lapin + 0,5 ml du BHIB et l'incuber à 37°C pendant 24 h. <p><u>Lecture :</u> - La coagulation se traduit par la prise en masse du contenu du tube.</p>
Le test à l'esculine	réaliser pour les streptocoques.
Milieu TSI	Milieu qui permet de mettre en évidence l'utilisation des sucres (glucose, lactose, saccharose) ainsi que la production de gaz.

<p>Recherche d'oxydase</p>	<p><u>But :</u> Différencier chez les bacilles Gram - les Entérobactéries des pseudomonas</p> <p><u>Technique :</u> 1. Mettre dans un tube, 1 à 2 ml d'eau physiologique ; 2. Ajouter 1 ml de culture (si le milieu est liquide, sinon faire une suspension bactérienne à partir d'un milieu solide) 3. Ajouter un disque d'oxydase</p> <p><u>Lecture :</u> Coloration rose-violette</p>
<p>Pastorex Strep</p>	<p>Famille de tests d'agglutination sensibles et rapides fournissant l'identification de streptocoques β-hémolytiques appartenant aux groupes de Lancefield A, B, C, D, F et G. L'identification est basée sur le type d'hémolyse (β-hémolyse) entourant les colonies sur une gélose au sang et sur la détection d'antigènes de polysides spécifiques des groupes de la paroi cellulaire. Les antigènes de polysides sont extraits de la paroi cellulaire et leur présence est mise en évidence en utilisant des particules de latex revêtues d'anticorps homologues.</p> 
<p>Mannitol Mobilité</p>	<p><u>Technique :</u> - Le milieu est ensemencé par piqûre centrale unique, ce qui permet d'apprécier en plus de l'utilisation du mannitol, la mobilité du germe.</p> <p><u>Lecture :</u> - Si le milieu prend une coloration jaune : la bactérie est mannitol (+). - Si le milieu reste rouge : la bactérie est mannitol (-). - Si les bactéries sont mobiles, elles se disperseront à partir de la piqûre d'ensemencement créant un trouble dans le milieu, sinon la bactérie est immobile.</p>
<p>ONPG</p>	<p><u>But :</u> Etudier l'existence d'une Béta-Galactosidase chez le germe, donc la possibilité de la fermentation effective du lactose, indépendamment de la perméase bactérienne.</p> <p><u>Technique :</u> La présence d'une Béta-Galactosidase est recherchée chez les bactéries récoltées sur un milieu gélosé lactosé dont les colonies sont mises en suspension dans de l'eau distillée stérile à laquelle est ajouté un disque de papier imprégné d'O.N.P.G. La suspension est mise au bain-marie toutes les 15 mn.</p> <p><u>Lecture :</u> La plupart des réactions donnent une coloration jaune en 15 à 30 mn, mais certaines peuvent être tardives, donc la lecture se fait 24 heures après l'incubation avant de conclure que la réaction est (-).</p>

<p>Test du R.M. (Rouge de méthyle) & Test du V.P. (Voges Proskrover)</p>	<p>a- <u>Test du RM :</u> <u>Technique :</u> A 1 ml de milieu de culture ensemencé et incubé, sont ajoutées quelques gouttes du réactif RM. <u>Lecture :</u> - Si le milieu prend une coloration rouge, son pH est <4,4 : la réaction est RM +. - Si le milieu reste jaune, son pH est = 6 : la réaction est RM -.</p> <p>b- <u>Test du V.P. :</u> <u>Technique :</u> - A 1 ml de milieu de culture ensemencé et incubé, on ajoute 0,5 ml de la solution naphthol et 0,5 ml de la solution de soude, - Agiter le tube dans lequel se déroule la réaction afin de favoriser l'oxydation par l'air. Le temps de réaction est de 15 mn. <u>Lecture :</u> - Si une coloration rouge violacée apparaît en surface : la réaction est VP +. - Si aucune réaction n'apparaît : la réaction est VP-.</p>
<p>Test Urée-indole</p>	<p><u>Technique :</u> La recherche de l'uréase s'effectue par culture sur milieu FERGUSON (milieu Urée-Indole) - Ensemencer les germes dans le milieu FERGUSON avec une anse de platine. - Incuber à l'étuve à 37°C pendant 24 h. <u>Lecture :</u> Si la bactérie possède une uréase et hydrolyse l'urée contenue dans le milieu, la production de NH₃ alcalinise le milieu et fait virer l'indicateur au rouge violacé. Après addition du réactif de Kovacs, formation d'un anneau rouge : indole (+)</p>
<p>ODC, LDC, ADC :</p>	<p><u>Technique :</u> À partir de la suspension bactérienne, introduire dans le milieu de MOELLER-FALKOW quelques gouttes de la suspension et les recouvrir d'une couche d'huile de vaseline (témoin et réaction) stérile ce qui n'autorise que les réactions anaérobies. <u>Lecture :</u> ✓ Si le témoin vire au jaune, continuer la lecture : - S'il y a coloration violette du tube de la réaction, la réaction est positive. - Si le milieu est jaune : réaction négative. ✓ Si le témoin reste violet : la réaction est à refaire.</p>

Identification biochimique des bactéries :

a) *E. coli* :

→ Caractères	Résultat
	s
Production d'indole	+
Voges-Proskrover (VP)	-
Uréase	-
Indole	+
Lysine décarboxylase (LDC)	[+]
Arginine dihydrolase (ADH)	[-]
Ornithine décarboxylase (ODH)	d
Glucose (acidification)	+
Production de gaz	+
Lactose	+
Saccharose	d
D-Mannitol	+
ONPG (B-galactosidase)	+
H ₂ S	-
Rouges méthyle	+

+ → 90 à 100% des souches positives.

[+] → 76 à 89% positives.

d → 26 à 75% positives.

- → 0 à 10% des souches positives.

[-] → 76 à 89% négatives.

b) *Staphylococcus aureus* :

Caractères	Résultats
Catalase	+
Coagulase	+

c) *Streptocoques*

Caractères	Résultats
Catalase	-
Esculine	+
Hémolyse	-
Séro-groupage(Pastorex)	Non groupables et certains groupes D

d) *Pseudomonas* :

Caractères	Résultats
Oxydase	+

II) L'antibiogramme (milieu et technique de réalisation) :

Tableau 3 : les milieux et les techniques de l'antibiogramme.

	<u>Milieu ou techniques de réalisations</u>
Milieu	-Gélose Mueller Hinton (M.H) coulée en boites de pétrie sur une épaisseur de 4mm. -Gélose Mueller Hinton additionnée de 5% de sang de mouton pour les streptocoques
Inoculum	- A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur le milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelque colonies bien isolées et parfaitement identiques. - 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 Mc farland - l'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. -l'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum
Ensemencement	-trempier un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. -L'essorer en le pressant fermement (en tournant) sur la paroi du tube, afin de le décharger au maximum ; -Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées ; -Répéter l'opération deux fois, en tournant la boite à 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 ;
Application des disques d'antibiotiques	-il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boite de pétrie de 90mm de diamètre, les disques d'antibiotique doivent être espacés de 24mm ;
Incubation	18h à 35°
Lecture	Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse et comparer ces résultats aux valeurs critiques.

Tableau 4: le but et les bactéries utilisées pour effectuer le contrôle de qualité

contrôle de qualité	Les bacterie utilisé
<p>Il se fait a chaque début de semaine pour garantir un maximum de fiabilité des résultats</p>	<p>Les contrôles de qualité sont réalisés à chaque début de semaine et a pour but de :</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ La précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité. ❖ La performance des réactifs utilisés dans les tests. ❖ La performance du personnel qui effectue les tests et la lecture ; <p>Pour cela, des souches de références ont été utilisées :</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ Escherichia coli ATCC 25922 ❖ Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 ❖ Enterococcus faecalis ATCC 29212 ❖ Staphylococcus aureus ATCC 25923 <p><u>Remarque</u> : le Ph est contrôlé avant chaque utilisation de nouveau lot de milieu.</p>

III. Test rapide de réalisation d'antibiogramme

III.1. Présentation du test Speed Mam Color (SMC) :

- Kit de (05) tests.
- * **05** étuis de galeries Speed® mam color avec étiquette adhésive individuelle.
- * **05** flacons de milieu de culture.
- * **01** flacon supplément *Staph.*
- * **01** flacon d'huile de paraffine.
- * **05** pipettes stériles.
- * **03** supports de galerie pour la BVTuve.
- * **05** feuilles de résultats pour l'éleveur -Partie Annexe 02-.
- 1 étuve adaptée (BVTuve) fournie par -Bio Vétro Test- sur demande.

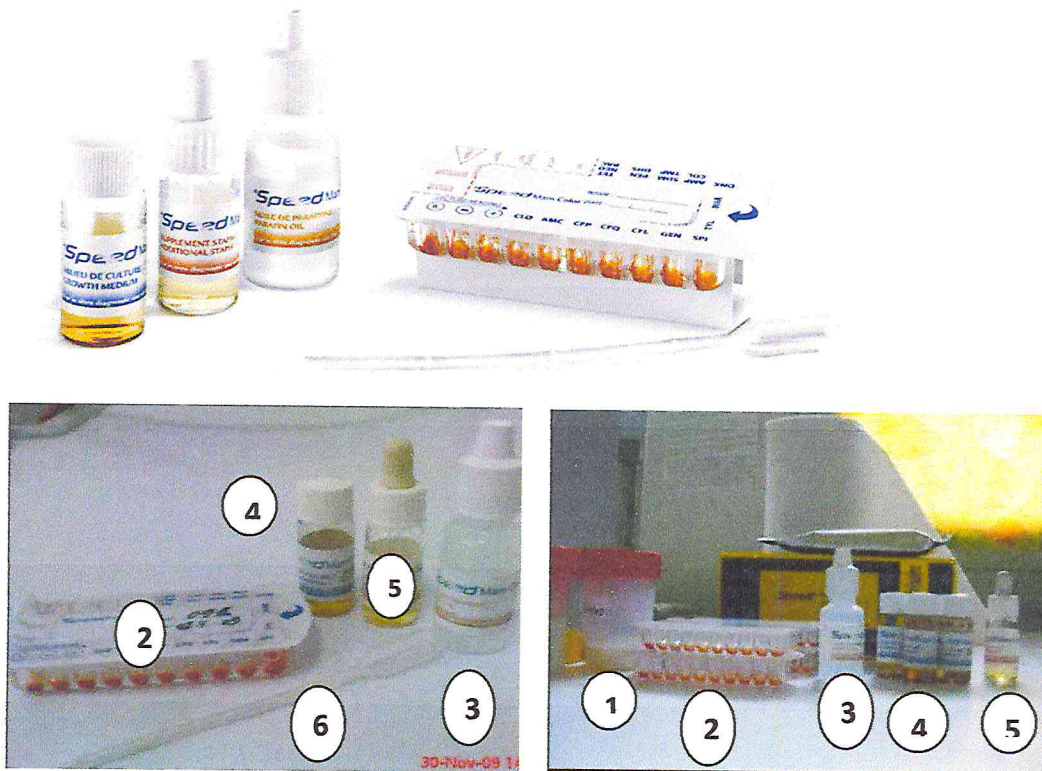


Figure 2: matériels de la méthode rapide

1. Flaçon en plastique contenant le prélèvement de lait mammitieux.
2. Les mini-galeries (Speed® Mam Color).
3. Flaçon d'huile de paraffine.
4. Flaçons de milieu de culture.
5. Flaçon *Supp.Staph.*
6. Pipette.

III.2. Description du test (SMC) :

a- Puits témoins :

Il y a trois puits témoins :

Un premier puits positif, le puits **Incubation Limite**, son virage du rouge au jaune indique le moment à partir duquel la lecture du reste de la galerie peut s'effectuer.

Un second puits négatif ne doit pas changer de couleur (Rouge) ou être moins jaune orangé que le troisième puits témoin.

Un troisième puits (+/-), permet de savoir si l'échantillon est stérile ou non. Si le puits vire du rouge au jaune, le prélèvement n'est pas stérile.

b- Identification de la famille, du genre et de l'espèce bactérienne :

Il y a (07) puits d'identification. Ce test donne la famille, le genre ou l'espèce de (06) types de bactéries.

1 et 2. Deux puits indiquent la présence d'une **Entérobactérie**, l'un des deux puits est spécifique d'*E.coli*, l'autre ne distingue pas les Entérobactéries entre elles. Le puits indique donc indifféremment la présence d'*Escherichia*, de *Klebsiella*, de *Proteus* et de *Serratia*...

3. Un puits indique la présence d'un membre de la famille des : **Staphylocoques**.

4. Un autre de la famille des : **Streptocoques**.

5. Un puits révèle les : **Mycoplasmes**.

6. Un puits révèle les : *Listéria*.

7. Un puits révèle les : *Pseudomonas*.

c- L'antibiosensibilité :

Ce test donne l'antibiosensibilité à (14) antibiotiques ou associations d'antibiotiques.

A deux pénicillines :

- Une Pénicilline du groupe M, la **Cloxacilline** (vaut aussi pour l'**Oxacilline**).
- Une Pénicilline du groupe A, l'**Amoxicilline** potentialisée à l'acide clavulanique.

A trois céphalosporines de 3 générations différentes :

- La **Céfalexine** (1ère génération).
- La **Céfquinome** (Seconde génération).
- La **Céfopérazone** (3ème génération).

A un Aminoside : la **Gentamicine**.

A deux Macrolides : la **Tylosine** et la **Spiramycine**.

A deux Fluroquinolones : la **Danofloxacin**e et la **Marbofloxacin**e.

Et à plusieurs associations :

- **Ampicilline + Colistine**.
- **Pénicilline G + DiHydroStreptomycine**.
- **SulfaDidiMidine + TriMéthoPrime**.
- **Tétracycline + Néomycine + Bacitracine**.

Remarque :

Si l'on se réfère aux règles de : Jawetz, il déconseille l'association de (03) antibiotiques (**Tétracycline, Néomycine, Bacitracine**).

Cette association de trois ATB est l'exception qui confirme la règle. Elle est l'un des leaders du marché, bien connue des praticiens.

Tableau 6 : Les bactéries isolées par la méthode classique et la méthode rapide SMC :

Nom du prélèvement	Méthode classique	Méthode rapide
Prélèvement 1	Staphylocoque	/
Prélèvement 2	E. coli	E. coli
Prélèvement 3	staphylocoque	Staphylocoque - Streptocoque
Prélèvement 4	E. coli	/
Prélèvement 5	Staphylocoque	Staphylocoque
Prélèvement 6	E. coli	/
Prélèvement 7	E. coli	/
Prélèvement 8	Staphylocoque	Staphylocoque - streptocoque
Prélèvement 9	E. coli	E. coli
Prélèvement 10	Staphylocoque – Streptocoque#	Staphylocoque
Prélèvement 11	Staphylocoque- Streptocoque*- E. coli	Staphylocoque-streptocoque- E.coli- listeria
Prélèvement 12	Streptocoque*	/
Prélèvement 13	Pseudomonas	Pseudomonas
Prélèvement 14	Streptocoque*	Streptocoque
Prélèvement 15	Staphylocoque	Staphylocoque
Prélèvement 16	E. coli	E. coli
Prélèvement 17	E. coli	E. coli
Prélèvement 18	E. coli	E. coli
Prélèvement 19	Staphylocoque	Staphylocoque
Prélèvement 20	Staphylocoque	Staphylocoque
Prélèvement 21	Staphylocoque	Staphylocoque
Prélèvement 22	Staphylocoque	Staphylocoque
Prélèvement 23	Streptocoque#	Streptocoque
Prélèvement 24	Staphylocoque	/
Prélèvement 25	E. coli	/
Prélèvement 26	E. coli	E. coli
Prélèvement 27	Staphylocoque	Staphylocoque
Prélèvement 28	E. coli	E. coli
Prélèvement 29	Streptocoque# - E. coli	Streptocoque - E. coli
Prélèvement 30	Streptocoque* - E. coli	Streptocoque - E. coli - Listeria
Prélèvement 31	Staphylocoque – Streptocoque#	Staphylocoque – Streptocoque
Prélèvement 32	Staphylocoque	Staphylocoque
Prélèvement 33	Staphylocoque – streptocoque#	Staphylocoque – Streptocoque
Prélèvement 34	Staphylocoque- E. coli	Staphylocoque- E. coli
Prélèvement 35	Staphylocoque	Staphylocoque
Prélèvement 36	E. coli	/
Prélèvement 37	Streptocoque#	Streptocoque
Prélèvement 38	Streptocoque#	/
Prélèvement 39	E. coli	Perdu
Prélèvement 40	Streptocoque#	Streptocoque

* Streptocoques du groupe D

Streptocoques non groupables

Tableau 7 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour E. coli :

Antibiotique testés	Charge du disque	Diamètre critique (mm)		
		Resistant (R)	Intermédiaire (I)	Sensible (S)
<u>β lactamines :</u> Ampicilline (AM)	10µg	≤13	14 – 16	≥ 17
Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC)	20/10µg	≤13	14 – 17	≥ 18
<u>Céphalosporines :</u> Ceftiofure (XNL)	30µg	≤14	15 – 17	≥ 18
<u>Aminosides</u> Neomycine (N)	30µg	≤12	13 – 16	≥ 17
Gentamycine (GM)	10µg	≤12	13 – 14	≥ 15
<u>Sulfamides</u> Triméthoprime/Sulfathoxacyl (SXT)	1.25/23.75µg	≤10	11 – 15	≥ 16
<u>Tétracycline :</u> Tétracycline (TE)	30µg	≤14	15 – 18	≥ 19
<u>Quinolone :</u> Flumequine (UB)	30µg	≤21	21 – 24	≥ 25
Enrofloxacin (ENR)	5µg	≤8	17 – 22	≥ 23
<u>Polypeptides :</u> Colistine (CS)	10µg	≤8	9 – 10	≥ 11
<u>Phénicol :</u> Cloramphénicol (C)	30µg	≤12	13 – 17	≥ 18

Tableau 8 : Résultats d'antibiogramme obtenus par la méthode classique (pour les E.coli) :

	Nombre			Pourcentage		
	R	I	S	R	I	S
AM	4		3	57,13%		42,85%
AMC	3		4	42,85%		57,14%
XNL			7			100%
GM			7			100%
TE	4		3	57,13%		42,85%
UB			7			100%
ENR			7			100%
SXT			7			100%
N			7			100%
CS			7			100%
C			7			100%
Nombre			56			
%	16,42%		83,58%			

Tableau 9 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les Staphylocoques :

Antibiotique testés	Charge du disque	Diamètre critique (mm)		
		Resistant (R)	Intermédiaire (I)	Sensible (S)
<u>β lactamines :</u> Penicilline (P)	10UI	≤28		≥ 29
Oxacilline (OX1)	1gg	≤10	11 – 12	≥ 13
<u>Macrolide:</u> Erythromycine (E)	15µg	≤13	14 – 22	≥ 23
Spiramycine (SP)	100µg	≤19		≥ 24
<u>Glycopeptide :</u> Vancomycine (VA)	30µg			≥ 15
<u>Quinolone :</u> Enrofloxacin (ENR)	5µg	16	17 – 22	≥ 15
<u>Tétracycline :</u> Tétracycline (TE)	30µg	≤14	15 – 18	≥ 19
<u>Polypeptides :</u> Bacitracine (B)	10µg	≤15		≥ 15

Tableau 10 : Résultats d'antibiogramme obtenus par la méthode classique (pour les Staphylocoques):

	Nombre			Pourcentage		
	R	I	S	R	I	S
P	8		1	88,88		11,11
OX1	4		5	44,44%		55,55%
E			9	0%		100%
SP	1		8	11,11%		88,88%
VA			9	0%		100%
ENR	4		5	44,44%		55,55%
TE	2		7	22,22%		77,77%
UB			9			100%
Nombre	15		42			
%	26,32%		73,68%			

Tableau11 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les Streptocoques :

Antibiotique testés	Charge du disque	Diamètre critique (mm)		
		Resistant (R)	Intermédiaire (I)	Sensible (S)
<u>β lactamines</u> :				
Ampicilline (AM)	10µg	≤		≥ 24
Penicilline (P)	10UI	≤		≥ 24
<u>Cephalosporines:</u>				
Cefotaxime (CTX)	30µg	≤14	15 – 22	≥23
<u>Tetracycline :</u>				
Tetracycline (TE)	30µg	≤18	19 – 22	≥ 23
<u>Macrolide:</u>				
Erythromycine (E)	15µg	≤15	16 – 20	≥ 21
<u>Aminosides :</u>				
Gentamycine (GM)	10µg	≤12	13 – 14	≥ 15

Tableau 12 : Résultats d'antibiogramme obtenus par la méthode classique(pour les Streptocoques) :

	Nombre			Pourcentage		
	R	I	S	R	I	S
P	1		3	25%		75%
AM	1		3	25%		75%
TE	2		2	50%		50%
GM			3			100%
E	1		3	25%		75%
CTX			4			100%
Nombre	5		18			
%	21,74%		78,26%			

Fiche pour inscrire les résultats obtenus par le SMC :

Diagnostic individuel Mammite
 Identification des germes pathogènes et profil de sensibilité aux antibiotiques

Cachet Vétérinaire

Date :

Visite d'élevage de :

Animal :

PROFIL ANTIBIOGRAMME	IDENTIFICATION
----------------------	----------------

	Sensible	Résistant	
CLO : Cloxacilline	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Staphylocoque <input type="checkbox"/>
AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
CFP : Cefopérazone	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Streptocoque <input type="checkbox"/>
CFQ : Cefquinome	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
CFL : Cefalexine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	E. coli <input type="checkbox"/>
GEN : Gentamicine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
SPI : Spiramycine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Entérobactéries <input type="checkbox"/>
TYL : Tylosine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
MAR : Marbofloxacin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Pseudomonas <input type="checkbox"/>
DNX : Danofloxacin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
AMP/COL : Ampicilline + Colistine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Listéria <input type="checkbox"/>
SDM/TMP : Sulfadimidine + Triméthoprime	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
PEN/DHS : Penicilline G + Dihydrostrept.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Mycoplasme <input type="checkbox"/>
TET/NEO/BAC : Tétracycline + Néomycine + Bacitracine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

- TRAITEMENT CONSEILLÉ -

En Lactation :

Au Tarissement :



La Biologie au service de votre Vétérinaire

Réf. X LIASSE SMC VI

Le questionnaire :

Remarque

Prière de cocher les cases correspondantes à la ou aux bonnes réponses en regard de la question :

1) Votre intervention en élevage laitier

- Une fois par semaine
- Plusieurs fois par semaine
- Plus de sept (07) jours

2) En élevage laitier, les mammites cliniques occupent :

- La première place
- La deuxième place
- La troisième place

3) Le choix de l'intra mammaire se base sur:

- Efficacité lors de son utilisation antérieure
- Prix
- Disponibilité
- Après réalisation d'un antibiogramme

4) Rencontrez vous des échecs après traitement:

- Oui
- Non

Si oui, quelle est votre conduite :

5) Quelle sont les intra mammaires les plus utilisés dans les cas suivants : (nom du médicament)

Lors de la mammite sub-clinique :

-
-
-

Lors de la mammite clinique :

-
-
-

- Durée de réponse
- Difficulté d'accessibilité
- Résultat non concluant sur le terrain

13) Est-ce que vous avez déjà entendu parler des kits rapide d'antibiogramme ?

- Oui
- Non

14) Etes vous intéressées ?

- Oui
- Non

15) D'après vous, quel est le prix idéal pour que ce Kit soit utilisé usuellement par le vétérinaire?

Schéma d'identification des bactéries :

