

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida I
Faculté des S.N.V.
Département de Biologie des Populations et Organismes



Mémoire de Master

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master
en Biologie

Spécialité : Reproduction Animale

Thème

**Dépistage et identification des bactéries responsables de
mammites subcliniques bovines autour de la période du
*péripartum***

Préparé par :

SISABER SALIM
KORCHI OTHMANE

Date de soutenance :

27/06/2016

Devant le jury composé par :

SAHRAOUI N.	MCA, Université de Blida 1	Présidente
BOULKOUR S.	MCB, Université de Blida 1	Examinatrice
GHARBI S.	MCA/ISV, Université de Blida 1	Promoteur
BAAZIZE-AMMI D.	MAA/ISV, Université de Blida 1	Co-Promotrice

Année universitaire 2015/2016

RESUME

La mammite bovine est une inflammation de la glande mammaire résultant de l'action de micro-organismes pathogènes très variés. La glande mammaire est très sensible aux infections au début de la période de tarissement et à l'approche du vêlage. La bactériologie permet un diagnostic étiologique précis du micro-organisme en cause. L'objectif de cette étude est d'identifier les principaux germes responsables des mammites subcliniques pendant la période du *péripartum*.

L'étude a été conduite dans 13 exploitations de vache laitières situées dans les wilayas de Tizi-Ouzou et Blida. Elle a porté sur 75 prélèvements de lait de vaches présentant des mammites subcliniques. Les analyses bactériologiques ont permis, d'obtenir 14,66% de cultures négatives, 66,66% de cultures positives et 18,66% de cultures contaminées.

La caractérisation des germes a permis d'identifier 54 souches variées de forme cocci Gram+ et en forme bâtonnet de Gram-. Il a été décelé la présence des Staphylocoques à coagulase négative (27,75%), les Staphylocoques à coagulase positive (*S. aureus*) (12,96%), les Streptocoques (25,91%) et les Entérobactéries (18,50%).

La situation sanitaire du pis dans les élevages laitiers visités fait ressortir une prédominance des mammites subcliniques d'origine environnementale reflétant la mauvaise hygiène de l'environnement des vaches laitières.

Mots clés : Lait, vache, mammite, subclinique, *péripartum*, germe, identification.

ABSTRACT

Bovine Mastitis is an inflammation of the mammary gland resulting from the action of very different pathogenic microorganisms. The mammary gland is very sensitive to infection early in the dry period and near calving. Bacteriology allows precise etiological diagnosis of the microorganism in question. The objective of this study is to identify the main germs responsible for subclinical mastitis during the peripartum period.

The study was conducted in 13 dairy cow farms in the provinces of Tizi Ouzou and Blida. It involved 75 cows milk samples presenting subclinical mastitis. Bacteriological analyzes allowed to obtain 14.66% of negative cultures, 66.66% of positive cultures and 18.66% of infected cultures.

Characterization germs identified 54 different strains of Gram + cocci form and stick-shaped gram. It was detected the presence of coagulase-negative staphylococci (27.75%), coagulase-positive staphylococci (*S. aureus*) (12.96%), *Streptococcus* (25.91%) and Enterobacteriaceae (18.50 %).

The health situation of the udder in dairy farms visited indicated a prevalence of subclinical environmental mastitis reflecting poor environmental health of dairy cows.

Keywords: milk, cow, mastitis, subclinical, *peripartum*, germ, identification.

ملخص

التهاب الضرع هو عبارة عن التهاب يصيب الغدة الثديية و الناتج عن نشاط الكائنات المجهرية و المسببة لأمراض عديدة ، يظهر هذا الالتهاب خاصة في فترة جفاف الحليب او قروب فترة الولادة ،حيث تصبح هذه الغدة أكثر حساسية

إن الهدف من هذه الدراسة هو تشخيص أهم الجراثيم المسؤولة و المسببة عن هذه الالتهاب تحت السريري حيث يتيح علم الجراثيم في تحديد هذه الكائنات خاصة خلال الفترة حول الولادة

لقد اجرية الدراسة في 13 مزرعة للبقر الحلوب في ولايتي البليدة و تيزيوزو ، و شملت هذه الدراسة 75 عينة لبن تظهر عليها التهاب الضرع تحت الاكلينيكي . أظهرت التحاليل البكتريولوجية المنجزة الحصول على 14.66 %عزلة سلبية ،66.66% عزلة ايجابية و 18.66% عزلة ملوثة (متعددة الجراثيم)

و لقد تم تشخيص ل 54 جرثومة مختلفة في الشكل cocci Gram+ و batonnet Gram- .حيث تم الكشف عن وجود *Staphylocoques à coagulase* السلبية وذلك بمعدل نسبة 27.75 % و *Les Staphylocoques à coagulase* الايجابية (*S. aureus*) وذلك بمعدل نسبة 12.96 % ، *Les Streptocoques* و ذلك بنسبة 25.91 % و *Entérobactéries* و ذلك بمعدل نسبة 18.50%.

إن الحالة الصحية للالضرع في مزارع الألبان تظهر انتشار التهاب الضرع البيئي تحت السريرية التي تعكس الحالة الصحية و البيئية السيئة الأبقار.

REMERCIEMENTS

On remercie dieu tout puissant, de nous avoir donné cette envie et cette passion pour la science.

On remercie également, nos encadreurs, promoteur Mr. Gharbi S., Madame Ami et Madame Hezil, de nous avoir guidé et aidé et soutenu.

On tenait à remercier les Jurys du mémoire.

On remercie Madame SAHRAOUI, Maître de conférences, à la faculté de S.N.V, université de Blida 1, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de notre mémoire.

Madame BOULKOUR, Maître assistante, à la faculté de SNV, université de Blida 1, d'avoir accepté de faire partie de notre jury du mémoire.

On remercie chaleureusement, tous nos enseignants et étudiants du master reproduction animale, spécialement à Monsieur Bessaad A. qui nous a ouvert la porte de ce domaine très intéressé.

DEDICACES

On dédie ce modeste travail:

A nos chers parents

A nos frères et sœurs

A tous les membres de nos familles

A tous nos collègues et amis

Sans oublier tous ceux, qui nous ont prodigué leurs connaissances depuis notre tendre enfance à ce jour, qu'ils en soient remerciés et que ceci témoigne de notre reconnaissance éternelle envers eux, aussi on ne terminerai pas sans exprimer notre gratitude à tous ceux qui, de près ou de loin, n'ont pas épargné leurs efforts pour l'élaboration de ce travail de recherche.

Salim : A ma petite famille (les parents, Hichem, Amine, Lamia, Rym et Rym).

Othmane : A mes parents, Mes sœurs Leila et Zineb et Mes freres Zohir et Mohamed.

TABLE DES MATIERES

RESUME.

REMERCIEMENTS.

LISTES DES FIGURES.

LISTE DES TABLEAUX.

INTRODUCTION.....1

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : PHYSIO-ANATOMIE DE LA GRANDE MAMMAIRE DE LA VACHE LAITIERE2

I. La Glande mammaire2

I.1. Anatomie de la glande mammaire.....2

I.1.1. Structure anatomique externe (conformation externe).....2

I.1.2. Structure anatomique interne (histologie)3

I.1.2.1. Tissu tubulo-alvéolaire.....3

I.1.2.1.1. Alvéole (acinus).....3

I.1.2.1.2. Tubules (canaux, sinus).....4

I.1.2.2. Tissu de soutien.....5

I.2. Fonctionnement et mécanisme de synthèse de la glande mammaire.....7

I.2.1. La Lactation7

I.2.1.1. La lactogénèse.....8

I.2.1.2. La galactopoïèse8

I.2.1.2.1. Le lait8

I.2.1.2.2. Le colostrum.....9

I.2.2. Le tarissement (période sèche)9

CHAPITRE II : LES MAMMITES BOVINES

II.1. Définition d'une mammite11

II.2. Types de mammites.....11

II.2.1. Les mammites cliniques11

II.2.1.1. Les mammites aiguës ou suraiguës.....11

II.2.1.2. Les mammites chroniques ou subaiguës.....12

II.2.2. Les mammites subcliniques.....12

II.3. Pathogénie des infections mammaires12

II.3.1. Les sources de contamination.....	12
II.3.2. L'évolution des mammites.....	13
II.4. Etiologie des mammites bovines	14
II.4.1. Les pathogènes majeurs	14
II.4.2. Les pathogènes mineurs	16
II.4.3. Notions de modèles épidémiologiques des mammites.....	16
II.5. Diagnostic des mammites	17
II.5.1. L'examen clinique	17
II.5.2. Diagnostic cellulaire (Numération de la concentration cellulaire somatique du lait)	18
II.5.3. Méthodes directes	18
II.5.3.1. Numération par microscopie	18
II.5.3.2. Numération ou comptage électronique (Coulter, fossomatic).....	18
II.5.4. Méthodes indirectes	19
II.5.4.1. Le Californian Mastitis test.....	19
II.5.5. Diagnostic étiologique des mammites.....	20
II.5.5.1. L'examen bactériologique.....	20
II.5.5.1.1. Méthode classique	20
II.5.5.1.2. Autres méthodes	21
II.6. Importance des mammites bovines	22
II.6.1. Importance médicale	22
II.6.2. Importance économique.....	22
II.6.2.1. Le producteur.....	22
II.6.2.2. Le transformateur.....	23
II.6.2.3. Le consommateur.....	23
II.7. Fréquence des mammites	23
II.7.1. Prévalence des germes responsable de mammites cliniques	23
II.7.2. Prévalence des germes responsable de mammites subcliniques	24
II.7.3. Prévalence des germes responsable de mammites en Algérie	24
CHAPITRE III : TRAITEMENT ET PREVENTIONS DES MAMMITES	
III.1. Le traitement des mammites.....	26
III.1.1. Le moment du traitement	26
III.1.1.1. Le traitement des mammites en lactation (mammites cliniques)	26

III.1.1.2. Le traitement des mammites hors lactation	26
III.1.2. Voie du traitement	27
III.1.2.1. Le traitement parentéral	27
III.1.2.2. Les infusions mammaires	27
III.2. l'échec thérapeutique	27
III.2.1. Rechute	28
III.3. Prévention des mammites	28
III.3.1. Prophylaxie médicale	28
III.3.2. Prophylaxie sanitaire	28
DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE	
I.1. Période de l'étude	29
I.2. Matériel et Méthodes.....	29
I.2.1. Matériel.....	29
I.2.1.1. Matériel Biologique.....	29
I.2.1.2. Matériels non Biologique	29
I.2.2. Méthodes	29
I.2.2.1. Echantillonnage (prélèvement de lait).....	29
I.2.2.2. Examen bactériologique des laits mammites.....	30
II. Résultats	36
II.1. Résultats du dépistage des mammites	36
II.1.1. Répartition des échantillons en fonction de la région d'étude.....	36
II.1.2. Résultats du dépistage en fonction du score de CMT.....	36
II.1.3. Résultats du dépistage en fonction de la position du quartier prélevé.....	37
II.2. Résultats des analyses bactériologiques	38
II.2.1. Répartition des cultures	38
II.2.1.1. Identifications des souches bactériennes isolées	38
II.2.1.2. Identification spécifique, par galeries API	40
II.2.1.3. Répartition des résultats d'analyse bactériologique en fonction de la région d'étude.....	43
II.2.1.4. Répartition des résultats d'analyse bactériologique en fonction du score de CMT.....	47
II.2.1.5. Répartition des résultats d'analyse bactériologique en fonction de la position du quartier prélevé.....	50
II.2.2. L'identification Globale	52
III. Discussion.....	56
CONCLUSION.....	60

RECOMMANDATIONS.....61

Références bibliographiques

Annexes

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Conformation externe d'un pis de vache.....	2
Figure 2: Organisation des lobules.....	3
Figure 3: Organisation d'un alvéole.....	4
Figure 4: Système vasculaire et lymphatique de la mamelle.....	7
Figure 5: Les prélèvements de lait mammitéux.....	30
Figure 6: Protocole expérimental d'identification des germes.....	31
Figure 7: Enrichissement de prélèvement.....	32
Figure 8: Isolement sur gélose au sang.....	32
Figure 9: Ensemencement d'une galerie API.....	34
Figure 10: Lecture macroscopique de la galerie API.....	35
Figure 11: répartition des échantillons en fonction de la région d'étude.....	36
Figure 12: représentation graphiques des résultats des analyses bactériologiques.....	38
Figure 13: représentation graphiques de l'identification préliminaire des souches bactériennes.....	39
Figure 14: Représentation graphique des résultats de l'identification par galerie API Staph.....	41
Figure 15: Représentation graphique des résultats de l'identification par galerie API Strept.....	42
Figure 16: Représentation graphique des résultats de l'identification par galerie API 20 E.....	43
Figure 17: Représentation graphique des résultats de l'identification des souches bactériennes de la région de Tizi-Ouzou.....	45
Figure 18: Représentation graphique des résultats de l'identification des souches bactériennes de la région de Blida	47
Figure 19: Représentation graphique des résultats de l'identification globale.....	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Classification des mammites au sein d'un troupeau.....	17
Tableau 2: Correspondance entre la note du CMT et la numération cellulaire du lait.....	20
Tableau 3: Résultats bactériologiques de quelques études réalisées dans différentes régions d'Algérie.....	25
Tableau 4: répartition des échantillons de lait mammitieux en fonction de la région d'étude.....	36
Tableau 5: répartition des échantillons de lait mammitieux en fonction du score de CMT.....	37
Tableau 6: répartition des échantillons de lait mammitieux en fonction de la position du quartier.....	37
Tableau 7: Résultats de l'identification préliminaire des souches bactériennes.....	39
Tableau 8: Résultats de l'identification par galerie API Staph.....	40
Tableau 9: Résultats de l'identification par galerie API Strept.....	41
Tableau 10: Résultats de l'identification par galerie API 20 E.....	42
Tableau 11: Répartition des souches bactériennes de la région de Tizi-Ouzou.....	44
Tableau 12: identification des souches bactériennes de la région de Blida.....	46
Tableau 13: identification des souches bactériennes en fonction du score de CMT 2.....	48
Tableau 14: identification des souches bactériennes du score de CMT 3.....	49
Tableau 15: identification des souches bactériennes du score de CMT 4.....	50
Tableau 16: identification des souches bactériennes des quartiers antérieurs.....	51
Tableau 17: identification des souches bactériennes des quartiers postérieurs.....	52
Tableau 18: Résultats de l'identification globale des 54 souches.....	53

INTRODUCTION

Le secteur lait a une importance capitale dans l'économie agricole. Il représente une priorité du pays et rentre dans le cadre général de la mise à niveau de l'agriculture avec pour souci d'arriver à une autosuffisance.

Avec un cheptel estimé à 1,9 millions de têtes de bovins, dont près d'un million de têtes de vaches laitières, notre production nationale (toutes espèces confondues) en lait est estimée à 2,5 milliards de litres /an (assurée à 73% par un cheptel bovin laitier), alors que les besoins se chiffrent à plus de 4,5 milliards de litres/an, ce qui montre un déficit de près de 60% (M.A.D.R, 2014).

De ce fait, l'Algérie a recours chaque année à l'importation de poudre de lait pour combler le déficit, dont le montant représente plus du quart de la facture réservée aux importations (soit 800 millions de Dollars) (M.A.D.R, 2014).

Les différentes contraintes qui entravent le développement de la production nationale de lait, se résument à (Kaouche *et al*, 2015) :

- L'alimentation, c'est-à-dire l'insuffisance de la production fourragère qui n'assure que 52% des besoins du cheptel.
- La prédominance de troupeaux de faible taille, c'est-à-dire les élevages hors sol et le faible niveau de technicité des éleveurs.
- Les problèmes zoo-sanitaires et de reproduction.

En effet, la maîtrise de la reproduction constitue un facteur essentiel dans la gestion économique d'un élevage. Cependant, l'amélioration des performances de la reproduction nécessite d'abord de mettre en évidence les obstacles qui freinent son essor. Ces obstacles sont multiples qui englobent prioritairement la nutrition, la génétique, la détection des chaleurs, la prévention des affections du post-partum (Hanzen, 2007).

L'une des principales affections du post-partum qui influence les paramètres de la reproduction est « La mammite ». Cette dernière est considérée comme l'une des pathologies les plus fréquentes et coûteuses affectant les vaches laitières (Bradley, 2002 ; Dumas *et al.*, 2004 ; Boutet *et al.*, 2005). La mammite constitue une pathologie importante des élevages bovins laitiers Algériens puisqu'elle concerne pratiquement une vache sur deux (50,6%) (MADR, 2002). L'impact économique de cette maladie d'élevage est estimé entre 5 et 26 euros par vache et par an (Rychembush, 2005). Les conséquences de la mammite sont de nature diverse, selon qu'elles concernent le producteur (éleveur) ; le transformateur (laiterie) et le consommateur (Halasa *et al*, 2007).

La mammite subclinique au tour du vêlage est la plus pénalisante pour les élevages laitiers (Remy, 2010). Elle ne présente pas de signe clinique, la mamelle est cliniquement saine et le lait ne présente aucune modification macroscopique. Biologiquement, elle se manifeste par une augmentation du taux des leucocytes et des cellules épithéliales détectées par divers tests de comptage cellulaire et des examens bactériologiques. Le diagnostic bactériologique individuel a pour but d'isoler et d'identifier le ou les germes responsables de mammites et déterminer leur antibiosensibilité (Lévesque, 2007). Le comptage cellulaire seul ne permet pas de définir, de manière fiable, la nature du germe responsable d'une mammite (Argente *et al.*, 2005). Donc, isoler en culture pure l'agent causal des mammites revient à connaître la cause de l'infection (Remy, 2010).

Dans ce contexte, la présente étude a pour objectif d'identifier les principaux germes responsables des mammites subcliniques pendant la période du *péripartum* dans les exploitations laitières de la région de Blida et Tizi-Ouzou.

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

**CHAPITRE I : ANATOMO-
PHYSIOLOGIE DE LA GRANDE
MAMMAIRE DE LA VACHE
LAIETIERE**

I. La Glande mammaire :

La mamelle est une structure glandulaire à sécrétion externe, particulière de toutes les femelles de la classe des mammifères. Elle se caractérise par la production de deux sécrétions différentes, le colostrum et le lait qui sont indispensables à la survie de la descendance de ces espèces.

Sous la forme de paires de glande isolées, distribués et positionnées symétriquement le long du cordon mammaire, elles sont variables d'une espèce à l'autre en nombre :

- Deux, chez la chèvre, la brebis et la jument,
- Quatre chez la vache.

La variabilité individuelle d'aptitude laitière a permis de sélectionner les animaux, ayant les performances les plus élevées, où l'espèce bovine présente le niveau de production le plus élevé.

I.1. Anatomie de la glande mammaire :

I.1.1. Structure anatomique externe (conformation externe):

La vache possède deux paires de mamelles inguinales appelés aussi quartiers dont deux antérieurs et deux postérieurs qui se prolonge chacun par un trayon (figure 1).

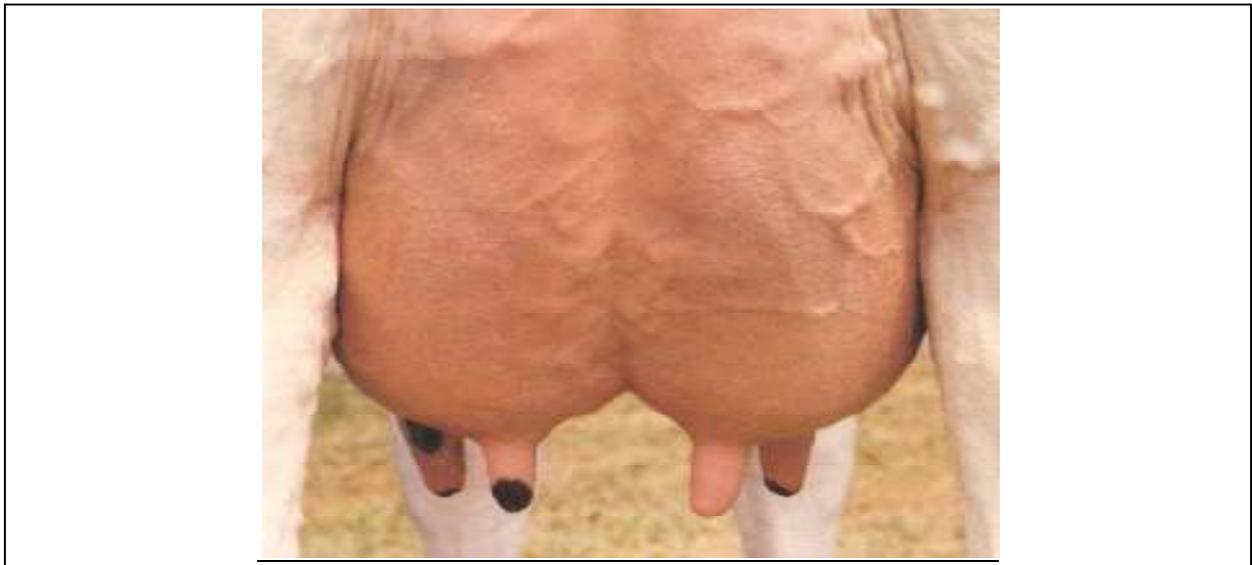


Figure 1: Conformation externe d'un pis de vache (Hanzen, 2000).

Les quatre mamelles sont réunies extérieurement en une masse hémisphérique lourde et volumineuse appelée pis, solidement attaché par un puissant système de suspension.

Ce système est formé par un ligament médian de fixation et par des ligaments latéraux de support (profonds et superficiels) qui les attachent à la paroi abdominale et au bassin (Dosogne et *al.*, 2000).

Cet ensemble peut, chez la vache adulte, peser plus de 50 kg. Les dimensions du pis peuvent être prises comme indicateur du niveau de production laitière chez une multipare. Cependant, ce n'est pas le cas chez la primipare car il continue à croître pendant la première lactation.

Initialement, les quartiers postérieurs produisaient 60 % du lait et les antérieurs 40%. Actuellement, avec le progrès génétique, il apparaît que le pis est mieux balancé (Hanzen, 2000).

I.1.2. Structure anatomique interne (histologie):

Chacune, des mamelles, constitue une entité fonctionnelle indépendante, sans communication entre les tissus sécrétoires et les systèmes canaliculaires des mamelles adjacentes (Dosogne et al, 2000). La répartition est anatomiquement bien définie entre les moitiés gauches et droites, individualisées par le ligament suspenseur médian du pis. Bien que moins évidente, la séparation des quartiers antérieurs et postérieurs, n'en est pas moins complète, composé d'un fin et régulier septum de tissu conjonctif.

Chaque mamelle ou quartier comprend outre la peau et la charpente fibro-élastique un parenchyme glandulaire de structure complexe :

- Un tissu tubulo-alvéolaire,
 - Un tissu de soutien.
- **I.1.2.1. Tissu tubulo-alvéolaire :**

Les acini sont les unités structurales du tissu tubulo-alvéolaire et productrices de la mamelle. (figure 3).

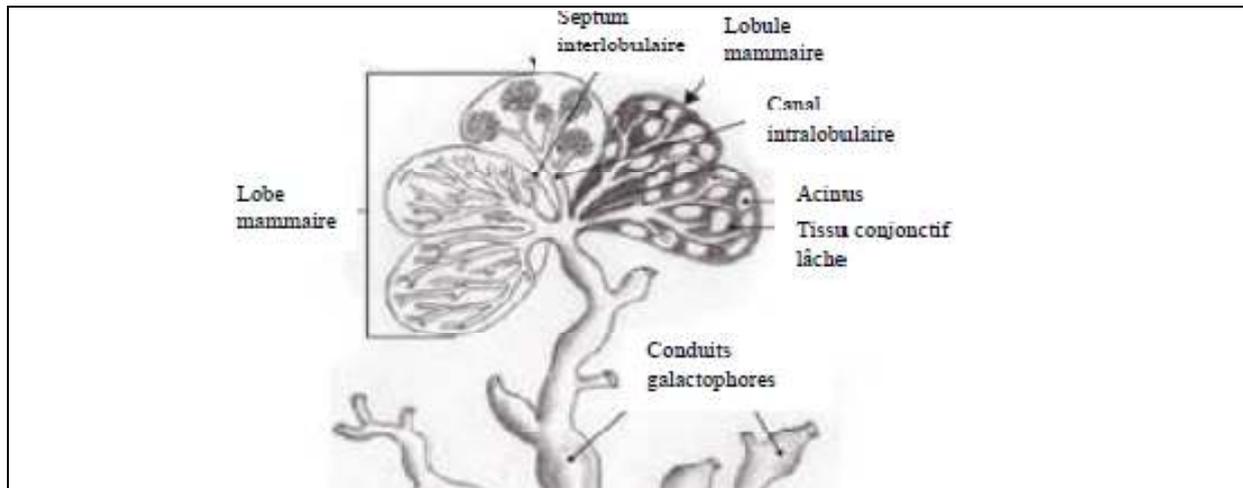


Figure 2: Organisation des lobules (Constantinescu et Constantinescu, 2010).

I.1.2.1.1. Alvéole (acinus):

Elles ont la forme de petites poches regroupées en lobules, eux même organisées en lobes. Chaque acinus est constitué d'une couche monocellulaire appelée lactocyte, reposant sur une lame basale et entourant une lumière alvéolaire. Cette couche cellulaire ne présente pas les mêmes caractéristiques morphologiques quand elles sont au repos (1) ou en activité (2) (Barone, 1990), et ce ci est dû aux modifications du stade fonctionnel de la glande.

(1) Au repos : L'épithélium est pavimenteux avec des jonctions serrées, rares, lâches et perméables. Le lactocyte présente un noyau centré et un cytoplasme peu important. Dans cet état, la cellule a la capacité de se multiplier. Cette faculté est utilisée pour la régénération de la glande mammaire en période de tarissement.

(2) En activité : L'épithélium prend un aspect cubique ou prismatique avec jonctions serrées, plus nombreuses et plus efficaces, assurant une parfaite étanchéité aux espaces intercellulaire (Brouillet, 1998 ; Olliver-Bousquet, 1993 ; Stelwagen-Lacy Hulbert, 1996). La taille des lactocytes augmente considérablement, le noyau est rejeté près de la lame basale et au côté opposé, apparaissent dans le cytoplasme, des vacuoles et des inclusions lipidiques. Le

réticulum endoplasmique et l'appareil de golgi sont particulièrement développé (Dosogne et *al.*, 2000).

Extérieurement, l'alvéole est entouré d'un fin réseau de cellules myoépithéliales étoilées dont la contraction induite par une décharge d'ocytocine, provoquerait la vidange des lobules participant à l'expulsion du lait (Brouillet, 1998 ; Deluis, 1983 ; Jammes et *al.*, 1988).

Ce réseau est aussi entouré d'un maillage très dense de fins capillaires artériels, veineux et lymphatiques, et séparés les uns des autres par des faisceaux conjonctifs et du tissu grasseux (**figure 4**).

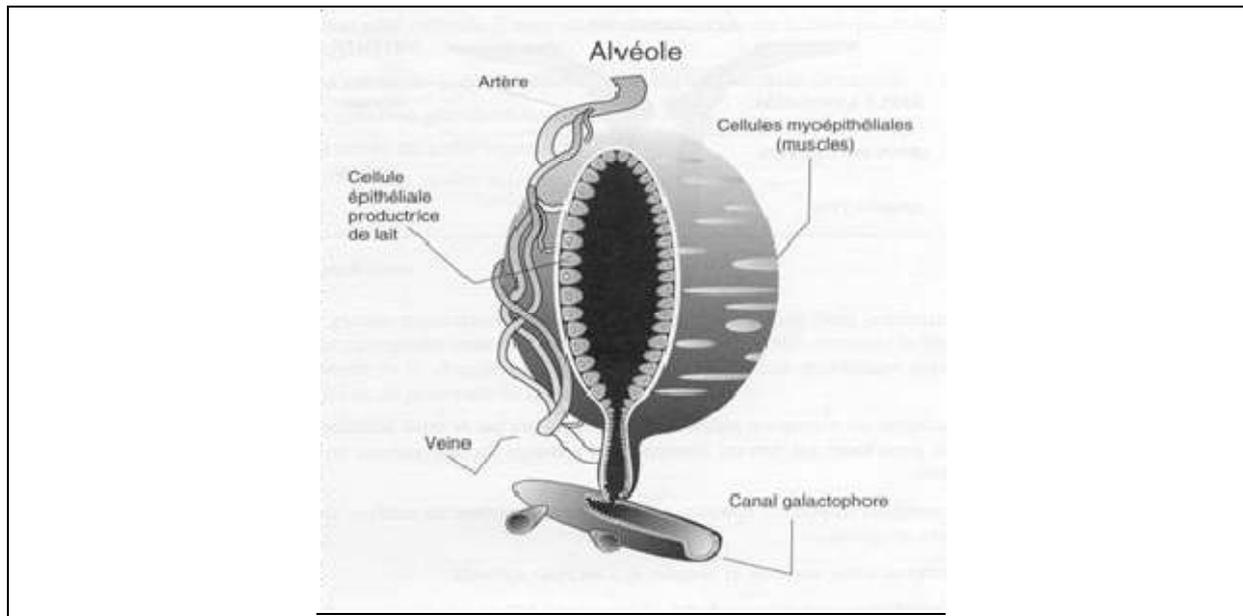


Figure 3: Organisation d'un alvéole (Hanzen, 2000) .

I.1.2.1.2. Tubules (canaux, sinus):

Ils apparaissent sous la forme d'un complexe - arborisation assurant les fonctions d'écoulement, de stockage et d'éjection du lait.

La sécrétion lactée sort des acini par des petits pertuis ouverts dans des canalicules. Ces derniers sont d'abord intra-lobulaires, puis intra-lobaires et se terminent par cinq à huit canaux galactophores dans un seul et unique sinus lactifère de taille variable.

Ce sinus (citerne) est divisé en deux parties :

- Sinus mammaire,
- Sinus du trayon.

Ces deux parties sont séparées l'un de l'autre par un repli annulaire appelé anneau veineux de Fürstenberg.

Le sinus du trayon se termine dans un repli muqueux, la rosette de Fürstenberg qui constitue en cas d'infection, le principal point de passage des leucocytes du sang vers le lait. Il se termine par court conduit papillaire s'ouvrant à l'extérieur, le canal du trayon dont la longueur est inférieure à 1,5 cm. Ce dernier constitue la première ligne de défense contre les infections mammaires. Il est tapissé d'un épiderme kératinisé semblable à celui de la peau. Sa fermeture est assurée par un puissant sphincter (Dosogne et *al.*, 2000).

I. 1 .2 .2. Tissu de soutien:

Il est aussi appelé stroma et est constitué de :

- Tissu conjonctif (1),
- Tissu adipeux (2),
- Système vasculaire (3),
- Système d'innervation (4).

(1). Tissu conjonctif :

Il est formé essentiellement de fibrocytes et de fibres de collagènes.

(2). Tissu adipeux :

Il est constitué de nombreux adipocytes dont le nombre est très largement influencé par le régime alimentaire durant la croissance des génisses qui lorsqu'il est excédentaire peuvent Envahir la glande mammaire, réduisant ainsi le nombre de lactocytes et limite la future production de l'animal (Capuco, 1995).

(3). Système vasculaire :

L'irrigation de la glande mammaire, particulièrement importante, est assurée par **(figure 5)** :

- Un système vasculaire artériel (a),
- Un système vasculaire veineux (b),
- Un système lymphatique (c).

(a). Le système vasculaire artériel :

Il est composé essentiellement par :

- Une artère honteuse externe,
- Quelques petit rameaux issus de l'artère honteuse interne.

(b). Le système vasculaire veineux :

Il est plus développé que le réseau artériel et schématiquement, il peut être représenté par un système à trois étages dont :

- Le niveau inférieur est constitué par un cercle veineux drainant le sang de la veine mammaire craniale, veine mammaire moyenne (honteuse externe) et la veine mammaire caudale,
- Le niveau médian draine le sang des veines péri-sinusales, du parenchyme mammaire.
- Le niveau supérieur présenté par les gros collecteurs de la base du pis formant le cercle veineux du pis.

En effet, les deux systèmes, artériel et veineux, donnent des ramifications et des anastomoses qui viennent englober le tissu tubulo –alvéolaire permettant l'acheminement d'un important débit sanguin (300 à 500 litres de sang par mamelle). Outre l'apport de nutriments acheminés

aux lactocytes, le sang charrie les hormones qui contrôlent le développement des mamelles, la synthèse et l'éjection du lait ainsi que la régénération des lactocytes (Dosogne et *al.*,2000).

(c). Le système lymphatique :

Ce type de vascularisation permet de restituer, à la circulation sanguine, le liquide de l'espace interstitiel, la lymphe qui est un fluide corporel dérivé du sang par filtration capillaire. Elle participe à la lutte contre les infections et joue un rôle important dans l'équilibre des fluides (Dosogne et *al.*, 2000).

Il est constitué de vaisseaux :

- Sous la peau, qui s'élève depuis le trayon jusqu'à la base du pis,
- Plus profond, qui collecte les lymphatiques du parenchyme

Ces vaisseaux forment un réseau, sous cutané, situé à la base du pis collectant l'ensemble de la lymphe mammaire. De ce dernier, se détachent de gros vaisseaux, qui gagnent les ganglions lymphatiques rétro-mammaires, servant à purifier la lymphe et l'enrichir en leucocytes. D'autres suivent le trajet inguinal et gagnent le lymphocentre ilio-fémorale

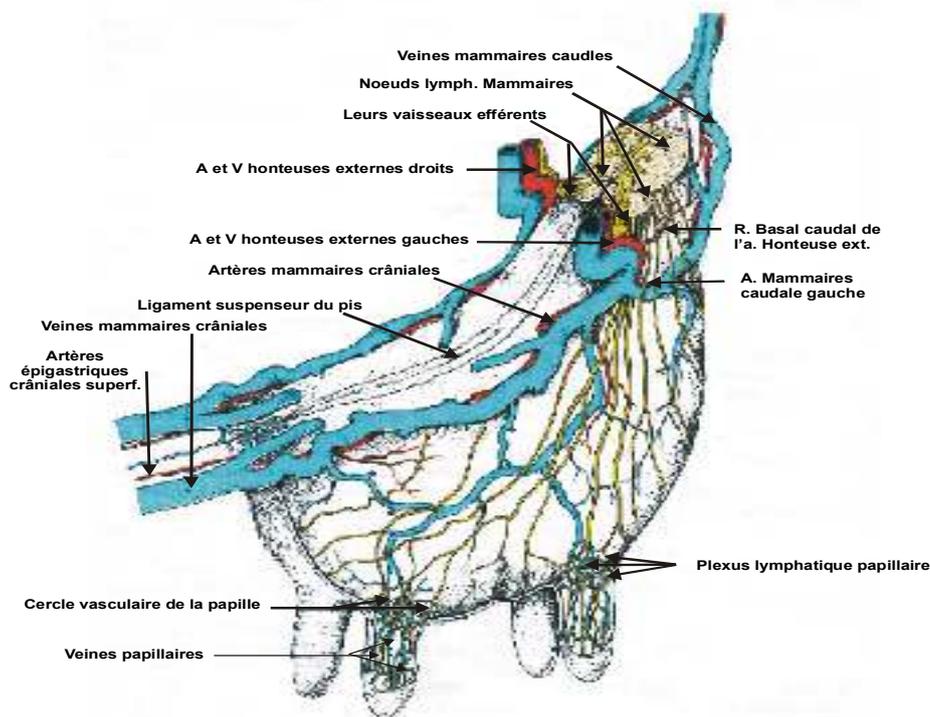


Figure 4: Système vasculaire et lymphatique de la mamelle (Barone 1990).

(4). Le système d'innervation :

La majeure partie des terminaisons nerveuses, qui logent le parenchyme mammaire sont issues des nerfs mammaires, représentés par les fibres sensibles cérébro-spinales et des fibres motrices sympathiques. Il n'y a pas de fibres motrices cérébro-spinales, ni d'innervation parasymphatique dans le pis.

I.2. Fonctionnement et mécanisme de synthèse de la glande mammaire.

La capacité de production laitière d'un animal dépend essentiellement du nombre de lactocytes de la glande mais également de sa capacité de synthèse et de sécrétion (Flower et *al.*, 1990).

Ce nombre, génétiquement dépendant, est variable d'un animal à l'autre. Plus le nombre est important, plus la production de lait le sera également (Brouillet, 1998 ; Jammes et *al.*, 1988 ; Rulquin, 1997).

Par conséquent, l'entrée en fonction de ces cellules correspond à la mise en place de la lactation et l'achèvement de celle-ci se fait lors du tarissement (Dosogne et *al.*, 2000).

I.2.1. La Lactation :

C'est la phase finale du cycle de reproduction de la vache d'une durée moyenne de 305 jours. La sécrétion lactée est caractérisée par la succession de deux périodes :

- Le déclenchement appelé la lactogénèse,
- L'entretien appelé la galactopoièse.

Ces deux périodes sont soumises, à l'action contrôlée, et séquentielle de différentes hormones.

I.2.1.1. La lactogénèse :

Elle commence bien avant le vêlage et consiste essentiellement en des modifications biochimiques et cytologiques qui se superposent à la colostrogénèse (Dosogne et *al.*, 2000).

En fait, durant la colostrogénèse, les cellules alvéolaires qui se sont multipliées et différenciées (mammogénèse) lors de la gestation, achèvent leur développement juste dans les heures qui précèdent la mise bas et acquièrent donc tout l'équipement enzymatique et les organites cellulaires nécessaires à la synthèse de la sécrétion lactée.

Elle permet, dans un premier stade, la formation d'un fluide pré-colostrale (colostrogénèse lente) et dans un deuxième stade, une production abondante de colostrum juste au pré-partum qui persiste jusqu'à quelques jours après le vêlage (colostrogénèse rapide) (Hartmann, 1973 ; Flee et *al.*, 1975).

I.2.1.2. La galactopoièse :

Elle fait immédiatement suite à la lactogénèse et correspond à l'optimisation de la synthèse du lait et l'entretien de sa sécrétion. A ce stade, les lactocytes ne peuvent plus se multiplier et entrent en pleine activité excrétoire (Dosogne et *al.*, 2000).

En effet, les mécanismes d'absorption, de synthèse et de sécrétion des différents composants, de cette excrétion, sont soumis à des phénomènes de régulation complexes (neuro-endocrinienne, hormonale, génétique, métabolique et alimentaire), faisant aussi intervenir un rétrocontrôle de la lumière de l'acinus (Rulquin, 1997).

Seule la composition, des deux sécrétions lactées (lait et colostrum), sera décrite ici ainsi que les différents mécanismes d'absorption, de synthèse et de sécrétion de leurs principaux constituants.

I.2.1.2.1. Le lait :

Le lait est un fluide biologique de composition très complexe. Il est constitué essentiellement d'eau, de glucides (lactose), de protéines, de lipides et de sels dont les proportions diffèrent selon les espèces et des races.

Secondairement, on peut retrouver quelques bactéries, des cellules somatiques ainsi que divers produits témoins de leur métabolismes (Dosogne et *al*, 2000)

La majeure partie de ces composants sont élaborés à partir des métabolites, prélevés dans le sang, dont les voies et les mécanismes de transport (Olliver-Bousquets, 1997) font intervenir:

- Une diffusion plus ou moins facilitée (glucose, acides aminés ...),
- Une endocytose (immunoglobuline, albumine, transferrine sérique et hormones),
- Une transcytose,
- Une exocytose.

Ceci, selon deux modalités :

- La filtration sélective **(1)**,
 - La synthèse **(2)**.
- 1) La filtration sélective permet le passage sans transformation, de certaines protéines sériques, l'albumine et les globulines, l'azote non protéique, les acides gras à chaînes longues (C₁₈), certains acides gras à chaîne moyenne (C₁₄ et C₁₆), les sels minéraux (Ca⁺⁺, K⁺, Na⁺⁺, Cl⁺), les oligo-éléments, les enzymes et les vitamines.
 - 2) La synthèse concerne trois constituants principaux : le lactose, les matières grasses et les protéines.

I.2.1.2.2. Le colostrum:

C'est un liquide jaune visqueux, présent dans la mamelle quelques jours avant et après le part. Son taux de protéines y est très élevé du fait de la concentration élevée en immunoglobulines (14%). La proportion des caséines est faible (4%) bien que leur quantité soit supérieure à celle du lait. Les concentrations en protéines et en matières grasses passent respectivement de la première traite au 10^{ème} jour de 160 g/l à 35 g/l et de 50 g/l à 39 g/l respectivement (Hanzen, 2000).

A côté des constituants synthétisés localement (lipides, lactoses), la perméabilité des jonctions serrées permet, à côté de la voie classique transcellulaire, un passage complémentaire des protéines sériques, des immunoglobulines et des ions (sodium et chlore) (Olliver et Sordillo, 1989).

I.2.2. Le tarissement (période sèche) :

Elle correspond à l'arrêt de la lactation donc à la cessation complète de la sécrétion lactée. Classiquement, cette période dure 60 jours (Dosogne et *al*, 2000).

Elle débute par :

- 1) Une phase d'involution active de la mamelle, d'une durée moyenne d'un mois. Il s'agit en fait, du passage d'un organe métaboliquement très actif avec sécrétion intense, à celle de glande au repos sans aucune activité sécrétoire bien définie.

On assiste à un changement total (Dosogne et *al*, 2000) :

- Du débit sanguin,
- De la composition des sécrétions,
- Du volume et de la morphologie de la mamelle,
- De la forme des lactocytes et de l'aspect de l'épithélium alvéolaire.

Les éléments du lait vont être, dès alors, résorbés (lactose, protéines et minéraux) ou phagocytés (globules gras) par des macrophages qui envahissent la mamelle.

2) Une phase d'involution consolidée qui fait suite à la précédente, de durée variable en fonction de la longueur de la période du tarissement. Elle correspond à la complète involution de la glande, caractérisée essentiellement par la régression des structures alvéolaire (disparition du réticulum endoplasmique et des vésicules golgiennes), et des lumières alvéolaire. Les lactocytes sont de petite taille, avec un rapport cytoplasme sur noyau minimal, tandis que la part occupée par le stroma inter-alvéolaire augmente de plus en plus. Seul l'essentiel de la structure lobulo-alvéolaire de la glande est sauvegardée, pour une nouvelle lactation où des phénomènes de régénération et de réactivation des lactocytes vont être instaurés pour la colostrogénèse (Dosogne *et al*, 2000).

En effet, le tarissement présente des avantages médicaux, sanitaires et économiques très importantes. Des vaches carencées, décalcifiées après une lactation épuisante, se trouvent souvent dans un état physiologique précaire, qui les prédisposent aux infections mammaires chroniques. Il a été observé qu'une mamelle infectée en fin de lactation avant le tarissement avait de grandes chances de subir une mammite clinique lors de la lactation suivante (Green *et al*, 2002).

Le tarissement peut être le moyen de traiter efficacement des infections latentes qui n'ont pu être guéries pendant la lactation. Les infections mammaires à *Staphylococcus sp.* (en particulier *Staphylococcus aureus*) sont difficilement traitables en lactation, du fait de la formation à l'intérieur de la mamelle de microabcès entourés d'une coque rendant les bactéries difficilement accessibles aux antibiotiques. Le fait d'assécher la mamelle lors du tarissement et de traiter localement avec un antibiotique sélectif ayant une longue durée d'action, augmente considérablement les chances de guérison (Dingwell *et al*, 2002).

Il a été observé, notamment chez les primipares, que descendre la durée de tarissement en dessous de 56 jours réduisait la quantité de lait produit pendant la lactation suivante (Hortet et Seegers, 1998 ; Pezeshki *et al*., 2007). De même, en ne réalisant pas de tarissement et en trayant quelques litres de lait durant les dernières semaines de la lactation, provoque une perte un pourcentage de 20 à 25% de la production annuelle sur la lactation suivante (Grümmer, 2004).

CHAPITRE II : LES MAMMITES BOVINES

II.1. Définition d'une mammite :

Une mammite est une inflammation de la glande mammaire quelle qu'en soit la cause. Elle peut être d'origine bactérienne, virale ou mycosique et quelque fois traumatique et se caractérise par des changements physiques, chimiques et habituellement bactériologiques, du lait et par des lésions pathologiques du tissu glandulaire (Radostits et al, 1997 ; Gedilaghine, 2005; Scharen, 2006). Par opposition, sera considérée comme normale, une mamelle sans signe visible d'un état pathologique avec un lait exempt d'agents pathogènes et de caractéristiques cellulaires et physico-chimiques normales (National Mastitis Concil, 2005).

II.2. Types de mammites :

Chez la vache laitière, la plupart des infections mammaires sont inapparentes (mammites subcliniques) ou se manifestent par des signes cliniques qui restent modérés et locaux (mammites cliniques subaiguës). Les mammites cliniques aiguës sont plus spectaculaires mais moins fréquentes aussi (Duval, 1995; Seegers et al, 2000 ; Schaeren, 2006). Deux types ont été définis, en l'occurrence, la mammite clinique et la mammite subclinique.

II.2.1. Les mammites cliniques

Ce sont des infections mammaires caractérisées par la présence de symptômes fonctionnels et locaux (Poutrel, 1985). Le lait est partiellement coagulé, parfois même entièrement décoloré à cause de la séparation des caséines du sérum et contient éventuellement du sang. Dans les cas les plus graves, les réactions généralisées peuvent conduire à la mort de l'individu.

Leur fréquence est plus faible que celle des mammites sub-cliniques. Pour chaque cas de mammite clinique, il y a en moyenne 20 à 40 cas de mammites subcliniques (Vestweber et Leipold, 1994 ; Wattiaux, 1996).

Selon l'intensité et la rapidité d'apparition des symptômes, on distingue dans cette forme :

- Le type aigu ou suraigu.
- Le type chronique ou subaigu.

II.2.1.1. Les mammites aiguës ou suraiguës

Elles apparaissent brutalement et évoluent rapidement vers des symptômes délétères. **La mammite aiguë** s'accompagne de symptômes localisés au niveau de la mamelle, laquelle apparaît rouge, gonflée, douloureuse et chaude. La sécrétion lactée présente un aspect crémeux, de couleur bleu verdâtre et d'odeur nauséabonde. Le quartier atteint étant le siège d'une inflammation intense, l'état général de l'animal peut être affecté. L'évolution est plus lente, et en l'absence de traitement, une chronicité apparaît avec enkystement des bactéries dans le parenchyme mammaire (Vestweber et Leipold, 1994).

La mammite suraiguë apparaît souvent dans les jours suivant le vêlage. L'état général de l'animal est très affecté, on peut 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 un aspect séreux, aqueux ou hémorragique (Radostits et al, 1997). Ce type de mammite est rare mais souvent mortelle.

Elle peut revêtir deux formes caractéristiques : l'une dite paraplégique (colibacillaires), car pouvant entraîner le décubitus de l'animal, et l'autre dite gangreneuse, se caractérisant par une nécrose rapide du quartier atteint. (Vestweber et Leipold, 1994).

II.2.1.2. Les mammites chroniques ou subaiguës :

Elles sont secondaires à une mammite aigue ou suraiguës et se caractérisent par une inflammation modérée mais persistante de la mamelle, évoluant lentement vers la fibrose sur plusieurs mois, voire plusieurs années, parfois durant la vie entière de l'animal.

L'état général de l'animal n'est pas affecté. Les 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 de façon plus ou moins régulière, des grumeaux dans les premiers jets. Petit à petit, la sécrétion diminue, le quartier s'indure et finit par se tarir complètement (Poutrel, 1985). Au cours de l'évolution de cette mammite, l'apparition d'épisodes cliniques plus ou moins intenses traduisant une mammite subaiguë. Cette évolution chronique est la forme la plus caractéristique des infections dues aux Staphylocoques ou aux Streptocoques (Poutrel, 1984 ; Vestweber et Leipold, 1994).

II.2.2. Les mammites subcliniques

La mammite sub-clinique est la forme la plus fréquente des infections mammaires. En Europe, elle représente 97 % de toutes les mammites (Rodenburg, 1997). Ce sont des infections mammaires asymptomatiques, elles ne présentent pas de signe clinique. L'état général de l'animal est parfaitement normal, la mamelle est cliniquement saine et le lait ne présente aucune modification macroscopique. Par contre, l'examen cytologique du lait met en évidence une augmentation parfois considérable du nombre de polynucléaires. De même, son analyse biochimique révèle la présence de modifications parfois très importantes de la composition du lait (Kerro, 2002).

Lors d'une mammite sub-clinique, la vache possède une résistance naturelle qui limite la dissémination des bactéries dans le pis. Sous l'effet d'un stress, cette résistance diminue. Ce type de mammite résulte de l'évolution de foyers infectieux au sein du parenchyme, créés par des germes que l'organisme n'arrive pas à éliminer. Elle peut évoluer sur plusieurs lactations et aboutir à une fibrose plus ou moins importante des quartiers atteints (Remy, 2003).

II.3. Pathogénie des infections mammaires :

II.3.1. Les sources de contamination :

Un grand nombre de micro-organismes se retrouve sur et dans le pis de la vache. Plusieurs d'entre eux appartiennent à la flore bactérienne normale et ne causent pas, sauf exception, de mammites. Au contraire ils sont en symbiose et peuvent jouer un rôle dans la protection du pis. Par contre, la présence de germes pathogènes résulte d'un manque d'hygiène des vaches ou de leur environnement ou encore de certaines pratiques de traite ainsi que dans la présence d'insectes (*Hydrotea irritans*).

Les germes pathogènes pénètrent généralement dans le quartier par le canal du trayon. Celui-ci constitue une première barrière contre la colonisation de la mamelle : le sphincter à la base du canal assure l'étanchéité entre la mamelle et le milieu extérieur. Les cellules kératinisées de la muqueuse se desquament régulièrement, participant à l'élimination des germes en début de traite (Noireterre, 2006). La pénétration des germes se réalise au moment où le sphincter est ouvert, durant la traite et surtout en fin de traite (le sphincter reste ouvert environ une demi-

heure après la traite), mais aussi à l'approche du vêlage, ou au tarissement ou le sphincter laisse suinter voire couler un peu de lait par la pression de celui-ci (Noireterre, 2006).

La pénétration des bactéries se produit suivant trois possibilités (Labbé, 2007):

1. Au cours de la traite

- Par le phénomène d'impact

Une entrée d'air se réalise au niveau des manchons trayeurs provoque une baisse du niveau de vide dans la griffe et un reflux de lait sous forme de brouillard, vers les autres manchons ou le niveau de vide est plus élevé. Le lait se dépose sur les trayons et peut même pénétrer le canal. Ce lait peut être contaminé par des germes d'un quartier malade ou par la présence de ceux-ci dans les manchons.

- Par le phénomène de traite humide ou Reverse Flow

C'est le retour du lait qui vient d'être traité vers le trayon en raison d'un mauvais réglage des phases de massage de la machine à traire.

2. Par la multiplication des germes présents sur le trayon

Ces germes profitent de l'ouverture du trayon en post-traite pour pénétrer le canal. Les lésions du trayon et du sphincter (verruge, gerçure, blessure, éversion du sphincter) favorisant la multiplication des germes. Un contact précoce entre le trayon et l'environnement (pâturage, litière, etc...) est aussi un facteur prédisposant l'infection du canal par des pathogènes après la traite.

3. Par l'introduction de germes par l'être humain

Que ce soit par l'éleveur ou le vétérinaire, l'introduction dans le sinus lactifère de germes est réalisée par la mise en place de traitement intra mammaire ou de sondage du canal du trayon de manière non adéquate (défaut d'hygiène).

Après cette étape, les bactéries se retrouvent dans le lait intra mammaire. C'est le site infectieux obligatoire pour tous les types de mammites.

II.3.2. L'évolution des mammites :

Quelles que soient les bactéries en cause, la contamination de la mamelle se fait pratiquement par le canal du trayon. Que les voies d'infection soient ascendantes ou descendantes l'évolution de la mammite passe par trois événements : l'invasion, l'infection et l'inflammation (Radostitis et al., 1997 ; Federici et Godin, 2002).

L'évolution de l'inflammation dépend de l'efficacité du système immunitaire et du pouvoir pathogène des bactéries en cause qui résulte de leur virulence et leur pouvoir toxique (Cauty et Perreau, 2003). Il existe trois possibilités d'évolution : la guérison, la fluctuation et l'extension.

- **La guérison** : On estime que dans 20% des cas environ, les défenses mammaires permettent la guérison bactériologique (Descôteaux, 2004).

- **La fluctuation** : Une forte infiltration cellulaire des parois des canaux lactifères et une prolifération du tissu conjonctif sous-jacent rétréci, étranglent les canaux et conduisent à la formation de poches, dans lesquelles les germes peuvent facilement persister. Ces germes peuvent également se loger dans des abcès ou même dans des cellules. (Weisen, 1974).

- **L'extension** : La réaction vasculaire et exsudative s'étend à l'ensemble de la glande où, lorsque le système immunitaire est débordé, les bactéries se multiplient et, finissent par passer dans le sang (septicémie). Cette forme est caractérisée par une

forte fièvre, par des nécroses possibles de la mamelle, voire par la mort de l'animal (Cauty et Perreau, 2003).

II.4. Etiologie des mammites bovines :

La grande majorité des mammites bovines est d'origine infectieuse (Durel et al, 2004). Il existe cependant quelques rares cas de mammites traumatiques, chimiques ou physiques. L'infection de la mamelle se fait par voie exogène principalement, la voie endogène est décrite notamment pour les mycoplasmes mais est rare (Lafont et al, 2004).

Les mammites mycosiques (*Candida*) ou causées par des algues (*Prototheca*) sont très peu courantes. Généralement une seule espèce bactérienne est responsable de l'infection, très rarement, l'association de deux espèces (Poutrel, 2004) (Schmitt et al, 2005) (Van de leemput, 2007).

On classe les espèces bactériennes responsables d'infections mammaires en deux groupes :

II.4.1. Les pathogènes majeurs :

Les pathogènes majeurs sont les bactéries responsables des mammites cliniques et subcliniques, et sont le plus couramment isolées. Ils regroupent les coques Gram positifs (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*), les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*...) et les entérocoques, plus rares (*Enterococcus faecalis*...) (Bradley et al, 2007).

Il a été constaté la prédominance fréquente de trois pathogènes majeurs qui sont par ordre décroissant : *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (Bosquet et al., 2005 ; Schmitt et al., 2005 ; Schmitt et al., 2007 ; Bradley et al., 2007 ; ; Bidaud et al, 2007 ; Van de leemput, 2007).

a. *Escherichia coli*

C'est un bacille Gram négatif provenant des fèces des animaux et se développant dans la litière ou les aires de couchage (logettes), souillées par ceux-ci.

Une étude de WENZ et al. (2006) sur les facteurs de virulence d'*Escherichia coli*, a montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre les gènes de virulences et la gravité des symptômes de mammites. La sévérité des symptômes dépendrait plus de l'animal et de sa réaction immunitaire. Les facultés d'adhésion des colibacilles n'est pas excellente et ils ne sont pas retrouvés en position intracellulaire (Durel et al, 2004).

Certaines souches sont capables d'envahir les cellules épithéliales (Schmitt et al., 2007) et sont responsables de mammites chroniques. Ces souches pourraient être adaptées à l'environnement mammaire par opposition aux autres souches. Les infections à *Escherichia coli* sont possibles à tout moment de la lactation mais elles sont prédominantes dans les trois premières semaines de lactation (Durel et al., 2004 ; Remy, 2005 ; Van de leemput, 2007).

b. *Staphylococcus aureus*

Ce germe est présent partout à la surface de la peau et des muqueuses et en particulier au niveau des trayons et toutes lésions de ces derniers, favorisent sa multiplication (Durel et *al.*, 2004 ; Van de leemput, 2007).

Staphylococcus aureus est résistant dans le milieu extérieur. Il peut, s'il y a un défaut d'hygiène au moment de la traite ou un dysfonctionnement de la machine à traire, se retrouver dans les gobelets trayeurs ; sur le caoutchouc et ses fissures et dans le lait résiduel restant dans les manchons après la traite. La contamination d'une vache a une autre, se réalise par ceux-ci, par les mains du trayeur ou des lavettes. Après pénétration dans le canal du trayon, il envahit les canaux galactophores et les cellules épithéliales (des 24 heures), puis il colonise le parenchyme mammaire assez rapidement (Salat et *al.*, 2007). Il se multiplie plutôt lentement, le pic étant entre 2 et 11 jours, suivant l'animal (Durel et *al.*, 2004). Néanmoins, la concentration en bactéries dans le lait est toujours faible (Durel et *al.*, 2004). Il y est détectable des 4 jours après inoculation, la réaction inflammatoire est lente et souvent modérée (Salat et *al.*, 2007).

Parfois, le germe provoque des mammites aiguës avec forte inflammation du quartier et destructions tissulaires irréversibles, conduisant à la perte du quartier et parfois de l'animal, mais le plus souvent l'évolution est chronique ou plus fréquemment sub-clinique. Il y a alors formation de micro-abcès dans le parenchyme mammaire qui protègent la bactérie des défenses immunitaires et des traitements antibiotiques (Eicher et *al.*, 2003).

Certaines souches sont capables de résister à la phagocytose des macrophages et restent à l'intérieur des lysosomes. Elles forment de petites colonies à faible croissance mais persistantes et pouvant se ré-multiplier (Durel et *al.*, 2004). La réaction inflammatoire dans ces deux derniers cas est très discrète voire indétectable. Il s'établit une sorte d'équilibre entre la bactérie et son hôte.

c. Streptococcus uberis

Ce germe est responsable en général de mammite clinique plutôt en début de lactation et au moment du tarissement. Il est présent comme *Escherichia coli*, dans la litière souillée par les fèces des animaux, mais aussi sur la peau et les muqueuses ainsi que les trayons et leurs lésions, et le matériel de traite ou il peut persister (Durel et *al.*, 2004 ; Barrington et *al.*, 2006).

Les *Streptococcus uberis* colonisent les voies galactophores puis, sans traitement adéquat à ce stade, sont capables par des adhésines de se fixer sur les cellules épithéliales, évitant d'être évacués par la chasse lactée lors de la traite (Durel et *al.*, 2004). Ils produisent une hyaluronidase qui pourrait être responsable de la désorganisation des barrières tissulaires (Serieys, 2003), favorisant leur passage dans le parenchyme.

Bosquet et *al.* (2005) précisent qu'ils sont détectables dans le parenchyme des 6 jours après l'infection. A ce stade le quartier atteint peut devenir un réservoir mammaire de germes, et on observe un passage à la chronicité. En général, de très nombreuses souches sont retrouvées dans un élevage mais il est possible lorsque la bactérie évolue sous le type contagieux, qu'un nombre réduit de souches soit responsable des mammites de l'exploitation. Les mammites à *Streptococcus uberis* sont en général aiguës avec inflammation du quartier, hyperthermie et caillots dans le lait.

II.4.2. Les pathogènes mineurs

Les pathogènes mineurs ne sont normalement qu'exceptionnellement responsables de mammites cliniques mais plutôt responsables d'infections subcliniques. Les germes mineurs

contagieux comprennent les *Staphylocoques à coagulase négative* (*S. hyicus*, *S. xylocus*, *S. epidermidis*) et *Corynebactérium bovis* (Faroult et al., 2003 ; Bravard et al., 2006 ; Ben hassen et al., 2007) ainsi que les germes pathogènes mineurs d'environnement : *Pseudomonas aeruginosa*, les champignons et les levures (Argente et al., 1997)..

Longtemps considérés comme pathogènes mineurs comme décrit dans cette classification traditionnelle, ils sont devenus des pathogènes majeurs responsables de mammites cliniques et chroniques avec de fortes inflammations du quartier (Taponen et al ; 2006 ; Taponen et Pyörälä, 2007). Ces germes représentent 14 % des isolats de l'étude précédemment citée, et seraient responsables de 20 % des mammites bovines en France (Taponen et Pyörälä, 2007).

La source d'infection est en général un défaut d'hygiène au moment de la traite, ou ils colonisent le canal du trayon à la faveur d'une blessure. La pathogénie est encore mal connue (Durel et al., 2004 ; Van de leemput, 2007).

Ces germes sont en général plus fréquents chez les primipares (Taponen et Pyörälä, 2007). La colonisation de la mamelle des primipares s'est réalisée bien avant le vêlage (Bravard et al., 2006) (Taponen et Pyörälä, 2007 ; Van de leemput, 2007).

II.4.3. Notions de modèles épidémiologiques des mammites :

A l'échelle d'un troupeau, les mammites sont différentes des autres maladies infectieuses, car chaque type de mammite a des particularités propres selon les caractéristiques épidémiologiques et pathogéniques de l'agent causal (Faroult et al., 2003). En l'absence d'infection mammaire dans le troupeau, la plupart des germes, facteurs de mammites, peuvent être présents dans l'élevage. Classiquement, ces moteurs d'infection se répartissent en deux catégories : l'une comprenant les germes contagieux et l'autre, les germes d'environnement. Ainsi au niveau du troupeau nous pouvons distinguer de manière arbitraire des mammites dites contagieuses et des mammites dites d'environnement (Serieys et Faroult, 2001 ; Baillargon, 2005 ; Bosquet, 2004 ; Bosquet et al., 2005) (**tableau 1**). Cependant de nombreux modèles épidémiologiques intermédiaires peuvent également être rencontrés.

Tableau 1 : Classification des mammites au sein d'un troupeau. (D'après Serieys et Faroult, 2001 ; Baillargon, 2005).

		Réservoir mammaire	Réservoir environnemental
Bactéries en cause	Pathogènes majeurs	<i>Staphylococcus aureus</i> et certains Streptocoques dont <i>Streptococcus agalactiae</i>	Les colibacilles (<i>E.coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>) et certains autres Streptocoques dont <i>Streptococcus uberis</i> et <i>dysgalactiae</i>
	Pathogènes mineurs	Levures, staphylocoques non spécifiques...	
Réservoir de ces bactéries		Les mamelles infectées et la peau des trayons	L'environnement, particulièrement la litière.
Type de mammite		mammites invisibles, avec forte augmentation leucocytaire = <u>mammite subclinique</u>	mammites visibles = <u>mammites cliniques</u>
Moment de l'infection		Pendant la traite	Entre ou pendant la traite

II.5. Diagnostic des mammites

Le diagnostic des mammites cliniques et sub-cliniques repose sur la mise en évidence des (Radostits et *al*, 1997) :

1. Symptômes caractéristiques de l'inflammation de la mamelle par l'examen symptomatique.
2. Conséquences cellulaires (diagnostic cellulaire), biochimiques (recherche des modifications biochimiques du lait), bactériologiques (diagnostic étiologique) et immunitaires (diagnostic immunologique) de l'état inflammatoire de la mamelle.

II.5.1. L'examen clinique :

L'examen clinique de la mamelle et de sa sécrétion constitue le pilier de la démarche diagnostic des mammites cliniques. C'est le moyen le plus simple et le moins onéreux disponible (Faroult et *al.*, 2003). La symptomatologie chez l'individu dépend de son niveau pathologique (présence de symptômes généraux, locaux et fonctionnels)(Kebbal, 2010).

- Les formes aiguë ou suraiguë des mammites sont caractérisées par une manifestation clinique assez grave. Il s'agit le plus souvent d'un syndrome fébrile avec hyperthermie, perte de l'appétit, arrêt de la rumination et des troubles locomoteurs marqués par de la parésie voire de la paraplégie, correspondant ainsi aux signes d'intoxication par les toxines de l'agent causal de la mammite (Hugron et *al.*, 2005).
- La mise en évidence des signes locaux se fait par inspection et palpation (Lepage, 2003;Durel et *al*, 2004).
 - L'inspection par examen visuel peut mettre en évidence des asymétries de quartier (atrophie, hypertrophie), des couleurs anormales (hématome, congestion) et des excroissances cutanées (verrues) ou tissulaire au niveau du canal du trayon (hyperkératose, érosion et autres lésions cutanées) (Faroult et *al.*, 2003).
 - La palpation de l'ensemble de la mamelle, du quartier atteint et des ganglions retro mammaires permet de mettre en évidence, une inflammation (chaleur), un œdème, des indurations (zones de fibrose dans le quartier), une douleur, adénite et éventuellement des indurations dans le canal du trayon ou une pyodermite d'échauffement entre l'intérieur de la cuisse et la mamelle.
- Lors de symptômes fonctionnels : A l'examen macroscopique du lait, il est recherché certains paramètres de la qualité (couleur, goût et odeur), la consistance, la viscosité, l'homogénéité et bien sûr la quantité. Le contrôle des premiers jets dans un bol à fond noir et rugueux, après avoir nettoyé les trayons et avant de mettre en place les gobelets trayeurs, facilite la révélation des signes fonctionnels (Argente et *al.*, 1997).

D'autres méthodes de diagnostic ont été développées afin d'améliorer la détection des infections par les éleveurs ou le praticien en complément de l'examen de la mamelle. Nous rapportons ci-dessous les principales méthodes :

II.5.2. Diagnostic cellulaire (Numération de la concentration cellulaire somatique du lait) :

En réaction à la présence d'une infection au niveau de la mamelle, le système immunitaire de la vache provoque une augmentation du nombre de cellules somatiques pour vaincre les bactéries pathogènes et initier une inflammation au niveau de la mamelle. Ainsi, un taux cellulaire élevé de polynucléaires neutrophiles (PNN) est bien le témoin d'une mammite (Colin *et al.*, 2002); (kebbal, 2010).

La numération ou comptage des cellules somatiques du lait (CCS) peut être réalisée par les méthodes :

- d'analyses directes (microscopie, Coulter, fossomatic) du lait appliquées dans les laboratoires des laiteries selon les normes internationales de la Fédération Internationale de Laiteries (FIL norme 148),
- indirectes tel que les tests CMT (California Mastitis test) et catalase (Hansen, 2000).

II.5.3. Méthodes directes :

II.5.3.1. Numération par microscopie :

C'est la méthode de référence, ou de Prescott et Breed (1910) qui consiste en le dénombrement des cellules somatiques du lait ; cellules dont le noyau est distinctement coloré par le bleu de méthylène (toutes les cellules leucocytaires et les cellules épithéliales). Elle utilise le comptage visuel sur une lame spéciale appelée lame de BREED.

Suite à la difficulté de mise en œuvre, elle a été délaissée au profit du comptage électronique, plus rapide (Badinaud , 1994).

II.5.3.2. Numération ou comptage électronique (Coulter, fossomatic) :

Il s'agit de comptage automatique réalisé par les laboratoires d'analyses laitières à l'aide d'appareil de type 'Fossomatic' ou 'Coulter Counter'.

La détermination du CCS peut se faire sur un lait:

- D'un quartier (CCIQ : Comptage Cellulaire Individuel par Quartier),
- De mélange des 4 quartiers (CCI : Comptage Cellulaire Individuel).
- De tank (lait de troupeau) (TCT : Taux Cellulaire de Tank).

L'analyse d'une série des moyennes de CCS, et de leur évolution au cours du temps seront toujours plus profitables et plus riches de renseignement que des valeurs absolues ponctuellement relevées.

En cas d'infection, le nombre de cellules augmente en fonction de la nature de l'infection. Ainsi, en général, on considère l'absence d'infection mammaire en dessous de 300 000 cellules, et sa présence si les C.C.I.Q sont supérieurs à 800 000 cellules. Entre ces deux valeurs, on considère qu'il y a infection par un pathogène mineur ou mammite à expression subclinique (Bosquet, 2004).

Le comptage cellulaire étant réalisé sur le mélange des quatre quartiers, on observe une dilution du taux cellulaire du quartier infecté, par les quartiers sains. Ainsi, sur une vache a faible taux cellulaire hors infection, la contamination d'un quartier par certains germes ne provoquant que très peu d'inflammation, peut passer comme une variation de C.C.I. non pathologique. Il est donc important pour établir un diagnostic de suivre les variations de C.C.I. sur plusieurs mois afin de conclure à une probable infection (Durel *et al.*, 2004).

L'analyse des comptages cellulaires (TCT) permet de classer les infections mammaires des élevages, en type environnemental ou contagieux. Ceci autorise une prédiction de la nature du germe en cause et d'adapter des protocoles de traitement et de prophylaxie à mettre en œuvre. Ce n'est pas un diagnostic de certitude mais une aide précieuse dans l'étude globale des infections mammaires dans l'élevage.

II.5.4. Méthodes indirectes

Parmi les nombreuses méthodes indirectes d'appréciation du nombre de cellules du lait (Hanzen, 2000), on distingue :

- Celles basées sur la réaction de gélification induite par l'addition d'un détergent ou d'un alcalin (test de Whiteside, Californian mastitis test et dérivés),
- Le test de la catalase,
- Les méthodes colorimétriques (réaction Feulgen positif).

Les méthodes de mesure directe permettent d'avoir des résultats précis mais nécessitent un laboratoire ; à l'inverse, certaines méthodes indirectes, d'appréciation, peuvent être mises en œuvre à l'étable tel le CMT (Badinaud, 1994).

Le Californian Mastitis test (CMT) reste le test le plus pratique et le plus répandu. Il sera le seul décrit dans ce chapitre.

II.5.4.1. Le Californian Mastitis test:

Le CMT encore appelé Schalm & Noorlander (1957) est une technique d'estimation de la concentration cellulaire, mesurée par l'intermédiaire d'une réaction de gélification qui est en rapport avec la quantité d'ADN présent et par conséquent avec le nombre de cellules (Poutrel et al., 1999)

Le mélange à parties égales d'un agent tensioactif (solution de Na-Teepol à 10%) et de lait provoque la lyse des cellules du lait et la libération de l'ADN de leurs noyaux. L'ADN, constitué de longs filaments, forme alors un réseau qui enrobe les globules gras ainsi que d'autres particules.

Plus les cellules sont nombreuses, plus le réseau est dense et plus l'aspect de flocculât pris par le mélange est intense. L'addition au Teepol d'un indicateur de pH coloré (pourpre de Bromocrésol) facilite la lecture de la réaction.

Après lavage, essuyage et extraction des premiers jets de lait des trayons, l'opérateur remplit chaque coupelle d'un plateau qui en comporte quatre, avec 2ml de lait et 2ml de Teepol (une coupelle par trayon). La lecture est immédiate après mélange des deux liquides par mouvement de rotation du plateau dans un plan horizontal.

L'interprétation des résultats s'effectue selon la grille de notation établie par Schalm et Noorlander (1957) et Schneider et al (1966) (**tableau 2**).

Tableau 2 : Correspondance entre la note du CMT et la numération cellulaire du lait (d'après Schalm et *al*, 1957 ; Schneider, 1966)

Note du CMT	Nombre de cellules($\times 10^3$) par ml	
	Moyenne	Extrêmes
0 ou –	100	0 - 200
1 ou +/-	300	150 - 600
2 ou +	900	400 - 2700
3 ou ++	2700	800 - 8000
4 ou +++	8100	5000 et plus

Des résultats douteux ou négatifs doivent être pris avec précaution. Un comptage cellulaire faible ne signifie pas forcément l'absence d'une infection. La réaction inflammatoire peut être différée ou de faible intensité. (Lepage, 2003)

Le CMT est facilement utilisable en élevage. Il permet de détecter des vaches à taux cellulaires élevés et de repérer le quartier atteint. En effet, ce test est soumis à la subjectivité de l'opérateur et la répétition de l'examen sur des vaches douteuses améliore le diagnostic d'infections mammaires (Ferrouiller et *al.*, 2004 ; Lepage, 2003). Il peut être aussi utilisable en contrôle de guérison, afin de vérifier que les taux cellulaires reviennent à des valeurs normales en un à trois mois après l'infection (Ferrouiller et *al.*, 2004).

II.5.5. Diagnostic étiologique des mammites

II.5.5.1. L'examen bactériologique

Le diagnostic bactériologique individuel a pour but d'isoler et d'identifier le ou les germes responsables de mammites et déterminer leur antibiosensibilité (Farnsworth, 1993 ; Ferrouillet et *al.*, 2004 ; Lévesque, 2007). Cet examen permet un diagnostic de certitude de l'infection mammaire.

II.5.5.1.1. Méthode classique :

Les études réalisées jusqu'à présent, montrent que l'enregistrement des seuls symptômes ne permet pas de définir, de manière fiable, la nature du germe responsable d'une mammite (Argente et *al.*, 2005). Donc, isoler en culture pure l'agent causal des mammites revient à connaître la cause de l'infection. Ajoutant que le lait provenant d'un quartier non infecté, est toujours stérile (Faroult et *al.*, 2003 ; kebbal, 2010).

La valeur de l'examen bactériologique du lait de mammites dépend de la qualité du prélèvement. La culture bactériologique du lait au laboratoire est la méthode actuelle de référence pour l'identification des pathogènes dans le lait (Gedilaghine, 2005).

La méthode de référence en ce qui concerne la bactériologie du lait de mammite a été décrite en 1996 par l'AFSSA sous la référence Bactériologie animale/Pr 116/00/BA 140/00 (Durel et Poutrel, 2006). Aujourd'hui plusieurs méthodes simplifiées des techniques de laboratoire, autorisant un résultat entre 24 et 48 h, sont disponibles (Blains, 2004 ; Durel et Poutrel, 2006 ; Van de leemput, 2007).

Les points clés des protocoles d'analyses consistent :

- À ensemencer un milieu solide et non sélectif, ce qui permet de juger de la qualité du prélèvement. Le milieu de référence est une gélose au sang de mouton coulée dans une boîte de pétri, car elle permet la croissance de la quasi totalité des germes responsables de mammites. Cependant, la croissance des entérobactéries est inhibée par certains constituants du lait, et il est parfois intéressant d'ensemencer également un bouillon nutritif simple au 1/200e, qui pourra alors permettre d'isoler ces bactéries.
- Après 24 à 48 h d'incubation à 37°C en étuve, on observe le développement de bactéries, et il est alors nécessaire d'observer s'il s'agit d'un seul type bactérien ou de plusieurs, selon l'aspect des colonies. Le lait est un matériel rarement poly-contaminé. En effet moins de 10% des laits de mammites contiennent 2 germes et quasiment aucun, trois germes et plus (prélèvement contaminé).
- Suite à l'isolement des germes (ensemencement d'une gélose avec une colonie) une série de tests est mise en place afin d'effectuer la diagnose d'espèce : une coloration de Gram, à laquelle on associe selon le résultat une galerie de test du commerce (Api *Strept*, Api *Stap*..). Cette méthode a pour avantage de pouvoir identifier toutes les espèces de germes.

II.5.5.1.2. Autres méthodes :

a. Le Speed[®] mam color :

Cette technique correspond à une mise en culture spécifique et directe du prélèvement de lait de mammites sur une galerie portées à 35°C. En 24h, la lecture visuelle par virage de couleur des puits concernés, permet une lecture rapide de l'antibiogramme adapté aux molécules antibiotiques vétérinaires et au germe pathogène présent dans le prélèvement. En 48h, la seconde lecture visuelle se fait pour l'identification des bactéries, détectables à des concentrations bactériennes $> 10^3$ (Manner, 2001).

b. Polymerase Chain Reaction (PCR) :

Cette technique permet d'identifier les espèces bactériennes dans le lait par analyse de l'ADN bactérien (Ogier, 2006). Les avantages de la PCR sont : les bactéries peuvent être vivantes ou non, les échantillons peuvent contenir des antibiotiques et les résultats sont disponibles en 24 heures. Par contre, ce test est coûteux. De plus, actuellement, la PCR n'est utilisée que pour la détection de certains organismes dans le lait (*S.aureus*, *Strep. agalactie* et *Mycoplasma* spp) (Wallace, 2007).

c. Test immuno-enzymatique (Identification des anticorps et des antigènes spécifiques) :

Se sont des techniques très rapides (environ 2 heures), possèdent une bonne sensibilité et sont très spécifiques à condition d'utiliser des antigènes purifiés et des anticorps monoclonaux (Manner, 2001). Elles sont basées sur un test ELISA recherchant les anticorps dirigés contre une bactérie en particulier. Leur intérêt par rapport à la bactériologie est la rapidité d'obtention des résultats (2h) et son faible coût lorsque la technique est automatisée. Néanmoins, il existe des réactions croisées ayant pour conséquence des résultats faussement positifs (Alexandre, 2005).

II.6. Importance des mammites bovines :

II.6.1. Importance médicale

Les mammites suraiguës peuvent causer la perte de l'animal ou tout du moins du quartier atteint. Les mammites subcliniques sont souvent difficilement curables et entraînent la

réforme de l'animal et son abattage précoce. Les mammites aiguës et suraiguës altérant l'état général de l'animal, peuvent intervenir comme facteurs prédisposant à d'autres maladies de la vache laitière, comme les déplacements de caillette, des arthrites ou des endocardites secondaires au passage du germe dans la voie sanguine (Berthelot et Bergonier, 2006)

II.6.2. Importance économique

L'ampleur des infections intra mammaires a été et demeure sous-évaluée. Selon Rychembush (2005), le coût des mammites représente près de 27 à 30% par rapport aux autres pathologies du bovin laitier. Selon Vanderstocken (2000), l'impact économique de cette maladie d'élevage est estimé entre 5 et 78 euros par vache et par an, en ne prenant pas en considération le manque à gagner tel que la baisse de production et la diminution des performances zootechniques (Araujo, 2004 ; Kebbal, 2010). Le paradoxe est que, malgré le coût très important des infections mammaires (2 fois plus que les maladies de la reproduction) (Araujo, 2004), elles sont les moins bien gérées par l'éleveur.

Leurs conséquences sont de nature diverse, selon qu'elles concernent le producteur (éleveur) ; le transformateur (laiterie) et le consommateur (Halasa et *al.*, 2007 ; Kebbal, 2010).

II.6.2.1. Le producteur :

Les pertes sont de plusieurs ordres :

- a. **Pertes en production de lait** : Une baisse de la synthèse de la glande mammaire est d'autant plus prononcée que l'inflammation est importante et durable (Serieys et *al.*, 1987; De Clermont, 1992 ; Hortet et Seegers, 1998). Les pertes en quantité peuvent varier de 6 à 25% (% en lactation) respectivement, pour des concentrations cellulaires de 150 à 400 000 cellules / ml et au delà de 200 000 cellules / ml (Radostitis et Blood, 1985).
- b. **Coûts de traitements** : Halasa et *al.*, (2007) ont estimé le coût moyen du traitement des infections intra mammaires cliniques à 70 €.
- c. **Dépréciations commerciales** et même des pénalités, résultant d'une augmentation du taux cellulaire, de la présence d'antibiotiques ou résidus, d'une chute de la qualité et de la quantité de la production (Lombardot, 1993 ; Le Roux, 1999 ; Jadoul, 2005).
- d. **Détériorations des performances zootechniques** accrues, telles que l'augmentation des intervalles entre les vêlages (de 24 à 58 jours, voire 120 et plus), des contaminations de vaches saines, des animaux incurables (porteurs de germes) (Eberhart, 1986 ; Olivier et *al.*, 1990 ; Bravard et Leemput, 2007 ; Nagahata et *al.*, 2007). Le risque pathologique conduisant à la prise en compte des pertes de temps dues à l'augmentation du temps de travail, du coût de la réforme (Beck et *al.*, 1992 ; Seegers et *al.*, 2003 ; Schneider et *al.*, 2007). Et une baisse considérable de la production laitière.

II.6.2.2. Le transformateur : Il est confronté aux perturbations de procédés de fabrication (augmentation de la température de chauffe, défaut de goûts, produits déclassés, irrégularités de la qualité ...) (Michelutti et *al.*, 1999).

II.6.2.3. Le consommateur : Le lait de mammites clinique n'est pas commercialisé mais celui des infections subcliniques peut entrer dans la production de fromage, lait et autres produits laitiers. La contamination de ceux-ci par certains germes pathogènes (ou de leur toxines) tels que les Brucelles, les Mycobactéries, les Listéria, les Streptocoques (*St. Agalactiae*), les Staphylocoques, les Entérobactéries et les Salmonelles, représentent un réel danger pour le

consommateur (Brouillet, 2000). Ils peuvent être responsables de toxi-infections alimentaires en l'absence de pasteurisation (Gedilaghine, 2005).

II.7. Fréquence des mammites :

L'incidence moyenne des mammites est variable selon les études, d'environ 50 cas pour 100 vaches et par an en Grande-Bretagne (Green, 2007) et de 22 à 140 cas pour 100 vaches et par an en France (Berthelot et Bergonier, 2006).

II.7.1. Prévalence des germes responsable de mammites cliniques :

A l'origine, *Streptococcus agalactiae* était considéré comme la bactérie pathogène essentielle à l'origine des mammites. Ainsi, dans la première moitié du 20^{ème} siècle, il était fréquent de rencontrer de 50 à 60 % de vaches infectées dans un troupeau laitier (Schalm *et al*, 1971).

Selon Phillipot *et al* (1995) le remplacement de la traite manuelle par la traite à la machine a augmenté les infections à *Staphylococcus aureus*.

Les résultats d'une étude réalisée par Milne *et al.*(2002) en Angleterre sur les mammites cliniques, montrent que *Streptococcus uberis* est le principal germe responsable des mammites cliniques, devant *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (respectivement 37, 23 % et 3 %).

Des résultats semblables ont été rapportés en France par Fabre *et al.*, (1997). En effet, les *Streptococcus uberis* et *Escherichia coli* ont été isolés, respectivement, dans 37 % et 18 % des cas. Alors que *Staphylococcus aureus* n'a été identifié que dans 17% des cas. Dix pour cent de *staphylocoques à coagulase négative* et 2% d'*Arcanobacterium bovis* ont aussi été trouvés. Cette dernière catégorie de germes est habituellement considérée comme des bactéries pathogènes mineures. Selon Fabre *et al* (1997), les germes pathogènes mineurs sont de plus en plus impliqués dans les cas cliniques.

Au Canada, 40,2% de germes pathogènes majeurs ont été isolés dans les quartiers atteints de mammites cliniques. La prévalence de *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* a été, respectivement, de 18,9%, 16,5% et 9% (Sargeant *et al*, 1998). Selon, ces mêmes auteurs les *staphylocoques coagulase négative* peuvent être également responsables de mammites cliniques à un taux de 38,5 %.

Cependant, il est signalé que cette répartition statistique des bactéries isolées lors d'un examen bactériologique varie au cours du cycle de production. En effet, Jayaro *et al.* (1999) ont montré que la saison ou les conditions environnementales pouvaient influencer la fréquence d'apparition de *Streptococcus uberis*. De même, en fin de lactation et au tarissement, la prévalence de cette bactérie est plus élevée (Smith *et al.*, 1985 ; Todhunter *et al.*,1993 ; Durel *et al.*, 2004). *Staphylococcus aureus* serait également plus fréquent en début et fin de lactation alors que *Escherichia coli* serait plus fréquentes en début de lactation (Durel *et al.*, 2004) , peu ou pas du tout isolé (Marignoni *et al*, 1991). *Escherichia coli* est, en effet, plus facilement traité pendant la lactation que *Staphylococcus aureus* (Serieys, 1997) et les guérisons bactériologiques spontanées sont fréquentes.

II.7.2. Prévalence des germes responsable de mammites subcliniques :

Les résultats d'une étude réalisée par Busato *et al*, (2000) en suisse sur des prélèvements de lait présentant un CMT supérieur à 1+ ont montré une prévalence des mammites subcliniques en fin de lactation et en début de lactation a des taus de 34,5% et 21,2% respectivement. Les bactéries pathogènes mineures ont été plus souvent isolées que les majeures [les germes isolés : *Staphylocoques coagulase négative* (50,6%) , *Arcanobacterium bovis* (45,1%) , *Staphylococcus aureus* (7,4%), *Streptococcus uberis* (15,6%) et *Escherichia coli* (0,4%)]. Selon ces mêmes auteurs, ces mammites peuvent être dues à des infections persistantes qui n'ont pas été complètement guéries au moment de leur diagnostic clinique, mais peuvent aussi être dues à des bactéries pathogènes mineures non prises en considération dans les plans de lutte actuels.

Selon l'étude réalisée par Fabre et *al.* (1997), chez des vaches ayant présenté des mammites subcliniques avant le tarissement, le taux des pathogènes mineurs isolés a été plus élevé que celui des pathogènes majeurs (*staphylocoques à coagulase négative* (41%) vs *S. aureus* (29%). Les autres germes isolés dans l'étude suscitée sont : *S. uberis* (12%), *C.bovis* (8%) et *E.coli* (2%).

II.7.3. Prévalence des germes responsable de mammites en Algérie :

Selon Beroual, (2003) la fréquence des mammites cliniques et subcliniques est élevée dans les élevages laitiers en Algérie. En effet, L'étude menée par Bouaziz (2005), dans la région est de l'Algérie, rapporte que les germes les plus isolés lors de mammites sont ; *Staphylococcus aureus* (30,9%), *staphylocoques coagulase négative* (25,9%), *Streptococcus agalactiae* (23,2%) et *Escherichia coli* (15,9%) ; *Micrococcus spp.* et *Enterococcus faecium* (4,1%) . Les résultats obtenus par cet auteur montrent une prédominance (80%) des germes à réservoir mammaire (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *staphylocoque coagulase négative*) par rapport aux germes d'environnement (20%) (*Escherichia coli* et autres germes)

Les résultats d'une autre étude menée par Asnoune et *al* (2012) au nord-est de l'Algérie, montrent que les principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières sont *Staphylococcus aureus* 30 % et *Staphylocoques à coagulase négative* (SCN) (43 %). Les principales espèces de SCN isolées ont été *S. chromogenes* et *S. epidermis* avec des fréquences respectives de 18,4 % et 12,3 %.

Les germes dits de réservoir mammaire ont été majoritaires et représentés par *S. aureus*, avec un taux de prévalence de 79,4 % des bactéries isolées. La fréquence des germes de l'environnement, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.* et *Streptococcus uberis*, ont été respectivement de 14,5 %, 2,2% et 3,9%, soit une fréquence globale de 20,6 %. Les cas de mammites subcliniques pour lesquelles une seule espèce a été isolée ont représenté 58,1 % des échantillons positifs. Ils ont été dominés par les SCN. Les cas d'infections multiples représentés par l'association de deux espèces ont concerné 41,9 % des échantillons positifs. Le germe le plus souvent isolé en association avec un autre a été *Staphylococcus aureus*.

La fréquence relative de germes responsable de mammites dans différentes régions géographique d'Algérie est rapportée dans le **tableau 3**. Les résultats des différentes études montrent que les Staphylocoques sont dominants (42,22% et 58%) ; suivis par les coliformes (7,96% et 30%) et les Streptocoques (0% et 13%).

Tableau 3 : Résultats bactériologiques de quelques études réalisées dans différentes régions d'Algérie (Kebbal ,2010).

Région d'étude		Germes isolés	Références
Ouest	Tiaret	Entérobactéries : 100 % ; Staphylocoques : 54% ; Streptocoques : 13%.	Ghazi (1997)
	Tiaret + Relizane	<i>S. aureus</i> : 46,25 % ; <i>E coli</i> : 17,5 ; <i>Klebsiella Spp</i> : 10,0 ; <i>Enterobacter aerogenes</i> : 15 ; Streptocoques D : 1,25.	Fernane (2000)
Centre	Alger + Blida	Staphylocoques et microcoques : 63,18 ; Entérobactéries et Pseudomonas : 26,78 ; Streptocoques : 10,04	Belkhiri (1993)
	Blida	<i>S. Aureus</i> : 10,16 ; SCN : 32,06 ; Streptocoques majeurs : 4,86. ; Entérobactéries : 9,23: 44,16.	Bellala et Benamar (1997)
	Blida	<i>S. aureus</i> * : 50,55 ; SCN** : 41,76 ; Coliformes : 7,96.	Beroual (2003)
	Blida	<i>S. aureus</i> : 58 ; SCN : 12 ; <i>E. coli</i> : 30	Baazize (2006)
Est	Constantine	Germes contagieux : 58,8 ; Germes d'environnement : 41,2.	Bouaziz et al., (2007)
Nord Algérien	<u>Est</u> : (Annaba + Souk Ahras + Sétif) <u>Centre</u> : (Blida + Tipaza) <u>Ouest</u> : Tlemcen	Staphylocoques : 48,4 ; Streptocoques : 10,8	Bulletin Sanitaire Vétérinaire (2002)

*: *Staphylococcus aureus*. **: Staphylocoques coagulase négative.

CHAPITRE III : TRAITEMENT ET PREVENTIONS DES MAMMITES

III.1. Le traitement des mammites :

La mise en place d'une approche curative de la mammite dans un élevage doit prendre en considération divers paramètres relatifs au (Faroult, 1999):

- Diagnostic (symptomatique versus étiologique, précoce ou tardif, individuel ou d'élevage),
- Germe (localisation au niveau des réservoirs, résistance),
- Animaux (symptômes cliniques ou sub-cliniques),
- Antibiotique (propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques, interactions et efficacité),
- Moment du traitement (en lactation voir au tarissement),
- Conséquences du traitement (aspects économiques, résidus, bonnes pratiques vétérinaires).

En effet, la réussite d'une antibiothérapie est liée à une intervention rapide, massive et prolongée. Il existe 3 types de préparations antibiotiques intra-mammaires dans le commerce (Guerin *et al.*, 2012) :

- AR = action rapide. Ces traitements sont en général administrés en cas de mammite aiguë en lactation. Les délais d'attente pour le lait et la viande sont alors peu importants (respectivement 4 à 6 traites et 0 à 7 jours).
- LA = longue action. Ces traitements sont indiqués en cas de mammite chronique en lactation. Les délais d'attente pour le lait et la viande sont légèrement plus importants que pour les traitements AR (respectivement 7 à 10 traites et 0 à 7 jours).
- HL = hors lactation. Ces traitements sont destinés aux mammites subcliniques ou chroniques au moment du tarissement. Les délais d'attente pour le lait et la viande sont alors plus élevés (respectivement 15 à 30 jours après l'administration en cas de vêlage prématuré et 28 jours).

En ce qui concerne les antibiotiques que l'on peut administrer par voie parentérale, très peu d'entre eux se concentrent dans le lait, et auront donc une utilité pour le traitement de la mammite (Guerin *et al.*, 2012).

III.1.1. Le moment du traitement :

Un traitement doit être aussi précoce que possible; l'alternatif traitement en lactation vs traitement au tarissement existe. Le choix dépendra des symptômes présentés par l'animal. On privilégiera le traitement en lactation pour les mammites cliniques et le traitement au tarissement pour les mammites sub-clinique (Radostits *et al.*, 1997).

III.1.1.1. Le traitement des mammites en lactation (mammites cliniques) :

La disparition des signes cliniques et la guérison bactériologique sont les objectifs du traitement en lactation. Le choix du traitement est basé sur son effet bactéricide et ses critères économiques (Faroult, 1998). Ce dernier doit être mis en place une fois la mammite détectée : son étiologie bactérienne étant inconnue, il doit débiter avec un antibiotique à large spectre ou une association d'antibiotiques. L'antibiothérapie par voie générale peut être envisagée lors de mammites avec répercussion sur l'état général (Flache, 2002).

III.1.1.2. Le traitement des mammites hors lactation :

Selon SERIEYS et FAROULT (2001), la définition d'un plan de traitement au tarissement nécessite au préalable l'évaluation de deux types de risques sanitaires potentiels :

- Le risque de non guérison des infections subcliniques de la lactation précédente, présentes le jour du tarissement.
- Le risque de nouvelles infections, au cours de la période sèche.

Suite à l'évaluation des risques, deux grands types de plan de traitement sont envisageables :

- Un traitement uniforme pour toutes les vaches du troupeau.
- Des traitements différenciés pour plusieurs groupes de vaches.

a. Stratégie et plans du traitement uniforme :

Le principe est d'administrer le même traitement à toutes les vaches du troupeau quel que soit leur statut : infectées ou non infectées, sensibles ou résistantes, à faible ou à forte valeur économique. Ce traitement est le plus souvent d'une efficacité correcte avec en moyenne des taux de prévention des nouvelles infections de l'ordre de 50% et des taux de guérisons bactériologiques des quartiers de l'ordre de 75% (Serieys et Faroult, 2001). La spécialité à utiliser doit pouvoir exercer une double fonction, préventive et curative. (Serieys et Faroult, 2001).

b. Stratégie et plans de traitement différenciés :

En premier lieu, elle doit prendre en compte l'état d'infection des vaches au moment du tarissement. Les vaches infectées ou douteuses qui sont très sensibles aux nouvelles infections, reçoivent un traitement à but curatif et préventif, éventuellement renforcé.

Les vaches non infectées reçoivent un traitement orienté vers la prévention, voir dans certains cas sont laissées sans traitement.

III.1.2. Voie du traitement :

Il existe deux types de voies de traitement à savoir la voie parentérale et la voie intramammaire.

III.1.2.1. Le traitement parentéral :

Il est conseillé dans tous les cas de mammites qui se traduisent par des signes généraux intenses, de façon à prévenir l'apparition d'une septicémie ou d'une bactériémie et aider à la lutte contre l'infection glandulaire (Radostits et *al*, 1997).

III.1.2.2. Les infusions mammaires :

Du fait de leur commodité et de leur efficacité, les infusions mammaires sont la méthode la plus en vigueur. Des tubes à usage unique contenant les antibiotiques au sein d'une crème hydrodispersible sont les plus faciles d'emploi pour le traitement de sujets isolés; les infusions aqueuses sont convenables car moins chères, lorsqu'un grand nombre de quartiers est à traiter (Radostits et *al*, 1997).

III.2. L'échec thérapeutique :

Malgré une antibiothérapie raisonnée et appropriée, des échecs thérapeutiques ou la non guérison bactériologique ne sont pas rares (Du Preez, 2000 ; Guerin-Fauble et *al.*, 2003).

Ainsi, d'après Faroult (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 sont de l'ordre de 80%, ces résultats ne sont pas aussi élevés avec les autres espèces de streptocoques (Serieys, 2003).

L'échec peut être dû à une concentration en antibiotique trop faible, à un traitement trop court, à un antibiotique inadapté ou à l'inaccessibilité des germes (Guerin et *al.*, 2012).

III.2.1. Rechute :

Une rechute est caractérisée par l'apparition d'une nouvelle mammite clinique pendant la même lactation. Ce phénomène peut être dû à une absence de guérison bactériologique malgré une guérison clinique à la fin du traitement ou à une nouvelle infection par une bactérie différente (Guerin et *al*, 2012).

Dans le cas d'une rechute moins d'une semaine après la fin du premier traitement, la marche à suivre consiste à utiliser le même antibiotique mais de forme longue action ou à changer d'antibiotique. Dans le cas d'une rechute plus d'une semaine après la fin du premier traitement, l'hypothèse d'une nouvelle infection peut être émise (qui sera confirmée par la culture et l'isolement d'une bactérie différente (Guerin et *al*, 2012 ; Sears et Mc Cathy, 2003).

III.3. Prévention des mammites :

Le contrôle des mammites dans un élevage est beaucoup mieux accompli par la prévention que par le traitement.

En général, les infections existantes persistent même lorsqu'elles sont traitées; les efforts doivent donc se concentrer sur la réduction de nouvelles infections (Wattiaux, 1999).

III.3.1. Prophylaxie médicale :

- **Vaccin contre les mammites à coliformes (*E. coli*)** : Certaines études cliniques contrôlées ont démontré une incidence de mammites à coliformes quatre à cinq fois inférieure chez les vaches vaccinées par rapport aux vaches non vaccinées, sans toutefois prévenir les nouvelles infections intra mammaire subclinique (Hogan et Smith, 2003).
- **Vaccin contre les mammites à *Staphylococcus aureus*** : L'injection des fragments d'ADN qui simuleront la présence des bactéries stimule le système immunitaire des vaches. Les brins d'ADN choisis correspondent à des gènes responsables de la production de protéines spécifiquement associées à la virulence de *Staphylococcus aureus* (Forget, 2005).

III.3.2. Prophylaxie sanitaire :

Le but est de maîtriser les sources des germes, les mécanismes de transmission et les facteurs propres de l'animal, chaque point critique correspond à une ou plusieurs mesures sanitaires (Brouillet et Raguet, 1990).

Pour les mammites à réservoir mammaire, les mesures prophylactiques visent à empêcher la contagion à l'occasion de la traite. Pour les mammites à source environnementale, il s'agit prioritairement de veiller aux conditions d'ambiance et à l'hygiène du logement avec une attention particulière pour les aires de couchage (Seegers et *al*, 2002).

D'une manière générale la prophylaxie repose sur (Fetrow , 1988 ; Labbé , 2003 ; Guerin et *al*, 2012):

- L'hygiène du logement : le paillage doit être effectué chaque jour avec 1,2 Kg de paille /m² et le fumier doit être curé de préférence 2 fois par jour.
- L'hygiène de traite et l'utilisation de serviette individuelles.
- L'hygiène de la machine à traire.
- Le trempage ou la pulvérisation des trayons avant et après la traite.
- La réforme des cas chroniques incurables.

PARTIE

EXPERIMENTALE

La présente étude a porté sur la caractérisation des germes responsables de mammites subcliniques pendant la période du péripartum avec adoption d'une démarche de diagnostique bactériologique comportant les méthodes bactériologiques classiques pour l'isolement et l'identification des souches.

I.1. Période de l'étude :

Notre partie expérimentale a été réalisée au sein du Laboratoire de Recherche de Microbiologie à l'Institut Sciences Vétérinaires de Blida de l'Université de Blida 1, durant la période allant de février 2016 à avril 2016 (durée de 3 mois).

I.2. Matériel et Méthodes:

I.2.1. Matériel

I.2.1.1. Matériel Biologique:

L'étude a porté sur 75 prélèvements de lait de vaches laitières appartenant à 13 exploitations laitières (élevages) situés dans les wilayas de Tizi-Ouzou (31 échantillons) et Blida (44 échantillons).

I.2.1.2. Matériels non Biologique :

Nous avons utilisé des milieux et réactifs pour l'analyse bactériologique classique ainsi que le nécessaire du laboratoire (cf. Annexe A).

I.2.2. Méthodes :

I.2.2.1. Echantillonnage (prélèvement de lait)

Nos échantillons étaient prélevés en collaboration avec des étudiants de l'institut des sciences vétérinaires de Blida préparant un mémoire de fin d'études.

Les prélèvements de lait ont été réalisés après un dépistage des mammites subcliniques dans les élevages de vaches laitières (régions de Tizi-Ouzou et Blida) pendant la traite du soir. Ce dernier, consiste à faire un examen clinique de la mamelle (inspection et palpation) des vaches au stade fin et début de lactation afin d'écarter la présence de mammites cliniques.

En fin, un test CMT (californien Mastitis Test) a été utilisé selon la technique décrite par (Schalm et *al*, 1957) pour détecter les vaches présentant une mammite subclinique. Le score du CMT va de 0 à 4 en fonction de l'aspect du mélange. Ce test est considéré positif à partir d'un score de 2. Tout, quartier présentant un score ≥ 2 a été prélevé.

Afin d'éviter une éventuelle contamination, le prélèvement de lait a été réalisé comme suit :

- Un nettoyage du quartier avec de l'eau tiède et du savon
- Séchage du quartier au moyen de papier à usage unique
- Désinfection soigneuse de l'extrémité du trayon à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 70° (s'il y a plusieurs trayons à prélevés on commence par les trayons les plus éloignés).
- Désinfection des mains avec de l'alcool et port de gants stérile.

- Prélèvement du quartier: ouverture du tube en tenant le bouchon dans la même main, élimination des premiers jets, prélèvement de 60 millilitres de lait et en fin fermeture du tube (**figure 6**).
- Les échantillons identifiés et placés sous froid dans une glacière sont congelés en attendant leur analyse au niveau du laboratoire de Bactériologie de l'institut de sciences vétérinaires de Blida.



Figure 5: Les prélèvements de lait mammitéux (photo originale)

I.2.2.2. Examen bactériologique des laits mammitéux :

L'identification bactérienne par les méthodes classiques a porté sur les germes les plus fréquemment rencontrés en élevages bovins laitiers en l'occurrence : les Entérobactéries, les Staphylocoques et les Streptocoques.

Les différentes étapes du protocole expérimental utilisé pour l'identification des germes sont reportées dans la **figure 7** :

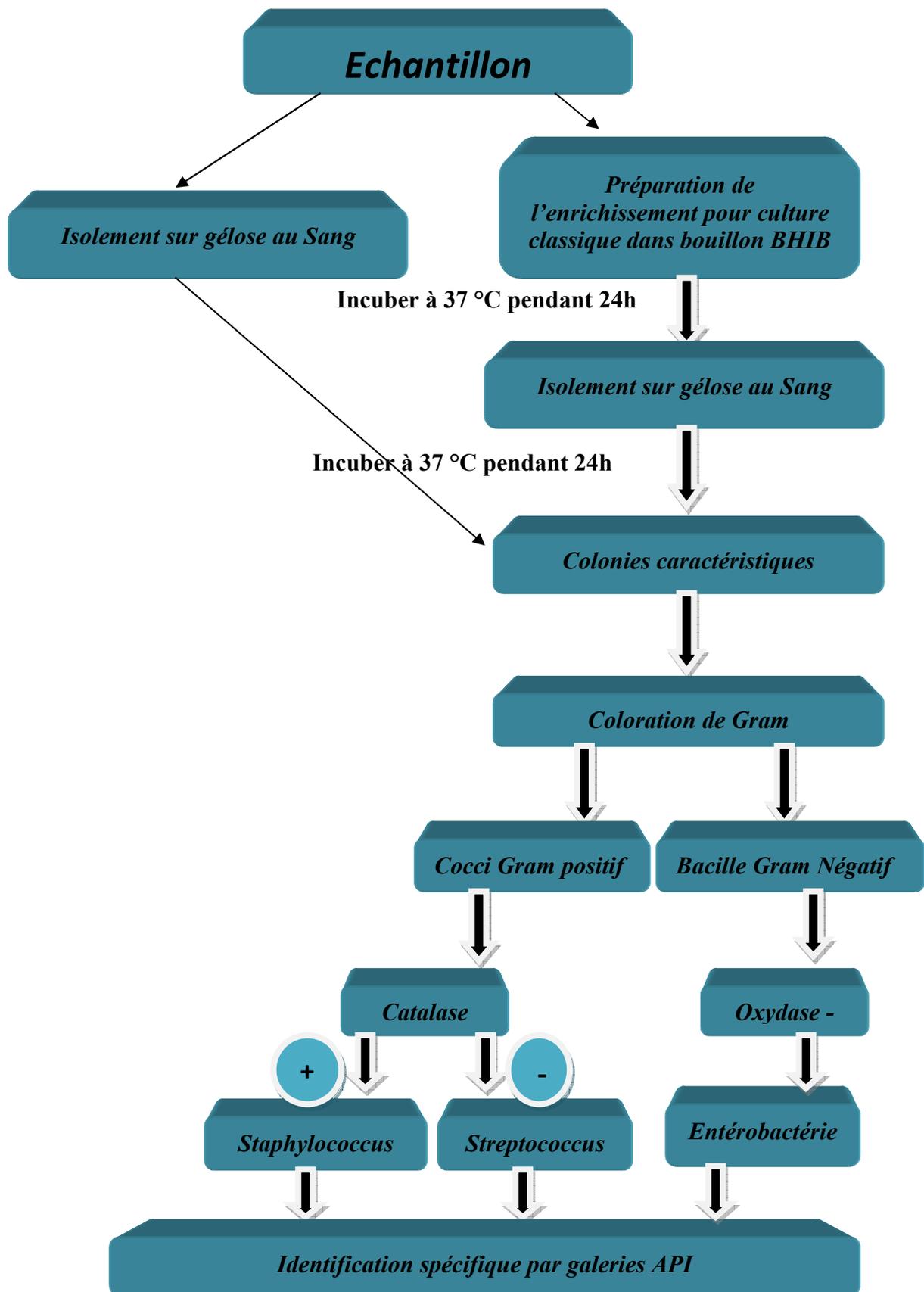


Figure 6: Protocole expérimental d'identification des germes

a. Préparation de l'enrichissement (J₁):

- Prélever 1ml de l'échantillon, l'introduire dans un tube de bouillon cœur-cerveille (BHIB) et incuber à 37 °C pendant 24h (**figure 8a**).
- Au même temps prendre une goutte du même échantillon et faire un ensemencement en étalage sur la gélose au sang et incuber à 37 °C pendant 24h (**figure 8b**).

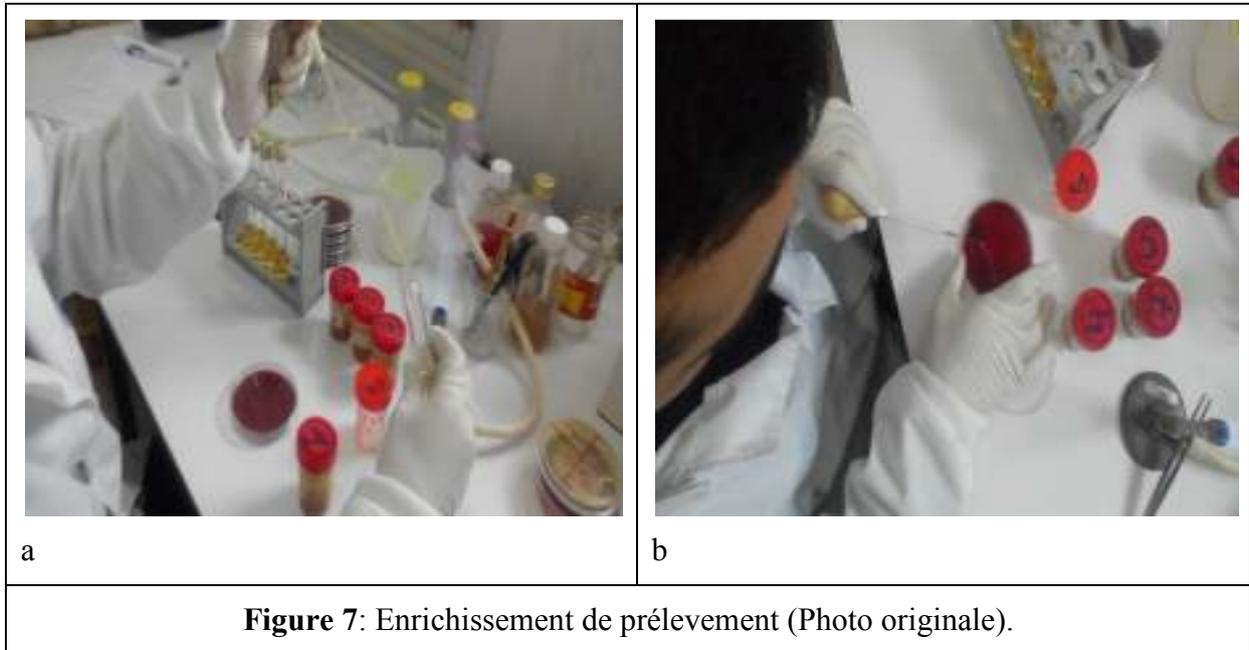


Figure 7: Enrichissement de prélèvement (Photo originale).

b. Isolement sur gélose au sang (J₂):

- Si nous avons des colonies sur la gélose au sang, on procède alors à la purification (**figure 9**).
- Si l'ensemencement sur gélose au sang est négatif, dans ce cas, on prélève une goutte à partir du bouillon d'enrichissement, pour faire un isolement sur une gélose au sang et incubation à 37 °C pendant 24-48h.



Figure 8: Isolement sur gélose au sang (Photo originale).

c. Purification des souches (J₃) :

L'ensemble des souches isolées ont été purifiées sur une gélose nutritive ou gélose triptycase soja, incubées à 37°C pendant 24h.

d. Identification biochimique (J₄)

➤ Identification préliminaire

Sur la base de l'aspect des colonies caractéristiques sur la gélose au sang des germes les plus fréquemment rencontrés (Staphylocoques, streptocoques et *Entérobactérie*) nous avons pratiqué :

- Une coloration de Gram, qui est réalisé comme suit :
 - Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute, puis rincez à l'eau
 - Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée) : étalez le lugol et laissez agir le même temps que le violet de gentiane ; rincez à l'eau déminéralisée.
 - Décoloration (rapide) à l'alcool (+acétone) est l'étape la plus importante de la coloration : versez goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveillez la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincez abondamment avec de l'eau déminéralisée pour stopper la décoloration. Attention, l'utilisation abusive de l'alcool aura pour conséquence de rendre toutes les bactéries gram négatif.
 - Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. Mettez de l'eau distillée sur la lame et quelques gouttes de fuchsine. Laissez agir de 30 secondes à 1 minute. Lavez doucement à l'eau déminéralisée. Séchez la lame sur une platine chauffante à 50°C.
 - Observez avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement ×1000).
- La recherche de la catalase pour les cocci Gram positif (genres *Staphylococcus* et *Streptococcus*) :
 - Sur une lame de verre propre, déposer une goutte de H₂O₂, puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette pasteur boutonnée ou une anse plastique à usage unique. Il ne faut pas utiliser une anse en métal car elle serait alors oxydante :
 - Si des bulles se forment, la bactérie possède la catalase.
 - Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme.
- La recherche d'oxydase pour les bacilles Gram négatif :
 - La recherche d'oxydase est un test fondamental pour orienter l'identification des bacilles Gram-. Le chlorhydrate ou le N-diméthyl paraphénylène diamine (PDA) est utilisé comme réactif, généralement imprégnés sur des disques (disques oxydases). Un de ces disques est placé sur une lame et une colonie y est déposée avec une pipette pasteur. S'il y a apparition d'une tache violette au bout de 30 secondes, la bactérie est oxydase+ et elle possède la cytochrome oxydase. Et rien n'apparaît, cela signifie que la bactérie est oxydase- et qu'elle ne possède pas l'enzyme respiratoire (cytochrome oxydase).

Les souches ainsi confirmées (identifiées par les méthodes classiques) sont conservées pour une identification spécifique par galeries API.

➤ **Identification spécifique par galeries API**

- Préparation de la galerie : identification
- Préparation de l'inoculum et ensemencement : réalisation d'une suspension bactérienne dans de l'eau distillée selon la densité correspondante ; procéder ensuite à l'ensemencement et suivre les étapes prescrites dans la notice accompagnant les galeries utilisées à savoir : Api 20^E pour entérobactéries, Api staph et api strept (**figure 13**).
- Incubation à 37 °C pendant 24h



Figure 9: Ensemencement d'une galerie API (Photo originale).

e. Lecture de la galerie (J₅):

- Lecture macroscopique des puits de la galerie.
- Lecture numérique à l'aide du livre d'identification.
- Lecture numérique à l'aide du logiciel API web.

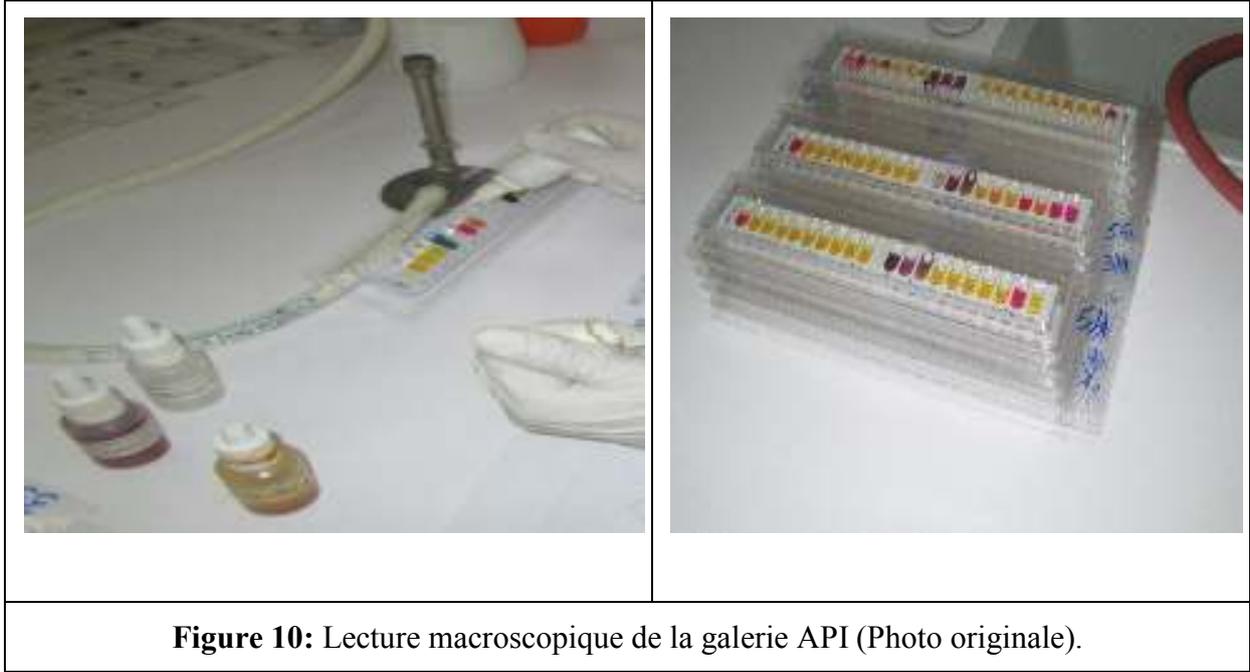


Figure 10: Lecture macroscopique de la galerie API (Photo originale).

Les souches bactériennes identifiées ont été conservées sur des géloses nutritives inclinées.

Résultats et Discussion

II. Résultats :

II.1. Résultats du dépistage des mammites :

Les résultats du dépistage sont présentés selon la chronologie suivante :

II.1.1. Répartition des échantillons en fonction de la région d'étude

Les soixante-quinze (75) échantillons de lait mammitieux prélevés répartis en fonction de la région d'étude sont reportés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4: répartition des échantillons de lait mammitieux en fonction de la région d'étude.

Prélèvements de laits	Région d'étude	
	Tizi-Ouzou	Blida
Nombre	31	44
%	41.33	58.66

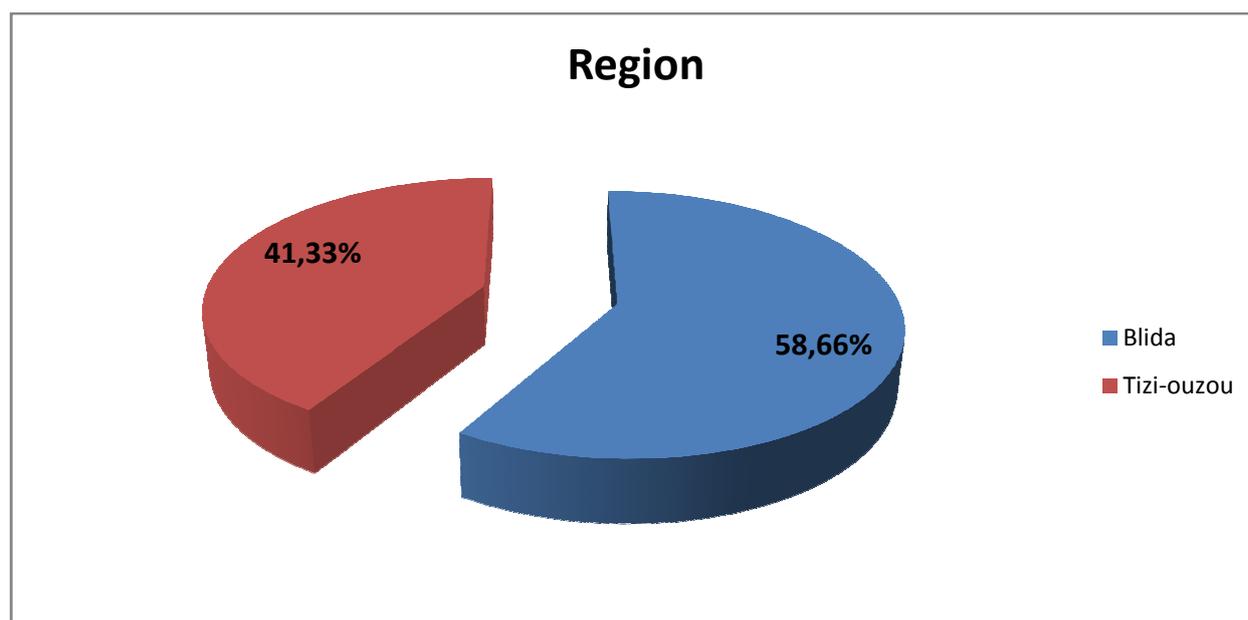


Figure 11 : répartition des échantillons de lait mammitieux en fonction de la région d'étude.

Nos résultats montrent que sur les 75 échantillons de lait de quartiers mammitieux prélevés :

- f. 31 prélèvements proviennent de la région de Tizi-Ouzou soit un taux de 41.33 %
- g. 44 prélèvements proviennent de la région de Blida soit un taux de 58.66 %

II.1.2. Résultats du dépistage en fonction du score de CMT

La répartition des échantillons de lait mammitieux en fonction du score de CMT sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 5 : répartition des échantillons de lait mammitieux en fonction du score de CMT.

Score CMT		Région d'étude		Total (n=75)
		Tizi-Ouzou (n=31)	Blida (n=44)	
2	Nombre	17	22	39
	%	54.84	50.00	52
3	Nombre	11	16	27
	%	35.48	36.36	36
4	Nombre	03	06	09
	%	9.68	13.64	12

Nos résultats montrent que le nombre d'échantillon de lait ayant présenté un score CMT de :

- 2 a été de 39 soit un taux global de 52 %.
- 3 a été de 27 soit un taux global de 36 %.
- 4 a été de 09 soit un taux global de 12 %.

II.1.3. Résultats du dépistage en fonction de la position du quartier prélevé :

La répartition des échantillons de lait mammitieux en fonction du quartier prélevé est reportée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6: répartition des échantillons de lait mammitieux en fonction de la position du quartier.

Position du quartier		Région d'étude		Total (n=75)
		Tizi-Ouzou (n=31)	Blida (n=44)	
Antérieur	Nombre	18	18	36
	%	58.07	40.90	48
Postérieur	Nombre	13	26	39
	%	41.93	59.10	52

D'après les résultats du tableau ci-dessus il en ressort que le nombre de quartiers :

- Antérieurs mammitieux a été de 36 soit un taux global de 48 %.
- Postérieurs mammitieux a été de 39 soit un taux global de 52 %.

II.2. Résultats des analyses bactériologiques :

II.2.1. Répartition des cultures

Les analyses bactériologiques effectuées par les méthodes classiques (méthodes de références) ont permis, à partir des 75 prélèvements de lait provenant de quartiers présentant les signes de mammite, d'obtenir (**figure 15**):

- 11 cultures négatives, soit 14,66%.
- 50 cultures positives, soit 66,66%, qui se distribuent comme suit :
 - 46 cultures pures, soit 61,33 %.
 - 04 cultures mixtes (avec 2 germes), soit 5,33%.
- 14 cultures contaminées (≥ 3 germes), soit 18,66%.

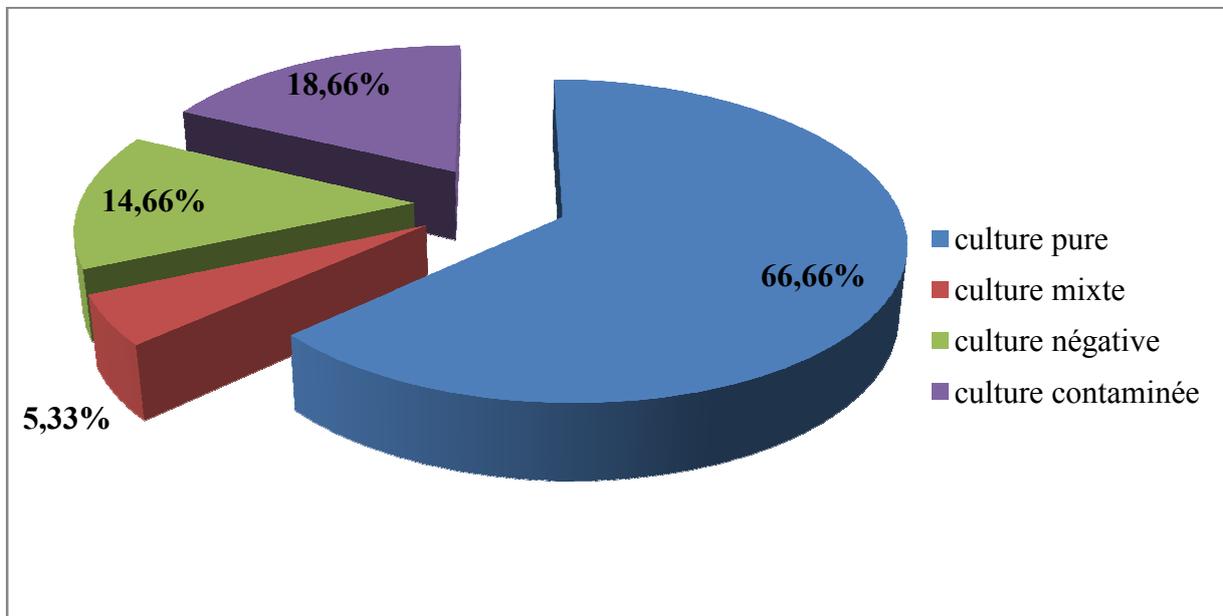


Figure 12: représentation graphique des résultats des analyses bactériologiques.

II.2.1.1. Identifications des souches bactériennes isolées :

L'identification préliminaire des colonies caractéristiques sur gélose au sang a révélée les résultats rapportés dans le **tableau 7**.

Tableau 7: Résultats de l'identification préliminaire des souches bactériennes.

Souches	Nombre	%
Genre <i>Staphylococcus</i>	22	40,47
Famille <i>Entérobactériacae</i>	10	18,51
Famille <i>Streptococacae</i>	14	25,92
Genre <i>Pseudomonas</i>	01	1,85
Autres	07	12,96
Total	54	100

Les résultats obtenus, à partir des 50 cultures positives, ont révélés 54 souches se distribuant comme suit :

- souches se distribuant comme suit :
 - 22 souches appartenant au genre *Staphylococcus*, soit 40,75%.
 - 14 souches appartenant à la famille des *Streptococacae*, soit 25,92%.
 - 10 souches appartenant à la famille des *Enterobacteriacae*, soit 18,51%.
 - 01 souche appartenant au genre *Pseudomonas*, soit 1,85%.
 - 07 souches non identifiées autres que celles recherchées, soit 12,96%.

Une représentation graphique de ces résultats est rapportée par la figure suivante :

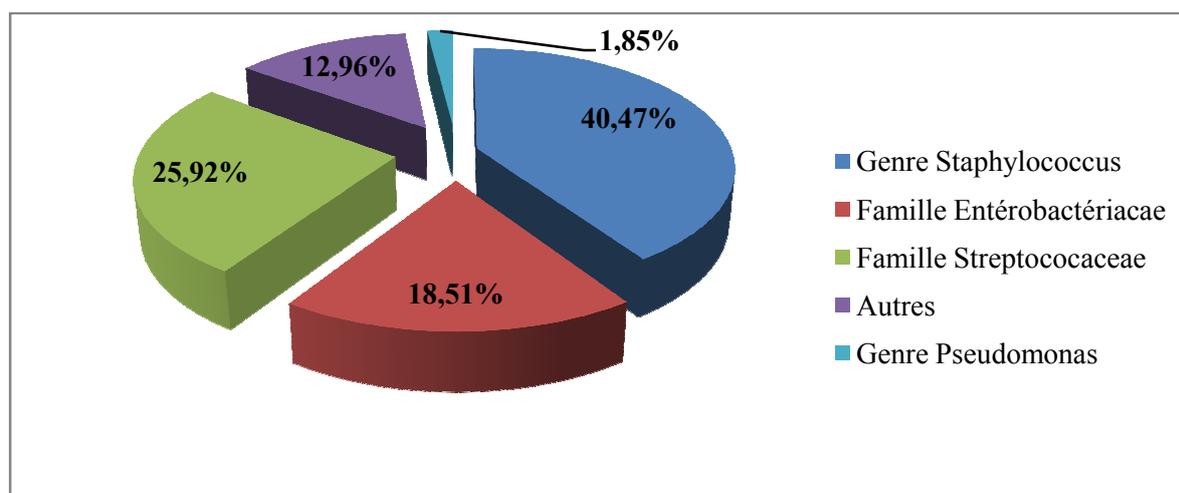


Figure 13 : représentation graphiques de l'identification préliminaire des souches bactériennes

II.2.1.2. Identification spécifique, par galeries API :

Les résultats de l'identification spécifique, par galeries API, des 54 souches isolées dans les cas de mammites en élevages laitiers dans la région de Blida et Tizi-Ouzou sont rapportés dans les tableaux suivants :

Tableau 8: Résultats de l'identification par galerie API Staph.

Genres et familles	Souches	Nombre	%
Genre <i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i> (SCP)	07	31,18
	<i>S.simulans</i>	02	09,09
	<i>S. xylosus</i>	05	22,72
	<i>S. epidermidis</i>	01	04,54
	<i>S.sciuri</i>	02	09,09
	<i>S. chromogenes</i>	03	13,63
	<i>S. haemolyticus</i>	01	04,54
	<i>S. saprophyticus</i>	01	04,54
Total		22	100

Il en ressort que pour le Genre *Staphylococcus* : 22 souches ont été isolées :

- *S. aureus* : 6 souches.
- *S. simulans* : 2 souches.
- *S. xylosus* : 5 souches.
- *S. epidermidis*: 1 souche.
- *S.sciuri* : 2 souches.
- *S. chromogenes* : 3 souches.
- *S. haemolyticus* : 1 souche.
- *S. saprophyticus* : 1 souche.

Nos résultats montrent une prédominance des souches : *S. aureus*, *S. xylosus* , *S. chromogenes* à des taux respectif de 31,18% ; 22,72% et 13,63%

Une représentation graphique des résultats obtenus est rapportée dans la figure suivante :

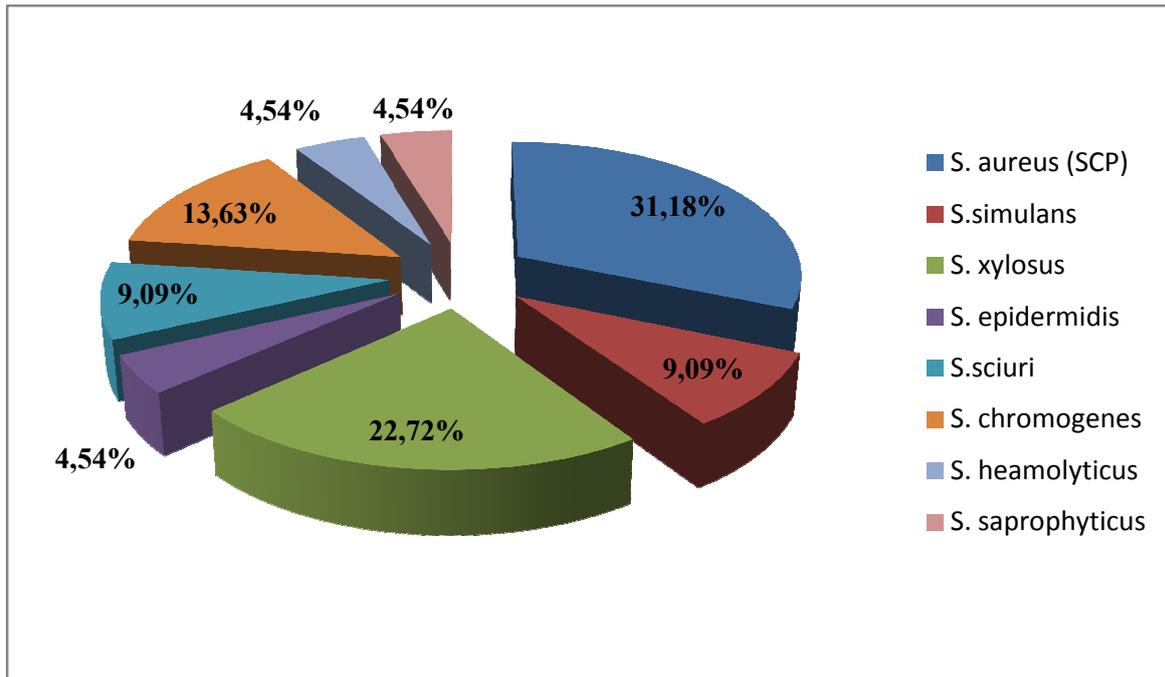


Figure 14: Représentation graphique des résultats de l'identification par galerie API Staph.

Le **tableau 9** représente les résultats de l'identification par les Galeries API Strept.

Tableau 9: Résultats de l'identification par galerie API Strept.

Genres et familles	Souches	Nombre	%
Famille <i>Streptococcaceae</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	01	07,14
	<i>Aerococcus urinae</i>	06	42,85
	<i>Enterococcus faecium</i>	01	07,14
	<i>Lactococcus lactis</i>	02	14,28
	<i>Granulicutella adiaceus</i>	02	14,28
	<i>Str. Bovis I</i>	01	07,14
	<i>Aerococcus viridans 2</i>	01	07,14
Total		14	100

Il en ressort que pour la famille des *Streptococcaceae* : 14 souches ont été isolées:

- *Gardnerella vaginalis* : 1 souche.
- *Aerococcus urinae* : 6 souches.
- *Enterococcus faecium* : 1 souche.
- *Lactococcus lactis* : 2 souches.
- *Streptococcus bovis I* : 1 souche.

- *Aerococcus viridans* 2 : 1 souche.
- *Granulicutella adiaceus* : 2 souches

Nos résultats montrent une prédominance des souches suivantes : *Aerococcus urinae*, *Lactococcus lactis*, *Granulicutella adiaceus* à des taux respectif de 42,85 % ; 14,28 % et 14,28 %

Une représentation graphique de ces résultats est rapportée par la **figure 15** :

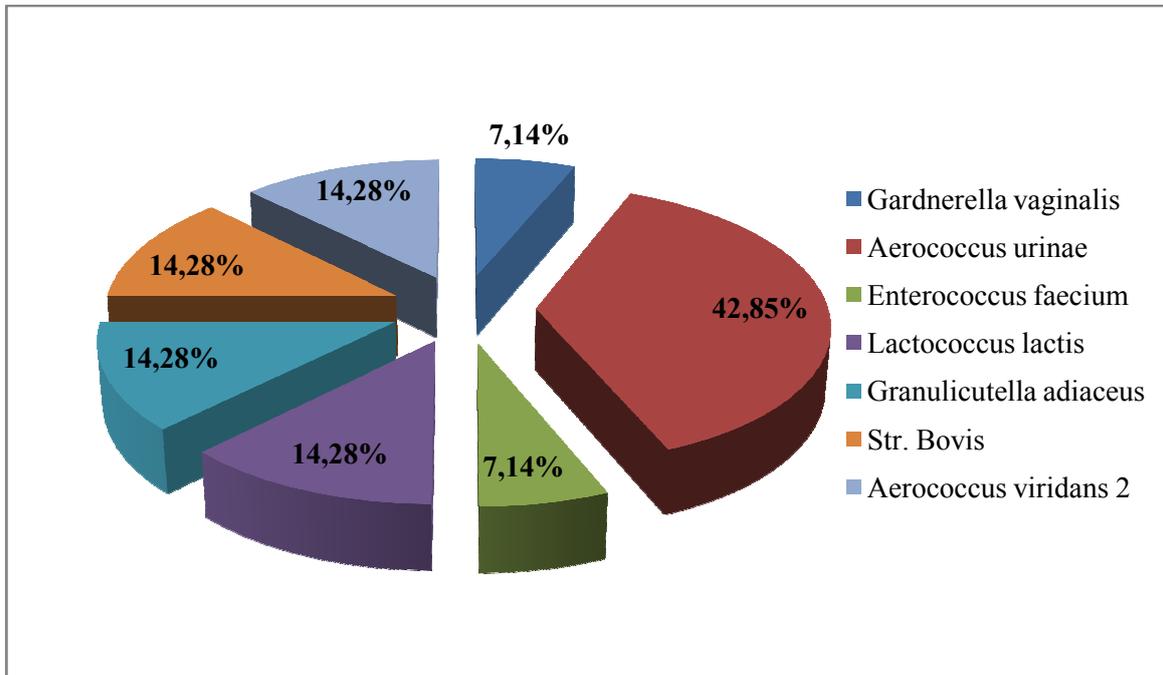


Figure 15 : Représentation graphique des résultats de l'identification par galerie API Strept.

Le tableau suivant représente les résultats de l'identification par les Galeries API 20 E. des *Enterobacteriaceae*.

Tableau 10: Résultats de l'identification par galerie API 20 E.

Genres et familles	Souches	Nombre	%
Famille <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>E. coli</i>	01	10
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	04	40
	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	02	20
	<i>Citrobacter koseri</i>	01	10
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	10
	<i>Serratia marcescens</i>	01	10
<i>Total</i>		10	100

Il en ressort que pour la famille des *Enterobacteriaceae* : 10 souches ont été isolées:

- *Escherichia coli* : 1 souche.
- *Klebsiella pneumoniae* : 4 souches.
- *Chryseobacterium meningosepticum* : 2 souches.
- *Citrobacter koseri* : 1 souche.
- *Klebsiella oxytoca* : 1 souche.
- *Serratia marcescens* : 1 souche.

Nos résultats montrent une prédominance des souches suivantes : *Klebsiella pneumoniae*, *Chryseobacterium meningosepticum* à des taux respectif de 40 % et 20 %

Une représentation graphique de ces résultats est rapportée par la figure suivante :

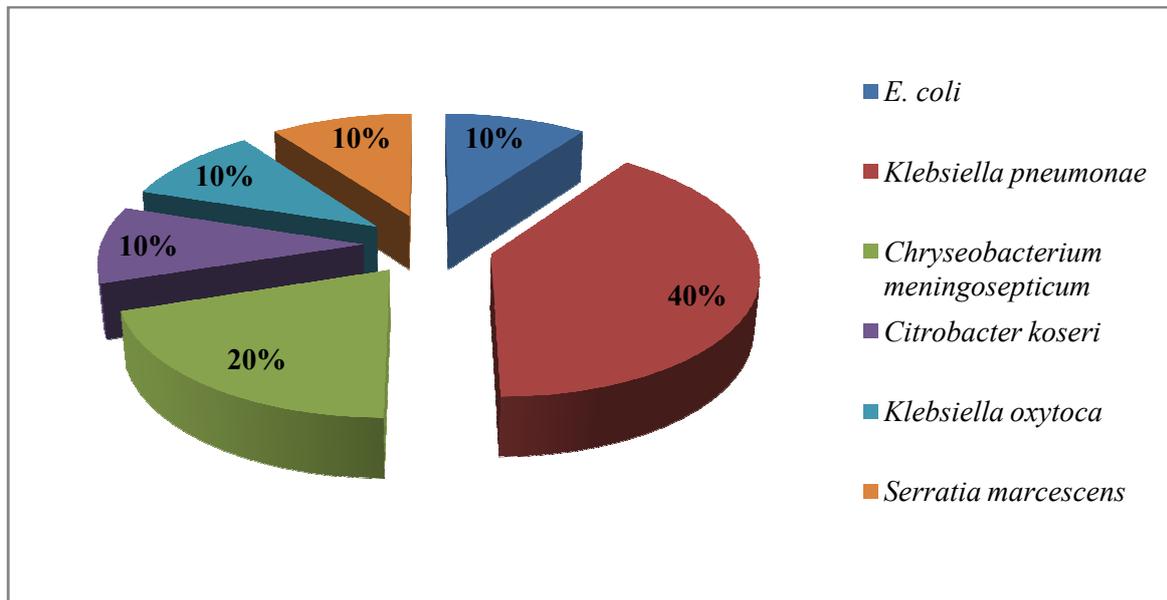


Figure 16: Représentation graphique des résultats de l'identification par galerie API 20 E.

II.2.1.3. Répartition des résultats d'analyse bactériologique en fonction de la région d'étude :

a. Région de Tizi-Ouzou

Les analyses bactériologiques des laits provenant de la région de Tizi-Ouzou (31 échantillons), ont permis d'obtenir 22 cultures positives, 7 cultures négatives et 2 cultures contaminées.

L'identification des souches bactériennes de la région de Tizi-Ouzou est rapportée dans le **tableau 11** :

Tableau 11: Répartition des souches bactériennes de la région de Tizi-Ouzou.

Genres et familles	Souches	Nombre	%
Genre <i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus (SCP)</i>	05	22,72
	<i>S. xylosus (SCN)</i>	02	09,09
	<i>S. chromogènes (SCN)</i>	01	4,54
	<i>S. haemolyticus (SCN)</i>	01	4,54
	<i>S. saprophyticus (SCN)</i>	01	4,54
Famille <i>Streptococcaceae</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	01	4,54
	<i>Aerococcus urinae</i>	01	4,54
	<i>Lactococcus lactis</i>	01	4,54
Famille <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>E. coli</i>	01	4,54
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	09,09
	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	02	09,09
	<i>Serratia marcescens</i>	01	4,54
Autres		03	13,63
Total		22	100

Nos résultats montrent une prédominance des souches *S. aureus* et *S. xylosus* *S. xylosus* *Klebsiella pneumoniae* , *Chryseobacterium meningosepticum* à des taux respectif 22,72 % et 09,09 %, en revanche *E. coli*, *Lactococcus lactis* et *Serratia marcescens* étaient isolées qu'une seul fois avec un taux de 4.54 %.

Une représentation graphique des résultats de l'identification de la région de Tizi-Ouzou est rapportée par la figure 17.

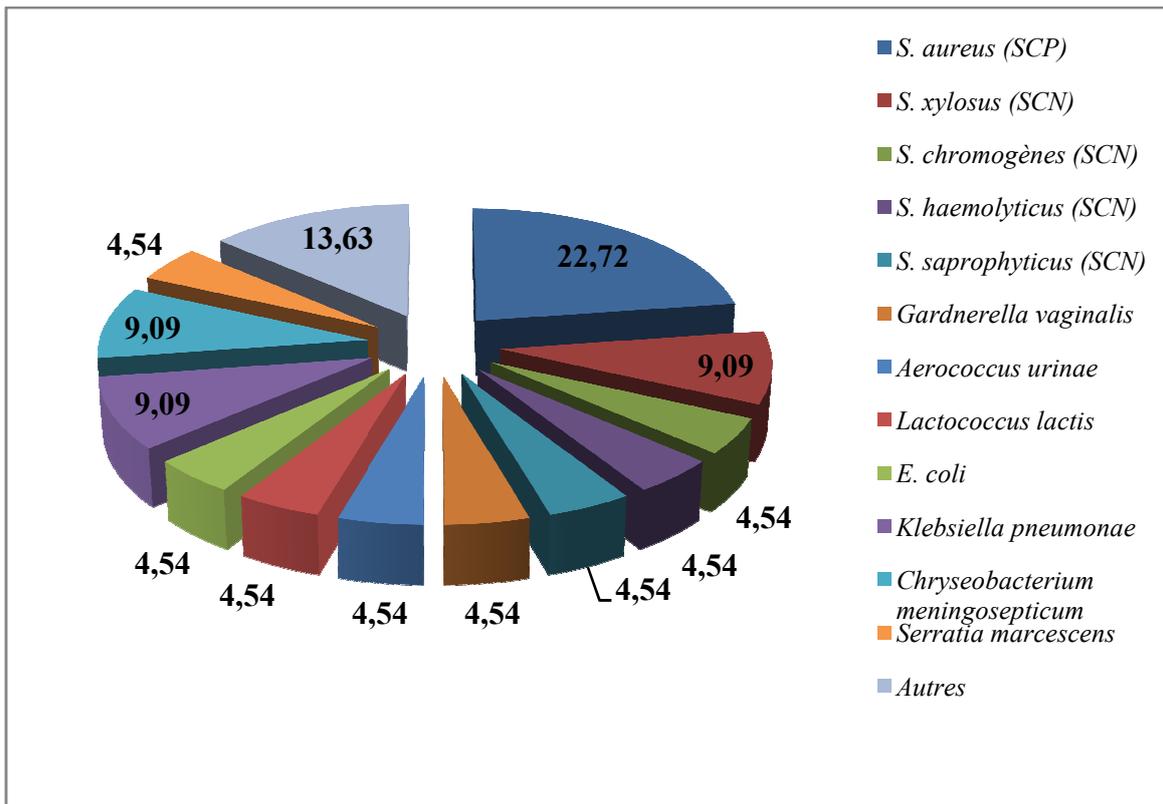


Figure 17: Représentation graphique des résultats de l'identification des souches bactériennes de la région de Tizi-Ouzou

b. Région de Blida :

Les analyses bactériologiques des laits provenant de la région de Blida (44 échantillons), ont permis d'obtenir 28 cultures positives, 4 cultures négatives et 12 cultures contaminées .

L'identification des souches bactériennes de la région de Blida est rapportée dans le tableau 12 :

Tableau 12: identification des souches bactériennes de la région de Blida.

Genres et familles	Souches	Nombre	%
Genre <i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus (SCP)</i>	02	6,25
	<i>S. xylosus (SCN)</i>	03	9,37
	<i>S. chromogènes (SCN)</i>	02	6,25
	<i>S.simulans (SCN)</i>	02	6,25
	<i>S. epidermidis(SCN)</i>	01	3.12
	<i>S.scuii (SCN)</i>	02	6,25
Famille <i>Streptococcaceae</i>	<i>Aerococcus urinae</i>	05	15.62
	<i>Enterococcus faecium</i>	01	3.12
	<i>Lactococcus lactis</i>	01	3.12
	<i>Granulicutella adiaceus</i>	02	6,25
	<i>Str. Bovis I</i>	01	3.12
	<i>Aerococcus viridans 2</i>	01	3.12
Famille <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	6,25
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	3.12
	<i>Citrobacter koseri</i>	01	3.12
	<i>Pseudomonas sp.</i>	01	3.12
	Autres	04	12.5
	<i>Total</i>	32	100

Nos résultats montrent une prédominance des souches *Aerococcus urinae*, *S.scuii* et *S. xylosus* à des taux respectif 15,62 % et 9,37 %, en revanche, *Klebsiella oxytoca*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium* et *Citrobacter koseri* étaient isolées rarement.

Une représentation graphique des résultats de l'identification de la région de Blida est rapportée dans la figure suivante.

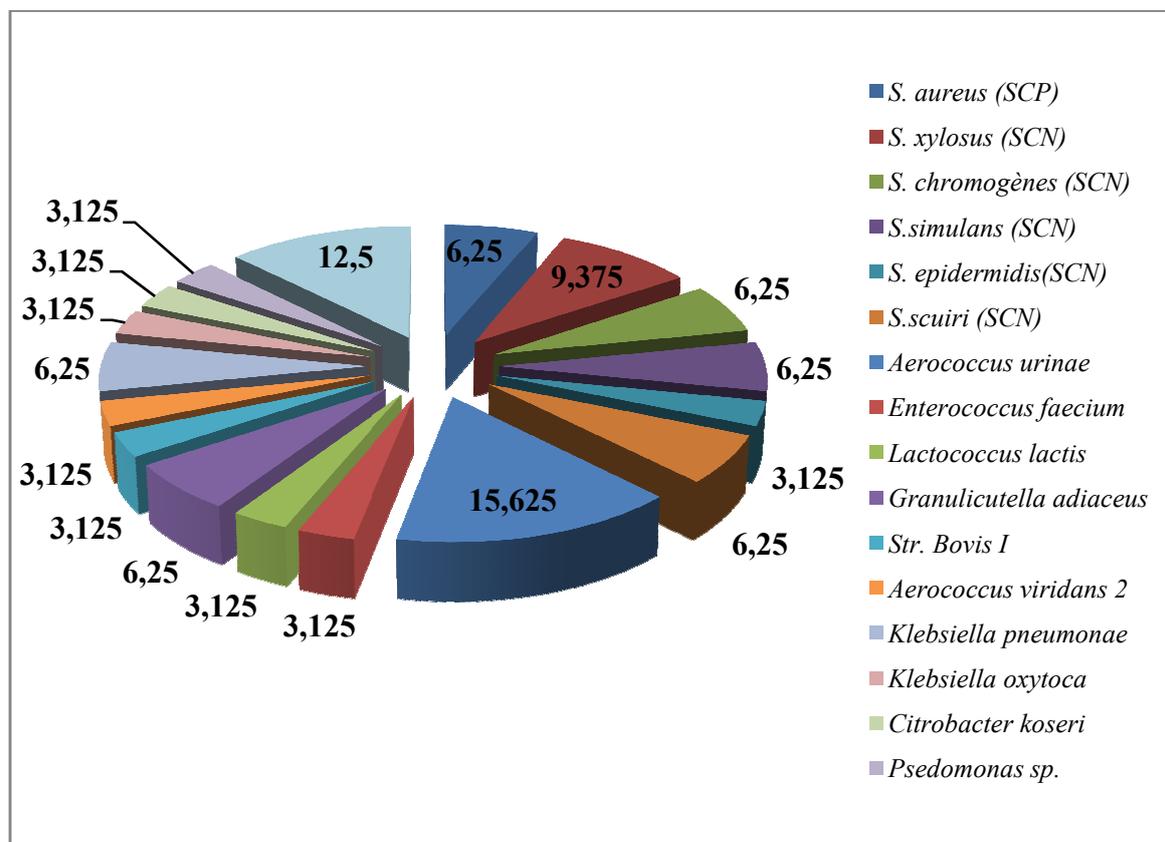


Figure 18: Représentation graphique des résultats de l'identification des souches bactériennes de la région de Blida

II.2.1.4. Répartition des résultats d'analyse bactériologique en fonction du score de CMT

L'identification des souches bactériennes en fonction du score de CMT est rapportée dans les tableaux 13, 14 et 15:

Tableau 13: identification des souches bactériennes en fonction du score de CMT 2.

Score CMT	Genres et familles	Souches	Nombre	%
2	Genre <i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus (SCP)</i>	03	13.04
		<i>S. xylosus (SCN)</i>	02	8.69
		<i>S. chromogènes (SCN)</i>	02	8.69
		<i>S.simulans (SCN)</i>	01	4.34
		<i>S.scuii (SCN)</i>	01	4.34
	Famille <i>Streptococcaceae</i>	<i>Aerococcus urinae</i>	03	13.04
		<i>Enterococcus faecium</i>	01	4.34
		<i>Lactococcus lactis</i>	01	4.34
		<i>Granulicutella adiaceus</i>	01	4.34
		<i>Str. Bovis I</i>	01	4.34
		<i>Gardnerella vaginalis</i>	01	4.34
	Famille <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	8.69
		<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	4.34
		<i>Citrobacter koseri</i>	01	4.34
		<i>E.coli</i>	01	4.34
		<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	01	4.34
	<i>Total</i>			23

Nos résultats montrent une prédominance des souches *S. aureus* et *Aerococcus urinae* avec un taux de 13.04%. mais en général on à presque les même pourcentage.

Tableau 14: identification des souches bactériennes du score de CMT 3.

Score CMT	Genres et familles	Souches	Nombre	%	
3	Genre <i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus (SCP)</i>	03	16.66	
		<i>S. xylosum (SCN)</i>	01	5.55	
		<i>S. chromogènes (SCN)</i>	01	5.55	
		<i>S. simulans (SCN)</i>	01	5.55	
		<i>S. haemolyticus (SCN)</i>	01	5.55	
		<i>S. saprophyticus (SCN)</i>	01	5.55	
	Famille <i>Streptococcaceae</i>	<i>Aerococcus urinae</i>	03	16.66	
		<i>Lactococcus lactis</i>	01	5.55	
		<i>Granulicutella adiacens</i>	01	5.55	
	Famille <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	02	11.11	
		<i>Serratia marcescens</i>	01	5.55	
		<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	01	5.55	
	<i>Pseudomonas sp.</i>		01	5.55	
	<i>Total</i>			18	100

Nos résultats montrent une prédominance des souches *S. aureus* et *Aerococcus urinae* avec un taux de 16.66% et *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 11.11%. mais en général on a presque les même pourcentage.

Tableau 15: identification des souches bactériennes du score de CMT 4.

Score CMT	Genres et familles	Souches	Nombre	%
4	Genre <i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus (SCP)</i>	01	16.66
		<i>S. xylosus (SCN)</i>	02	33.33
		<i>S. epidermidis(SCN)</i>	01	16.66
		<i>S. scuri (SCN)</i>	01	16.66
	Famille <i>Streptococcaceae</i>	<i>Aerococcus viridans 2</i>	01	16.66
	<i>Total</i>			06

Nos résultats montrent une prédominance des souches de *S. xylosus* avec un taux de 33.33%. mais en général on à presque les même pourcentage.

II.2.1.5. Répartition des résultats d'analyse bactériologique en fonction de la position du quartier prélevé

L'identification des souches bactériennes en fonction de la position du quartier prélevé est rapportée dans les tableaux 16 et 17 :

Tableau 16: identification des souches bactériennes des quartiers antérieurs.

Position du quartier	Genres et familles	Souches	Nombre	%
Antérieurs	Genre <i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus (SCP)</i>	07	31.81
		<i>S. xylosus (SCN)</i>	04	18.18
		<i>S. chromogènes (SCN)</i>	01	4.54
	Famille <i>Streptococcaceae</i>	<i>Aerococcus urinae</i>	02	9.09
		<i>Enterococcus faecium</i>	01	4.54
		<i>Lactococcus lactis</i>	01	4.54
		<i>Granulicutella adiaceus</i>	02	9.09
		<i>Gardnerella Vaginalis</i>	01	4.54
		<i>Aerococcus viridans 2</i>	01	4.54
	Famille <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	01	4.54
	<i>Pseudomonas sp.</i>		01	4.54
<i>Total</i>		22	100	

Nos résultats montrent une prédominance des souches *S. aureus* avec 31.81% suivi de *S. xylosus* 18.18%. le reste donne en général on à presque les même pourcentage.

Tableau 17: identification des souches bactériennes des quartiers postérieurs.

Position du quartier	Genres et familles	Souches	Nombre	%
Postérieurs	Genre <i>Staphylococcus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	01	04
		<i>S. haemolyticus</i>	01	04
		<i>S. xylosus (SCN)</i>	01	04
		<i>S. chromogènes (SCN)</i>	02	08
		<i>S.simulans (SCN)</i>	02	08
		<i>S. epidermidis (SCN)</i>	01	04
		<i>S.scuri (SCN)</i>	02	08
	Famille <i>Streptococcaceae</i>	<i>Aerococcus urinae</i>	04	16
		<i>Lactococcus lactis</i>	01	04
		<i>Str. Bovis I</i>	01	04
	Famille <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>E. coli</i>	01	04
		<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	02	08
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	04	16
		<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	04
		<i>Citrobacter koseri</i>	01	04
<i>Total</i>			25	100

Nos résultats montrent une prédominance des souches *Aerococcus urinae* et *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 16%. mais en général on à presque les même pourcentage.

II.2.2. L'identification Globale :

L'identification globale (préliminaire et spécifique) des 54 souches isolées à partir des 50 cultures positives, sont rapportées dans le **tableau 18**.

Tableau 18: Résultats de l'identification globale des 54 souches.

Souches		Nombre	%
Staphylocoques à coagulase positive	<i>S. aureus</i>	07	12,96
Staphylocoques à coagulase négative	<i>S.simulans</i>	02	3,70
	<i>S. xylosus</i>	05	9,25
	<i>S. epidermidis</i>	01	1,85
	<i>S.sciuri</i>	02	3,70
	<i>S. chromogenes</i>	03	5,55
	<i>S. haemolyticus</i>	01	1,85
	<i>S. saprophyticus</i>	01	1,85
<i>Gardnerella vaginalis</i>		01	1,85
<i>Aerococcus urinae</i>		06	11,11
<i>Enterococcus faecium</i>		01	1,85
<i>Lactococcus lactis</i>		02	3,70
<i>Granulicutella adiaceus</i>		02	3,70
<i>Str. Bovis I</i>		01	1,85
<i>Aerococcus viridans 2</i>		01	1,85
<i>E. coli</i>		01	1,85
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		04	7,40
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>		02	3,70
<i>Citrobacter koseri</i>		01	1,85
<i>Klebsiella oxytoca</i>		01	1,85
<i>Serratia marcescens</i>		01	1,85
Genre <i>Pseudomonas</i>		01	1,85
<i>Autres</i>		07	12,96
Total		54	100

Le traitement des résultats fait ressortir que :

- Les Staphylocoques à coagulase négative (*S. xylosus*, *S. chromogenes*, *S. sciuri*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, avec 9,25%, 5,55%, 3,70%, 3,70%, 1,85%, 1,85%, 1,85%; respectivement) ont été isolés avec un taux de 27,75%,
- Les Staphylocoques à coagulase positive (*S. aureus*) ont été isolés avec un taux de 12,96%,
- Les Entérobactéries ont été isolés au taux de 18,50% :
 - Autres que *Escherichia coli* (*Chryseobacterium meningosepticum*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter koseri* et *Serratia marcescens* avec 3,70% ; 1,85% ; 1,85% et 1,85% ; respectivement) avec un taux de 9,25%,
 - *Escherichia coli* avec un taux de 1,85% ;
 - *Klebsiella pneumoniae* avec un taux de 7,40%
- Les Streptocoques ont été isolés au taux de 25,91% :
 - Les Entérocoques représenté par *Aerococcus urinae* au taux de 11,11%,
 - Les autres Streptocoques au taux de 14,8% (*Lactococcus lactis*, *Granulicutella adiaceus*, *Enterococcus faecium*, *Gardnerella vaginalis*, *Str. Bovis I*, *Aerococcus viridans 2* avec 3,70% , 3,70%, 1,85%, 1,85%, 1,85%, 1,85% respectivement).
- Les Pseudomonas représenté par *Pseudomonas Sp.* ont été isolés avec au taux de 1,85%.

Les cultures mixtes se caractérisent par l'association de :

- Deux germes dans sept (04) cultures (*S. aureus* + *Pseudomonas sp.*), (*S. xylosus* + *Granulicutella adiaceus*) ; (*S. chromogenes* + *Aerococcus urinae*) ; (*S. simulans* + *Str. Bovis I*).

Une représentation graphique des résultats de l'identification globale est rapportée par la figure 19.

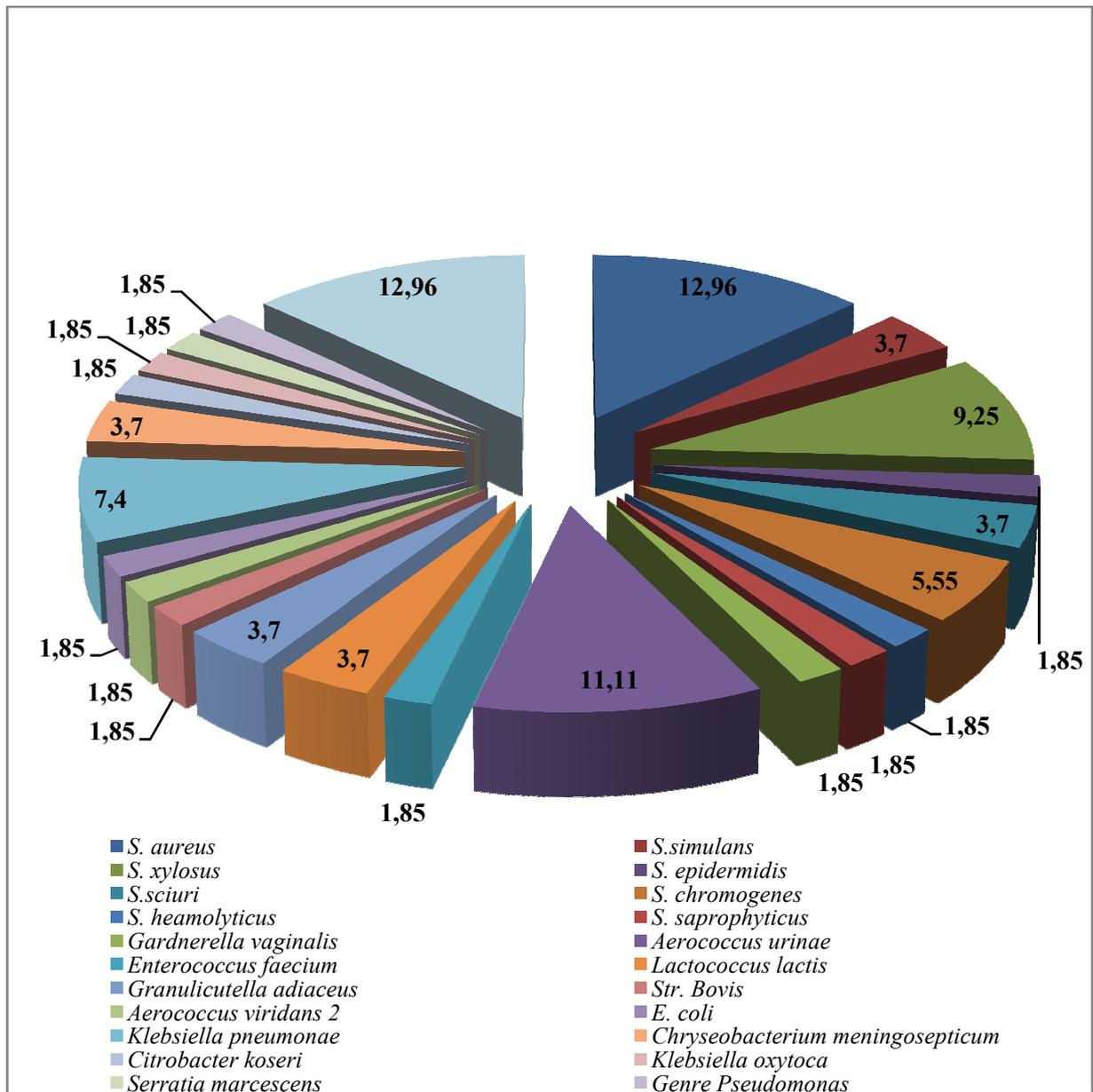


Figure 19 : Représentation graphique des résultats de l'identification globale.

III. Discussion :

Dans la présente étude nous avons utilisé la méthode classique dite de référence selon Durel et Poutrel (2006) pour le diagnostic bactériologique. Nous avons opté pour cette méthode en raison de l'accessibilité du matériel et la disponibilité sur le marché Algérien des milieux de cultures qui sont simples à utiliser. Certes, la méthode classique prend assez de temps et d'énergie, mais en raison de la fiabilité, la précision et la certitude des résultats obtenus, elle reste une méthode de choix pour l'identification des germes.

L'analyse bactériologique des 75 échantillons de lait présentant des mammites subcliniques ont permis de révéler un taux de 14,66% de **cultures négatives**. Nos résultats sont comparables à ceux de Noireterre (2006), Flache (2002) et Sargeant et al(1998) qui rapportent des taux de 17%, 17,1% et 17,6% respectivement. En effet, selon Serieys et al (2009) un taux de 37 % de cultures négatives obtenu à partir de prélèvements de mammites subcliniques est acceptable. Plusieurs raisons peuvent expliquer la négativité des cultures. Selon Alexandre (2005) soit que le germe responsable de mammites était enkysté dans le parenchyme mammaire, c'est le cas le plus fréquent de *S. aureus* ou bien une antibiothérapie utilisée au préalable (surtout par voie générale) a inhibé la croissance des germes sans les détruire complètement. Pour des raisons pratiques les échantillons de lait de la présente étude ont été congelés. En effet, certains germes supportent mal la congélation, comme *Escherichia coli* ou les SCN, tandis que d'autres la supportent bien, comme les streptocoques ou *S. aureus* (Schukken et al., 1989).

Les résultats de la présente étude ont révélé la présence d'un taux de 18,66% d'**échantillons contaminés** (nombre de germes isolés d'un échantillon ≥ 3). Notre résultat est légèrement supérieur par rapport à celui obtenu par Manner (2001), Erisson et al. (2009), Asnoune et al (2012) qui rapportent des taux de 9%, 4.5%, 4.4% respectivement. Cette différence de taux est probablement due à un grand échantillonnage des autres études par rapport au notre et ne remet en aucun cas en cause la fiabilité des résultats obtenus.

Le **taux de cultures positives** de 66,66% obtenu dans le présent travail semble confirmer la bonne qualité des prélèvements réalisés. Des taux comparables de 66,6%, 69,7% et 55,3% ont été signalés par Noireterre (2006), Flache (2002) et Manner (2001) respectivement. De même, notre résultat est compris dans la fourchette des taux décrits par les travaux réalisés en Algérie de Bouaziz (2001) et Beroual (2003) qui varient de 65,0% à 91,0%.

L'identification des germes a permis de révéler la prévalence des:

- Staphylocoques coagulase négative à un taux de 27,75%
- Staphylocoques coagulase positive (*S. aureus*) à un taux de 12,96%,
- Entérobactéries à un taux de 18,50% avec :
 - *Klebsiella pneumoniae* à un taux de 7,40%
 - *Escherichia coli* à un taux de 1,85%
 - Autres qu'*Escherichia coli* à un taux de 9,25% (*Chryseobacterium meningosepticum*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter koseri* et *Serratia marcescens* avec 3,70% ; 1,85% ; 1,85% et 1,85% ; respectivement),
- Streptocoques à un taux de 25,91% avec :
 - Les Entérocoques représenté par *Aerococcus urinae* à un taux de 11.11%,
 - Les autres Streptocoques à un taux de 14.8% (*Lactococcus lactis*, *Granulicutella adiaceus*, *Enterococcus faecium*, *Gardnerella vaginalis*, *Str. Bovis* I, *Aerococcus viridans*).
- Pseudomonas représenté par *Pseudomonas Sp.* à un taux de 1,85%.

- Cultures mixtes à un taux de 5,33% quise caractérisent par l'association de :
 - Deux germes dans quatre (04) cultures (*S. aureus* + *Pseudomonas sp.*), (*S. xylosus* + *Granulicutella adiaceus*) ; (*S. chromogenes* + *Aerococcus urinae*) ; (*S.simulans* + *Str. Bovis I*).

Il est à signaler que la prévalence obtenue dans le présent travail (27,75%) des **Staphylocoques à cagulase négative (SCN)** est comparable à celle de Noireterre (2006) et Rakotozandrindrainy et Foucras (2007) qui rapportent des taux de 21% et 33,7% respectivement. En effet, la prévalence de ces germes varie en fonction des élevages de 6,2 à 41,7% (Sargeant et al.1998; Flache, 2002; Beroual , 2003 ; Pitkälä et al., 2004 ; Kivaria et al., 2007).

Selon Fabre et al(1991) et Smith (2008) ce groupe de germes comprend de nombreuses espèces dont les plus fréquemment isolées lors de mammites subcliniques sont : *S. hyicus*, *S. chromogenes*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. simulans* et *S.sciuri*. Ces derniers classés parmi les pathogènes mineurs, sont des hôtes normaux des animaux (Bradley et Green, 2001). Ainsi, il a été montré que selon la nature du germe, sa source pouvait aussi bien être la mamelle, la peau des vaches, du trayeur ou même l'environnement. Le nombre élevé de ces germes serait dû aux mauvaises conditions d'hygiène de la traite (Ben hassen et al., 2003).

Il est à noter qu'au cours des dix dernières années plusieurs travaux font apparaître l'importance des SCN comme germes pathogènes responsables de mammites subcliniques mais aussi de mammites cliniques (Ben hassen et al.,2003 ; Taponen, 2008).

Dans la présente étude l'espèce la plus isolée a été *S. xylosus* (9,25%), en revanche Thorberg, (2009) rapporte que les germes les plus rencontrés lors de mammites subcliniques, sont : *S.chromogenes*, *S. epidermidis*, et *S. simulans*. Néanmoins, ce germe est de plus en plus fréquemment isolé (Thorberg, 2009), ce qui pose la question de savoir quelle est sa place dans la pathologie mammaire.

Staphylococcus aureus est sans aucun doute considéré comme le pathogène le plus important à l'heure actuelle parmi tous ceux pouvant engendrer des cas de mammite chez le bovin laitier (Wallemacq, 2010).Dans le présent travail la prévalence de ce germe a été de 12,96%, cette dernière est semblable à celle que l'on trouve dans les études réalisées sur les mammites subcliniques qui varie de 9% à 17% (Sargeant et al., 1998 ; Bertin-cavarait et al., 2009). Néanmoins, la prévalence de ce pathogène dans nos échantillons de lait reste inférieure par rapport à celles deBeroual(2003),Rakotozandrindrainy et Foucras (2007),Nagahata et al (2007) ; Asnoue et al(2012) qui varie de 29,5% à 50,55%.

La haute prévalence des *S. aureus* dans les cas de mammites subcliniques et leur présence élevée dans les élevages de bovins laitiers, peut s'expliquer par deux phénomènes :

- (1) Selon Eicher et al(2003) et Salat et al, (2007) *Staphylococcus aureus* est résistant dans le milieu extérieur et qu'après sa pénétration dans le canal du trayon, il envahit les canaux galactophores, les cellules épithéliales et colonise le parenchyme mammaire assez rapidement. Il y a alors formation de micro-abcès dans le parenchyme mammaire qui protègent la bactérie des défenses immunitaires et des traitements antibiotiques. Le plus souvent l'infection mammaire par ce type de germe évolue vers la forme chronique ou subclinique.
- (2) L'émergence de souches résistantes a plusieurs antibiotiques couramment utilisés comme la pénicilline, l'érythromycine ou la tétracycline explique en grande partie sa

prévalence élevée et la difficulté à traiter certains cas de mammite (Erskine *et al.*, 2004).

Les Entérobactéries sont des pathogènes de l'environnement. Dans la présente étude leur prévalence a été de 18,50%, avec une prédominance de l'espèce *Klebsiella pneumoniae* par rapport à *Escherichia coli* (7,40% vs 1,85%). En générale, les entérobactéries colonisent le fumier et la litière qui favorisent leur prolifération bactérienne. La charge bactérienne devient critique lorsque le fumier est laissé sur de longues périodes de temps (défaut d'hygiène, mauvaise pratique d'élevage). Dans ces conditions, une augmentation de l'incidence des mammites à *Escherichia coli* est constatée (Ward *et al.*, 2002).

Il est à signaler qu'*Escherichia coli* demeure l'espèce la plus dominante dans les échantillons de lait de mammites comme observé par Manner (2001); Flache (2002); Noirreterre (2006); Kivariva et Noordhuizen (2007); Rakotozandrindrainy et Foucras (2007); Ericsson *et al.* (2009) qui rapportent des taux variant de 6,8 % à 25,3%. En effet, la faible prévalence observée dans le présent travail peut s'expliquer, par le fait que les mammites colibacillaires sont plus facilement traitées pendant la lactation par rapport à d'autres germes comme *Staphylococcus aureus* et les guérisons bactériologiques spontanées sont fréquentes (Serieys, 1997).

Le genre *Klebsiella*, bien qu'étant à l'origine connu comme agent causal de pneumonies, est principalement associé à des infections urinaires et des septicémies (Podschun et Ullmann 1998). Ce pathogène opportuniste est retrouvé autant dans la nature que dans le tractus gastro-intestinal et les muqueuses de mammifères. Ceci explique que dans le contexte de la ferme laitière, l'utilisation de litière contenant des produits organiques comme la paille et la paille a été identifié comme un foyer favorisant l'infection et permettant la propagation de la mammite à *Klebsiella spp.* (Munoz *et al.*, 2007). De plus, selon Hogan et Smith (2003), la charge bactérienne (Gram négatif) est supérieure sur les litières de copeaux de bois, ce phénomène est plus spécifique à *Klebsiella spp.* et serait lié à des conditions de pH favorables à sa multiplication.

Bien que cette espèce ne représente pas une proportion importante des pathogènes retrouvés lors de cas de mammite, son importance n'est pas négligeable puisque ces infections sont généralement plus difficiles à traiter, et causent parfois des mammites suraigües dont le taux de mortalité est élevé (Hogan *et al.*, 1989).

Dans la présente étude, la prévalence **des streptocoques** a été de 25,91%, avec une prédominance d'*Aerococcus urinae*, qui est un germe mal connu. Il s'agit d'une bactérie d'environnement, émergente qu'on retrouve dans les litières mal entretenues (Haguingan *et al.*, 2010).

Il est à noter que les streptocoques les plus fréquemment isolés dans les infections intramammaires sont *Str. agalactia*, *Str. uberis* et *Str. dysgalactiae*. *Str. Uberis* est considéré comme agent pathogène majeur d'environnement tandis que *Streptococcus agalactiae* et *Str. dysgalactiae* sont des bactéries dites à réservoir mammaire (Poutrel, 1985); (Lerondelle, 1985). Aucune souche de *Streptococcus agalactiae* ni de *Str. Dysgalactiae* n'a été isolée dans la présente étude. Cette absence de *Str. agalactiae* a été constatée par plusieurs auteurs (Flache, 2002; Argente *et al.*, 2005; Pitkälä *et al.*, 2004; Ericsson *et al.* 2009). Selon Noireterre (2006) son éradication des élevages depuis une vingtaine d'années est due probablement à l'emploi systématique du traitement antibiotique au tarissement, et la diminution de la prévalence de *Str. dysgalactiae* est souvent associée avec la mise en place

des mesures de pré-trempage des trayons lors de la préparation de la mamelle à la traite ainsi qu'au post-trempage des trayons en fin de traite.

Pseudomonas sp a été isolé à un taux de 1,85% dans la présente étude. Ce faible taux est comparable à celui observé par Hawari et Al Dabbas (2008) et Kivaria et Noordhuizen (2007) qui rapportent que la prévalence des mammites à pseudomonas présente moins de 1% et 4,3%, respectivement. En effet, ce germe saprophyte est très répandu dans l'environnement. La source de contamination est souvent l'eau utilisée pour laver les mamelles avant la traite et la contamination se fait alors pendant la traite.

Un taux de 5,33% de **cultures mixtes** a été observé dans notre étude. Selon Durel et Poutrel (2006) moins de 10% des laits de mammites subcliniques contiennent 2 germes et sont plus fréquent lors de la période sèche (tarissement).

CONCLUSION

Le diagnostic de la mammite est la base fondamentale des programmes de contrôle et de suivi de la santé du pis. L'objectif à long terme est de prévenir les nouvelles infections. L'objectif à court terme est d'évaluer les protocoles de traitement ou de trouver la cause d'une épidémie.

Plusieurs méthodes permettent de déterminer le type d'agent pathogène qui cause l'infection intra mammaire. La culture bactériologique du lait au laboratoire est la méthode actuelle de référence pour l'identification des pathogènes dans le lait. Elles représentent des méthodes précises d'identification des agents pathogènes causant la mammite avant de mettre en place un plan thérapeutique.

Les organismes causant la mammite peuvent être divisés en cinq groupes : les cocci Gram positifs, les bactéries Gram négatives (coliformes), *Corynebacterium*, *Mycoplasma* et autres (*Nor cardia*, *Protothec* et levures). À l'exception de *Mycoplasma*, la plupart des agents pathogènes sont détectables sur la gélose au sang.

La présente étude a permis la caractérisation des principaux germes responsables de mammites subcliniques dans la période du péripartum en élevages laitiers de la région centre de l'Algérie. Il a été constaté une situation sanitaire alarmante de la mamelle et l'environnement où elle prospère, du fait du profil des souches bactériennes identifiées qui sont à l'exception de *Staphylococcus aureus* tous d'origine environnementale.

Pour avoir la meilleure sensibilité (la capacité de détecter l'organisme infectieux si la vache est vraiment infectée), il est suggéré de prendre un échantillon du quartier infecté au lieu d'un échantillon composite de tous les quartiers. On pourrait identifier le quartier infecté à l'aide du CMT. Il est essentiel que les prélèvements pour culture soient effectués selon la bonne technique, sinon les résultats ne sont pas fiables.

Un diagnostic bactériologique permet d'implanter plus rapidement un plan thérapeutique (pour la mammite clinique) ou de contrôle (pour la mammite subclinique). Ceci permettra d'une part de mieux cibler les agents en cause des mammites et d'autre part d'établir des plans et des mesures de prévention pour améliorer le statut sanitaire de la mamelle des vaches laitières et par conséquent la diminution de la prévalence de la principale pathologie de reproduction.

RECOMMANDATIONS

Nos recommandations porteront principalement sur l'amélioration de l'état sanitaire du pis et l'environnement où il est élevé le bovin. Afin de minimiser l'apparition des mammites, il est préconisé :

- D'assurer à la vache une litière de propreté correcte, du fait que la plus part des souches bactériennes incriminées dans l'apparition des mammites viennent de l'environnement.
- D'appliquer les bonnes pratiques de traite (nettoyage, désinfection de la mamelle et du matériel avant et après la traite).
- D'assurer à la vache une hygiène corporelle assez correcte
- D'effectuer un suivi sanitaire régulier des mamelles par des méthodes simples et moins coûteuses tel que l'usage du CMT.
- D'effectuer des analyses bactériologiques lors de mammites afin de bien cibler les germes en cause.
- De traiter rapidement et efficacement la mammite dès son apparition pour éviter l'évolution vers la forme chronique.

D'autre part, il faut que l'Etat coordonne des études nationales et ouvre des laboratoires régionaux spécialisés dans l'identification des germes responsables de mammites, afin de réduire leur prévalence dans l'élevage de bovin laitier.

Références bibliographiques

- **Alexandre A**, 2005 : "Utilisation des comptages cellulaires dans La comparaison de deux préparations hors lactation". Thèse pour obtention de grade de Docteur Vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, (2005).
- **Amellal R.**, 1995: La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et réalité de la dépendance. *Options Méditerran., Sér. B* : °14.
- **Argente G., Lardoux S., Le Berre K., Labbe J-F**, 2005 : "Valeur de l'observation clinique de symptômes simples de mammite pour prédire les bactéries en cause". Bull. Group. Tech. Vét., (2005), 32, 39-46.
- **Barker A.R, Schrick F.N, Lewis M.J, Dowlen H.N et Oliver S.P**, 1998 : Influence of Clinical Mastitis During Early Lactation on Reproductive Performance of Jersey Cows J Dairy Sci, 81, (5), 1285-1290.
- **Barone R.**, 1990 : "Anatomie comparée des mammifères domestiques". Tome 4 : Splanchnologie, ed. Vigot, Paris, (1990), 951p.
- **Ben Hassen S, Messadi L, Ben Hassen A**, 2003: Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. In : documents en ligne: Annales de Médecine Vétérinaire, 2003, 147 41-47[<http://facmu.ulg.ac.be/amv/articles/2003-147-1-04.pdf>] (consulté le 18 Juillet 2007).
- **Ben Hassen S., Messadi L., Ben Hassen A.**, 2003: Identification et caractérisation des espèces de *Staphylococcus* isolées de lait de vaches atteintes ou non de mammite. *Ann. Méd. vét.*, 147 : 41-47.
- **Berthelot X, Bergonier D**, 2006 : La maîtrise des mammites cliniques en péripartum : unenouvelle priorité, épidémiologie descriptive et diagnostic. Le Nouveau Praticien Vétérinaire 2006, 1 : 17-21.
- **Berthelot X., Bergonier D**, 2006 : La maîtrise des mammites cliniques en péripartum : traitements et prévention. Le Nouveau Praticien Vétérinaire 2006, 1 : 23-26.
- **Bertin-Cavarait C. et al.**, 2009 : L'AFSSA explore les laits mammitieux des vaches laitières rhône-alpines, *La semaine vétérinaire*, 2009, n°1349 : p 42-44
- **Beroual K.**, 2003. Caractérisation des germes d'origine bactérienne responsables des mammites bovines dans la région de la Mitidja. Thèse Magister, Université de Blida, Algérie, 134 p.
- **Bidaud O, Houffschmitt P, Viguerie Y**, 2005-2007 : Étiologie des mammites bovines en Francecentre 2005-2007. Journées bovines nantaises, 2007 : 121-122.
- **Blains S.**, 2004 : Intérêts et techniques de l'identification bactérienne des germes de mammites au cabinet vétérinaire. Journées Nationales des G.T.V., Tours 2004 : 811-820.

- **Bosquet G** ,2004 : L'analyse lors d'une flambée de mammites cliniques : une étape indispensable riche d'enseignement. Journées Nationales G.T.V., Tours 2004 : 771-778.
- **Bosquet G, Ennuyer M, Goby L, Leiseing E, Martin S, Salat O, Sanders P, Seegers H, Serieys F** , 2005 : Le praticien face au ciblage du traitement en lactation des mammites. « Ouvrons le dossier », conférence de consensus organisée par le laboratoire Boehringer Ingelheim, Novembre 2005 : 45 p.
- **Bosquet G., Serieys F.**, 2007 : Localisation des bactéries et traitements des mammites en lactation. « Ouvrons le dossier », session 2, Conférence de consensus organisée par le laboratoire Boehringer Ingelheim, Février 2007 : 63p.
- **Bouaziz O**, 2001 : "Prévalence des différents germes responsables de mammites cliniques de la vache dans l'Est Algérien". Séminaire international sur l'hygiène et la sécurité sanitaire alimentaire. Laboratoire de recherche de pathologie animale de développement des élevages et surveillance de la chaîne alimentaire de D.A.O.A., (2001).
- **Bouaziz O**, 2005 : Contribution à l'étude des infections intramammaires de la vache laitière dans l'Est Algérien 2005.
- **Bouchard E, Du Tremblay D. Astlq**, 1995 :-Formation petit groupe. Programme de contrôle de la mammite, 1995, versionhtml, Pdf, Adobe Acrobat (format) [http://132.204.160.199/fr/laitier_veterinaire/formation/ASMAMM99.pdf].
- **Boudry B.**, 2005 : "Qualité du lait et gestion du troupeau". Journée d'étude des AREDB d'Aubel, de Herve, Fléron, Visé et de Montzen et de la Région wallonne. DGA Direction du Développement et de la Vulgarisation, (2005).
- **Boufaïda Asnoune Z.M.J. Butel R. Ouzrout**, 2012 : Prévalence des principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, 2012, 65 (1-2) : 5-9.
- **Boutet P., Detilleux J., Motkin M., Deliege M., Piraux E., Depinois A., Debliquy P., Mainil J., Czaplicki G., Lekeux P.**, 2005. Comparaison du taux cellulaire et de la sensibilité antimicrobienne des germes responsables de mammites subcliniques bovines entre les filières conventionnelles et biologiques. *Ann. Méd. Vét.* **149**: 173-182.
- **Bradley A. J. et Green M. J**, 2001: Aetiology of clinical mastitis in six Somerset dairy herds, *Vet. Record*, 2001, **148** : p 683-686
- **Bradley AJ, Leach KA, Breen JE, Green LE, Green MJ**, 2007: Survey of incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record* 2007, 160 :253-258.
- **Bradley A.J.**, 2002: Bovine mastitis: An evolving disease. *Vet. J.*, **164**: 116-128.

- **Bravard M, Schmitt-Van DE LeemputE**, 2006 : Infection à staphylocoques coagulase négatif. *Le Point Vétérinaire* 2006, 37(266), 76-79.
- **Bressou, C.**, 1978 : Anatomie régionale des animaux domestiques. II les ruminants. Paris : Editions j.B. Bailliere, 437 pages).
- **Brouillet P., Raguet Y**, 1990 : "Logements et environnement des vaches laitières et qualité du lait". *Bulletin GTV4*, (1990).8.
- **Brouillet P., Coussi G., Lacombe J.F., Simoni F.**, 1995 : "Le trayon, carrefour des microbes". *Dépêche vét., suppl. technique*, (1995), 42, 38.
- **Busato A, Trachsel P, Schallibaum M, Blum JW**. 2000: Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. *Prev. Vet. Med*, .44: 205-220.
- **Capuco A.V., Smith JJ., Waldo D.R., Rexrodad C.E.**, 1995:"Influence of prepubertal dietary regimen on mammary growth of Holstein heifers". *Journal of dairy sciences*, (1995), 78, 2709-2725.
- **Capuco A., Akers R.**, .2011 : «Galactopoiesis, Effects of Hormones and Growth Factors.» *Encyclopedia of dairy science*, 2011: 3:26, 4068p, Elsevier, Londres.
- **Charbel Chbat** ; 2012 : vetagro sup campus vétérinaire de Lyon année 2012 - thèse n° 089 these d'universite comparaison des pratiques et des resultats de reproduction des vaches laitieres au Liban et en France présentés à l'université Claude-Bernard – Lyon i (médecine – pharmacie) 2012.
- **Chassagne M, Barnouin J, Le Guenic M**. 2005: Expert assesment study of milking and hygiene practices characterizing very low somatic score herds in France. *Journal of Dairy Science*, 2005, **88** : issue 5, 1909 -1916.
- **Constantinescu, G.M. et Constantinescu, I.A.** 2010 : Functional Anatomy of the Goat(Mammary glands) *in* Goat science and production Solaiman, S.G. Blackwell Publishing. p126-128.
- **Derivaux J et Ectors F.**, 1980 : "Physiologie de la gestation et obstétrique vétérinaire". Edition Vigot, (1980).
- **Dingwell R.T., Leslie K.E., Duffield T.F., Schukken Y.H.**, 2002:«Efficacy of Intramammary Tilmicosin and Risk Factors for Cure of Staphylococcus aureus Infection in the Dry Period. » *J. Dairy Sci.*, 2002: 85:3250–3259.
- **Domecq J.J., Skidmore A.L., Lloyd J.W., Kaneene J.B.**, 1997: «Relationship Between Body Condition Scores and Milk Yield in a Large Dairy Herd of High Yielding Holstein Cows. » *J. Dairy Sci.*, 1997: 78:101-102.

- **Dosogne H., Arendit J., Gabreil A., Burvenich C., 2000 :** "Aspects physiologiques de la sécrétion laitière par la mamelle bovine". *Ann. Méd. Vét.*, (2000), 144, 357-382.
- **Dumas PL, Faroult B, Serieys F. 2004 :** Assurer le traitement en exploitation laitière : expérience et perspectives de l'action G.T.V. Partenaire. Journées Nationales des G.T.V., Tours 2004 : 71-75.
- **Durel L, Faroult B, Lepoutre D, Brouillet P, Le Page PH. 2003:** Mammites des bovins (cliniques et subcliniques). Démarches diagnostiques et thérapeutiques. *La Dépêche Technique. Supplément technique 87 à la Dépêche Vétérinaire* du 20 Décembre 2003 au 2 Janvier 2004. 39 p.
- **Durel L, Poutrel B, 2006 :** Diagnostic bactériologique des mammites pour le vétérinaire praticien. Solutions pratiques et limites. *Bulletin des G.T.V.* 2006, 33 : 43-53.
- **Durel L, Schmitt-Van DE LeemputE , 2007 :** Examen bactériologique du lait de mammeau cabinet. Se donner les moyens de bien faire. Journées Nationales des G.T.V., Nantes2007 : 45-50.
- **Duval J., 1995 :** "Soigner la mammite sans antibiotiques". **Projet pour une agriculture écologique**, (1995), 370-11.
- **Durel L. et Poutrel B., 2006 :** Le diagnostic bactériologique des mammites par le vétérinaire praticien solutions pratiques et limites, *Bulletin des GTV*, 2006, n° 33 : p 43-53.
- **Du Preez J.H., 2000:"**Bovine mastitis therapy and why it fails". *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, (2000), 71 (3), 201-208.
- **Eicher R, Sutter-Lutz B, BergerL ,2003 :** Contrôler les mammites à *Staphylococcus aureus*. *Le Point Vétérinaire* 2003, 33(228) : 50-54.
- **Ericsson Unnerstad H., Lindberg A., Persson Waller K., Ekman T., Artursson K., Nilsson-Öst M., Bengtsson B, 2009:** "Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors". *Veterinary Microbiology*, (2009) 13, 790–97.
- **Erskine, R., Cullor, J., Schaellibaum, M., Yancey, B. et Zecconi, A, 2004:** Bovine Matitis Pathogens and Trends in Résistance to Antibacterial Drugs. *NMC Annual Meeting Proceedings*, p.400-403
- **Fabre JM, Morvan H, Lebreux B, HouffschmittPh, Berthelot X. 1997.** Estimation de la fréquence des différents germes responsables des mammites en France. Partie 1 : mammites cliniques. *Bulletin GTV*, **552** : 17-23.
- **Fabre JM, Morvan H, Lebreux B, Houffschmitt RM, Langridge S, Booth JM. 1997.** Estimation de la fréquence des différents germes responsables de mammites en France, partie 2: mammites subcliniques. *Bull. GTV*, **3** : 17-23.

- **Fabre J.M., Berthelot X., Lebret P., Blanc M.F., Blanc M.C.**, 1991 : Estimation de la fréquence des différents germes responsables d'infection mammaires en élevage bovin laitier dans le sud-ouest de la France. *Rev. Méd.vét.*, **142** : 823-829
- **Faroult B., Lepage P.**, 2006 : Quels prélèvements de lait pour le diagnostic bactériologique des mammites bovines. *Bulletin des G.T.V.*, 2006, 33 : 24-30.
- **Faroult B.**, 1999 : "Antibiothérapie et mammites cliniques". Journées nationales GTV, INRA, (1999), 121-125.
- **Faroult B.**, 1998 : "Stratégies de traitements des mammites cliniques". (1998).
- **Faroult B.**, 1994 : "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.
- **Federici C.**, 2004 : Logement et flambée de mammites cliniques. Journées Nationales des G.T.V., Tours 2004 : 781-787
- **Ferrouiller C, Bouchard E, Carrier J**, 2004 : Diagnostic indirect des mammites subcliniques. *Le Point Vétérinaire* 2004, 34(248) : 42-46.
- **Flache H.**, 2002 : "Cinétique des comptages cellulaires de quartiers après mammites cliniques chez la vache laitière". Thèse de docteur vétérinaire, ENV de Lyon (2002), 72p.
- **Forget D.**, 2005 : "Un vaccin contre la mammite bovine". *Science clip*, (2005).
- **Gedilaghine V**, 2005 : La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action G.T.V. Partenaire dans le département de la Manche. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Maisons-Alfort 2005, 106 p.
- **Green M. J., Green L. E., Medley G. F., Schukken Y. H. , Bradley A. J.** «Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infection on Clinical Mastitis in Dairy Cows.» *J. Dairy Sci.*, 2002: 85: 2589–2599.
- **Guerin P, Guerin-Fauble V, Bruyere P**, 2011: Les mammites de la vache laitière. *Polycopié du cours de 4ème année*, 2011-2012 : 133p
- **Gehring R, Smith GW**. 2006: An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparation used to treat bovine mastitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy* 2006, 29: 237-241.
- **Gibson H, Sinclair LA, Brizuela CM, Worton HL, Protheroe RG.**, 2008: Effectiveness of selected premilking teat-cleaning regimes in reducing teat microbial load on commercial dairy farms. *The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology*, 2008, **46**: 295-300.
- **Green MJ.**, 2007: National intervention study of mastitis control in dairy herds in England and Wales. *Veterinary Record* 2007, 160(9): 287-296. Dans *l'Essentiel* 2007, 61: 35p.

- **Green M. J., Green L. E. , Medley G. F., Schukken Y. H. , Bradley A. J.** 2002 : «Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infection on Clinical Mastitis in Dairy Cows.» *J. Dairy Sci.*, 2002: 85: 2589–2599.
- **Grümmer R, Mashek D.G., Hayirli A.,** «Dry matter intake and energy balance in the transition period.» *Vet Clin N Am: Food Anim Pract*, 2004: 20:447-470.
- **Guerin-Faublee V., Carret G., Houffschmitt P.,** 2003: "In vitro activity of 10 agents against bacteria isolated from cows with clinical mastitis". *The Veterinary Record*, (2003), 466-471.
- **Hanzen C.,** 2000 : "Propédeutique et pathologie de la reproduction male et femelle. Biotechnologie de la reproduction". *Pathologie de la glande mammaire. 3^{ème} Partie, 4^{ème} Edition OC, Université de Liège, (2000).*
- **Hanzen CH. et Pluvinage P.,** 2007 : "La pathologie infectieuse de la glande mammaire. Approche individuelle", (2007), 29p.
- **Hawari A.D. and Al-Dabbas F.,** 2008: "Prevalence and Distribution of Mastitis Pathogens and their Resistance against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Jordan". *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, (2008), 3 (1), 36-39.
- **Hertl J.A, Gröhn Y.T, Leach J.D.G, Bar D, Bennett G.J, González R.N, Rauch B.J, Welcome F.L, Tauer L.W et Schukken Y.H,** 2010, Effects of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on the probability of conception in New York State Holstein dairy cows *J Dairy Sci*, 93, (9), 1551-1560.
- **Hogan J.S. et Smith K.L.,** 2003: "Coliform mastitis". *Vet. Res.* (2003), 34 (5), 507-519.
- **Hogan, J. S., Smith, K. L., Hoblet, K. H., Todhunter, D. A., Schoenberger, P. S., Hueston, W. D., Pritchard, D. E., Bowman, G. L., Heider, L. E., Brockett, B. L. et al.,** 1989: "Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies." *Journal of dairy science* 72(1): 250-258.
- **Hollmann K.H.,** 1974 "Cytology and fine structure of the mammary gland." In Larson B L, Smith V.R.(eds) *Lactation J.A.Comprehension Treatise.Academic press : NewYork.* (1974). 3-95.
- **Hortet P., Seegers H.,** 1998 : «Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows.» *Prev. Vet. Med.*, 1998: 37:1-20.
- **Hurley W., Loor J.,** 2011 : «Growth, Development and Involution.» *Encyclopedia of dairy science*, 2011, 4068p: 3:338, Londres, Elsevier.
- **Jayarao BM, Gillespie BE, Lewis MJ, Dowlen HH, Oliver SP.** 1999: Epidemiology of *Streptococcus uberis* intramammary infections in a dairy herd. *J. Vet. Med.*, 46: 433-442.

- **Juzie Mae B. Haguingan, Mary Joy N. Gordoncillo, Jose Arceo N. Bautista, Masanori Hikiba, Ione G. Sarmago**, 2010 : Detection and Identification of Bacterial Carriage of Subclinical Mastitis Cases in Backyard Dairy Cows [Vol 47, No 1 \(2010\)](#).
- **Kaouche-Adjalane S., Ghozlane F. et Mati A.**, 2015 : Typology of dairy farming systems in the Mediterranean basin (case of Algeria). *Biotechnology in Animal Husbandry*, 31 (3): 385-396. DOI: 10.2298/BAH1503385K.
- **Kivaria F.M., Noordhuizen J.P.T.M.**, 2007: "A retrospective study of the aetiology and temporal distribution of bovine clinical mastitis in smallholder dairy herds in the Dar es Salaam region of Tanzania". *The Veterinary Journal*, (2007), 173, 617–622.
- **Knobil E., Neill D.J.**, 1988 : *The physiology of reproduction*. New-York: Raven Press 3230p, 1988.
- **Labbé JF**, 2007 : Fonctionnement et dysfonctionnement de la machine à traire. Conférence organisée par le laboratoire Elanco pour les vétérinaires praticiens. Juin 2007.
- **Lafont JP, Martel JL, Maillard R, Chalus-Dancla E, Puyt JD, Laval A, et al.** 2002 : Antibiothérapie bovine. Acquis et consensus. Conférences organisées par le laboratoire Pfizer Santé Animale. Ed. Du Point Vétérinaire, 2002 : 318 p.
- **Le Grand D, Arcangioli MA, Giraud N, Poumarat F, Bezille, Bergonier D**, 2004 : Conduite à tenir face à des mammites à mycoplasmes. *Le Point Vétérinaire* 2004, 35(245) :34-37.
- **Lerondelle C.**, 1985 : "Les mammites à *Streptococcus uberis*". *Rec. Méd. vét.*, (1985), 161 (6-7), 539-544.
- **Lepage P**, 2003 : Les moyens de diagnostic des infections mammaires en exploitation. Journées Nationales des G.T.V., Nantes 2003 : 319-330.
- **Lepoutre D, Amédéo J, Bosquet G, Raguet Y**, 2006 : Efficacité de la tilmicosine injectable associée à la rifaximine intramammaire dans le traitement au tarissement des infections mammaires à *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus*. *Bulletin des G.T.V.*, 2006, 37 : 97-100.
- **M.A.D.R.** 2014 : Rapports annuels des statistiques agricoles du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (M.A.D.R), Alger.
- **Manner Y.**, 2001 : "Méthodes de bactériologie des mammites cliniques, Bibliographie, étude expérimentale d'un test bactériologique rapide : le sensivet mam color". Thèse pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Nantes, (2001).
- **Martinet J., Houbedine L-M.**, 1993 : *Biologie de la lactation*. Paris: INRA Editions 587p, 1993.

- **Martignoni L, Monsallier G, Steffan J, Vedeau F, 1991** : Enquête sur les infections mammaires autarissement. Importance relative de *Streptococcus uberis*. In *mammmites des vaches laitières*. Ed. Société Française de Buiatrie : 210.
- **Milne MH, Barret DC, Fitzpatrick JL, Biggs AM, 2002**: Prevalence and aetiology of clinical mastitis on dairy farms in Devon. *Vet. Record.* **151,241-243**.
- **Munoz, M. A., Welcome, F. L., Schukken, Y. H. et Zadoks, R. N, 2007**: "Molecular epidemiology of two Klebsiellapneumoniae mastitis outbreaks on a dairy farm in New York State." *Journal of clinical microbiology* 45(12): 3964-3971.
- **Nagahata H., Ito H., Maruta H., Nishikawa Y., Suskino H., Matski S., Higuchi H., Okuhira A., Anri A., 2007**: Controlling highly prevalent *Staphylococcus aureus* mastitis from dairy farm. *J. vet. med. Sci.*, **69**: 893-898.
- **Nickerson S.C., 2001** : «Anatomical mammary resistance mechanisms.» *Encyclopedia of dairy science*, 2011: 3:381, Londres, Elsevier.
- **Noireterre P., 2006** : "Suivis de comptages cellulaires et d'examen bactériologiques lors de mammmites cliniques chez la vache laitière. Etude expérimentale au centre d'élevage Lucien Bizet de Poisy". Thèse pour obtention de grade de Docteur Vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, (2006).
- **Pezeshki A., Mehrzad J., Ghorbani G. R., Rahmani H. R., Collier R. J., BURVENICH C.** «Effects of Short Dry Periods on Performance and Metabolic Status.» *J. Dairy Sci.*, 2007: 90:5531–5541.
- **Phillipot JM, Faye B, Peretz G. 1995**: Modifications de l'épidémiologie des infections mammaires des vaches laitières, induites par les programmes de lutte. *Ren. Rech. Ruts*, **2** :295-298.
- **Pitkälä A., Haveri M., Pyörälä S., Myllys V., Honkanen-Buzalski T., 2004**: "Bovine mastitis in Finland 2001—prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance". *J. Dairy Sci.*, (2004), **87**, 2433–2441.
- **Podschun, R. et Ullmann, U., 1998**: "Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors." *Clinical microbiology reviews* **11(4)**: 589-603.
- **Poutrel B., 1985** : "Généralités sur les mammmites des vaches laitières". Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle". *Rec. Mec. Vét.*, (1985), **161**, 497-510.
- **Poutrel B., 2004** : Le diagnostic des mammmites pour et par le vétérinaire praticien, intérêt et limites. Journées Nationales des G.T.V., Tours 2004 : 805-810.
- **Remond B., Kerouanton J., Brocard V, 1997** : "Effets de la réduction de la durée de la période sèche ou de son omission sur les performances des vaches laitières". INRA, Prod. Anim., (1997).

- **Remy D.**, 2007 : *Les mammites*, cours de DCEV 3 de l'ENVA, juillet 2007.
- **Radostits O.M., Blood D.C et Gay C.C.A**, 1997: "text book of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses". *VeterinaryMedecine*, (1997), 15, 576
- **Rakotozandrindrainy R.et Foucras G**, 2007 : "Etiologie bactérienne des mammites des vaches laitières du triangle laitier des hautes terres de Madagascar". *Revue Méd. Vét.*, (2007), 158, 02, 106-110.
- **Remy D.**, 2010 : *Les mammites : hygiène, prévention, environnement*, 1^{re} éd. Paris, France, La France agricole, 260 p.
- **Remy D.**, 2005 : *Traitement des mammites suraiguës*. Journées Nationales des G.T.V., Nantes2005 : 29-37.
- **Salat O, Lhermie G, Bastien J**, 2007 : Démarches pratique de traitement des infectionsmammaires à staphylocoques aureus. Journées Natio**Serieys F**, 2003 : Abord du traitement des infections à *Streptococcus uberis*. *Le Point Vétérinaire*, 2003, 34 (239) : 36-37.nales des G.T.V., Nantes 2007 :783-794.
- **Sandholm M., Louhi M.**, 1991 : "Mammites bovines: pourquoi y a-t-il des limites à l'antibiothérapie? Mammites des vaches laitières". *Société Française de Buatrie*, (1991), 88-97.
- **Sant'Anna A.C.**, 2011: The relationship between dairy cow hygiene and somatic cell count in milk. *Journal of Dairy Science*, 2011, **93**: 808-844.
- **Sargeant JM, Morgan A , Scott H, Leslie KE, Ireland MJ, Bashiri A**, 1998: Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario : frequency of occurrence and bacteriological isolates. *Can. Vet. J.*, **39** :33-38.
- **Sargeant J.M., Morgan-Scott H., Leslie K.E., Ireland M.J., Bashiri A.**,1998: "Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario: Frequency of occurrence and bacteriological isolates". *Can. Vet. J.*, (1998), 39, 33-38.
- **Schalm OW, Caroll EJ, Jain NC**, 1971: *Bovine mastitis*. Philadelphia : Lea et Febiger : 94 – 157.
- **Schmitt-Van DE Leemput E, Schmitt-Beurrier A**, 2005 : Bactériologie sur le lait en clientèle. *Le Point Vétérinaire*, 2005, 36(255) : 52-53.
- **Schmitt-Van DE Leemput E.**, 2005 : Antibiothérapie raisonnée lors de mammites aiguës, *Le point vétérinaire*, 2005, n° 252 : p 34-36
- **Schmitt-Van DE Leemput E.**, 2005 : Bactériologie sur lait en clientèle, *Le point vétérinaire*, 2005, n° 255 : p 52-53
- **Schukken Y.H., Grommers F.J., Smit J.A., Vanegeer D., Brand A.**, 1989: Effect of freezing onbacteriologic culturing of mastitis milk samples. *J. DairySci.*, **72**: 1900-1906.

- **Serieys F**, 1997 : Le tarissement des vaches laitières. Editions France agricole, Paris : 224 p.
- **Serieys F.**, 2003 : "Abord du traitement des infections à *Str. uberis*". *Point Vét.*, (2003), 34, (239), 36-37.
- **Serieys F**, 2007 : «Lactation et tarissement: nouvelle donne.» *Le Point Vétériaire*, 2007: 275: 33-38.
- **Serieys F., Faroult B.**, 2001 : "Plans de traitement des infections mammaires et stratégie thérapeutique". *Bulletin des GTV*, (2001), 12.
- **Sears P.M., Mc Cathy K.K.**, 2003: Diagnosis of mastitis for therapy decision. *Veterinary Clinic of North America, Food Animal Practice*, 2003, **19**: 93-108.
- **Serieys F. et al.**, 2009 : Utilisation de la bactériologie par le vétérinaire pour la maîtrise des mammites : élaboration d'une méthodologie et test en élevage, *Recueil du congrès de laSNGTV*, 2009 : p 651-661
- **Skrzypek R, WO'Jtowski J, Fahr RD**, 2004: Factors affecting somatic cell count in cow bulk tank milk. *Journal of Veterinary Medicine*, 2004, **51** : 127-131.
- **Smith KL, Todhunter .A, Schoenberger PS. 1985b**. Environmental mastitis : cause, prevalence, prevention. *J. DairySci.* **68** : 1531-1553.
- **Smith. K.L. et al.**, 1999 : "Etude de sélénium et de la vitamine E sur la fonction des cellules phagocytaires et le control des mammites". (1999).
- **Smith B P**, 2008: Mammary gland health and disorders. *Large animal internal medicine*, 2008, fourth edition: 1112-1119
- **Taponen S, Koort J, Björkroth J, Saloniemi H, Pyörälä S**, 2006: Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism based analyses. *Journal of Dairy Science* 2006, 90 : 3301-3307.
- **Taponen S, Pyörälä S**, 2007:« C.N.S. Emerging pathogen » Heifer Mastitis Conference, Final Program and Abstract Book, Ghent Belgium, juin 2007: 18-20.
- **Taponen S.**, 2008: Bovine mastitis caused by coagulase-negative staphylococci. *Accad. Diss., Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Finland*, 63 p.
- **THORBERG B-M. et al.**, 2009: Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci, *J. Dairy science*, 2009, **92**: p 4962-4970
- **Todhunter DA, Cantwell LL, Smith KL, Hoblet KH, Hogan JS**, 1993: Characteristics of coagulase negative staphylococci isolated from bovine intramammary. *Vet. Microbiol.* **34**: 373- 380.

- **Urech E., Puhán Z., Schällibaum M.** 1999 : «Changes in Milk Protein Fraction as Affected by Subclinical Mastitis.» *J. Dairy Sci.*, 1999: 82:2402-2411.
- **Van DE Leemput E**, 2007 : Analyse bactériologique du lait. Conférence organisée par le laboratoire Pfizer pour les vétérinaires en exercice, Nantes, Mai 2007.
- **Vestweber, Leipold. H.W.**, 1994 : "Symptômes lors de mammites modifiées". (1994)
- **Wallace J** ,2007 : "Diagnostiquer la mammite". Le producteur de lait québécois septembre, (2007), 47-49 p.Ogier J.C., "Une nouvelle méthode pour identifier les bactéries dans le lait" « <http://www.inra.fr> », (2006).
- **Wallemacq H., Girard B., Lekeux P., Bureau F.**, 2010 : La vaccination contre les mammites à *Staphylococcus aureus* chez la vache laitière. *Ann. Méd. vét.*, **154** : 16-29.
- **Wattiaux M.A.**, 1999 : "Reproduction et sélection génétique. Chapitre 12 : évaluation de la condition corporelle". Institut Babcock pour la recherche et le développement international du secteur laitier. University Wisconsin-Madison, (1999).
- **Ward W.R., Hughes J.W., Faull W.B., Cripps P.J., Sutherland J.P., Utherst J.E.**, 2002: "Observational study of temperature, moisture, pH and bacteria in straw bedding and faecal consistency, cleanliness and mastitis cows in four dairy herd". *Vet. Rec.* (2002), 151(7):199-206.
- **Weisen J.P.**, 1974 : "La prophylaxie des mammites". Edition Vigot Frères, (1974), 142p.
- **Wenz JR, Barrington GM, Garry FB, Ellis RP, Magnuson RJ**, 2006: Escherichia coli isolated serotypes, genotype and virulence genes and clinical coliform mastitis severity. *Journal of Dairy Science* 2006, 89: 3408-3412.

ANNEXES

Annexe A : Matériels de laboratoire

❖ Matériel de prélèvement :

- Flacon de capacité de 60 ml;
- Glacière ;
- Gants ;

❖ Matériel de laboratoire :

- Microscope photonique ;
- Lames porte objet ;
- Etuves (une à 37°C) ;
- Réfrigérateur à 4°C ;
- Bain marie ; bec bunsen ;
- Anse de platine ;
- Pince ;
- Boîtes de pétri ;
- portoirs métalliques ;
- verrerie stérile : tubes à essai de 20 ml, tubes à hémolyse, flacons, pipettes pasteur, et pipettes graduées de 10 ml.

❖ Milieux de culture et additifs :

- Gélose nutritive ;
- Bouillon BHIB;
- Bouillon nutritif ;
- Sang de mouton
- Eau physiologique stérile à 0,9% ;
- Eau distillée

❖ Réactifs et solutions de coloration :

- Disque d'oxydase ;
- Eau oxygénée à 10 volumes ;
- Huile à immersion ;
- Violet de Gentiane ;
- Lugol ;
- Alcool ;
- Fushine.

Annexe B : Représentation des résultats de dépistage des mammites

Rég	N° Ech	Code Vache	Quart P	Score CMT	Type mammite de	Rég	N° Ech	Code Vache	Quart P	Score CMT	Type mammite de
Tizi-Ouzou	1	01	AG	2	subclinique	Blida	39	37	PD	4	subclinique
	2	02	PD	2	subclinique		40	38	PD	3	subclinique
	3	03	AD	3	subclinique		41	39	AD	2	subclinique
	4	04	PD	2	subclinique		42		AG	2	subclinique
	5	05	AG	4	subclinique		43	40	PG	3	subclinique
	6	06	PG	2	subclinique		44		AD	2	subclinique
	7	07	AD	2	subclinique		45	41	PG	3	subclinique
	8	08	AD	3	subclinique		46	42	PD	2	subclinique
	9	09	AG	2	subclinique		47	43	PD	2	subclinique
	10		PG	3	subclinique		48	44	PD	4	subclinique
	11		PD	2	subclinique		49	45	AD	2	subclinique
	12	10	AG	3	subclinique		50	46	PG	2	subclinique
	13	11	PG	3	subclinique		51	47	PG	2	subclinique
	14	12	AD	2	subclinique		52	48	AG	3	subclinique
	15	13	PD	2	subclinique		53	49	AG	4	subclinique
	16	14	AG	3	subclinique		54	50	PD	3	subclinique
	17	15	PD	2	subclinique		55	51	AG	2	subclinique
	18	16	AG	2	subclinique		56	52	PG	2	subclinique
	19	17	PD	3	subclinique		57	53	AG	2	subclinique
	20	18	AD	2	subclinique		58	54	PD	3	subclinique
	21	19	PG	3	subclinique		59	55	AG	4	subclinique
	22	20	AG	2	subclinique		60	56	AG	2	subclinique
	23	21	AG	3	subclinique		61	57	PD	4	subclinique
	24	22	AG	2	subclinique		62	58	AD	3	subclinique
	25	23	AD	3	subclinique		63	59	AG	2	subclinique
	26	24	PD	2	subclinique		64	60	AG	3	subclinique
	27	25	AG	4	subclinique		65	61	PG	2	subclinique
	28	26	PD	2	subclinique		66	62	PG	2	subclinique
	29	27	PD	2	subclinique		67	63	AD	2	subclinique
	30	28	AD	3	subclinique		68	64	PG	2	subclinique
	31	29	AD	4	subclinique		69	65	AD	3	subclinique
Blida	32	30	PD	2	subclinique	70	66	PG	4	subclinique	
	33	31	PD	3	subclinique	71	67	PG	3	subclinique	
	34	32	PD	2	subclinique	72	68	AG	3	subclinique	
	35	33	PG	2	subclinique	73	69	AD	3	subclinique	
	36	34	PG	2	subclinique	74	70	AD	3	subclinique	
	37	35	PG	3	subclinique	75	71	PD	3	subclinique	
	38	36	PD	2	subclinique						

Rég : Région Quart P : quartier prélevé ; AD : antérieur droit, AG : antérieur gauche, PD : postérieur droit, PG : postérieur gauche.

