

République Algérienne Démocratique
Ministère de l'Enseignement et de la Recherche

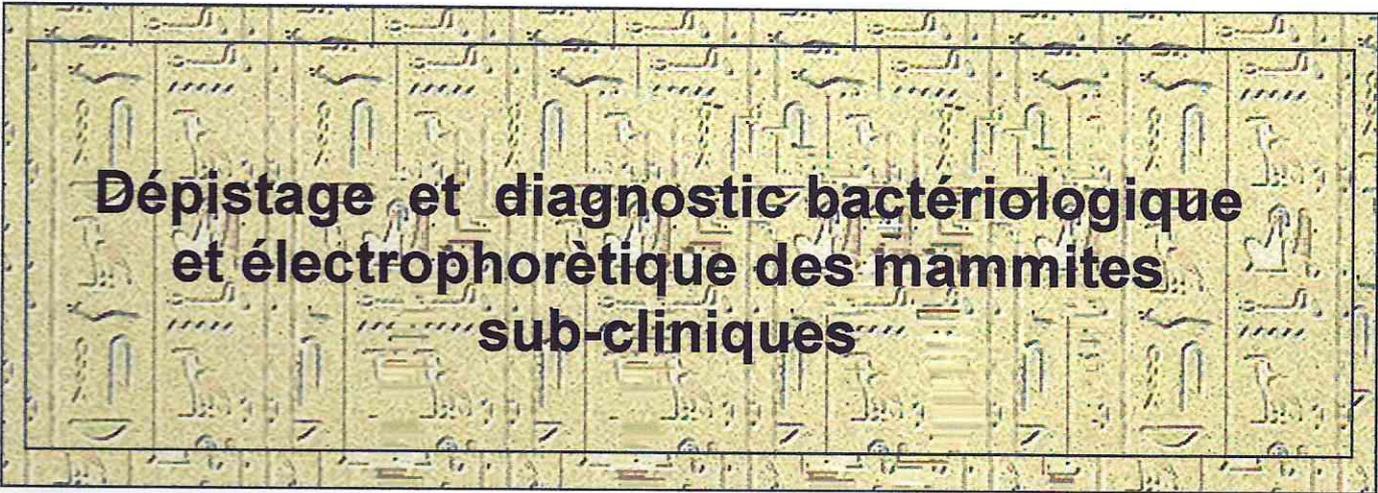


121THV-1

Université SAAD DAHLEB de Blida
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et biologiques
Département des Sciences Vétérinaire

MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme
de Docteur Vétérinaire



Dépistage et diagnostic bactériologique et électrophorétique des mammites sub-cliniques

Présenté par :

M. NABIL FOURAR

&

Melle. YASMINA BELKACEM

Membres du jury

Président : M. KAIDI R.

Professeur à l'U.S.D.B

Examinatrice : Mme BOUMAHDJI Z.

Chargé de cour à l'U.S.D.B

Examinatrice : Mme BENBLIDIA A.

Maître Assistante à l'U.S.D.B

Promoteur : M. BERBER A.

Maître de conférence à l'U.S.D.B

Co-promotrice : Mme MEKADEMI K.

Maître Assistante à l'U.S.D.B

Promotion 2007

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB de Blida
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et biologiques
Département des Sciences Vétérinaire

MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme
de Docteur Vétérinaire



Présenté par :

M. NABIL FOURAR
&
Melle. YASMINA BELKACEM

Membres du jury

Président : M. KAIDI R.	Professeur à l'U.S.D.B
Examinatrice : Mme BOUMAHDHI Z.	Chargé de cour à l'U.S.D.B
Examinatrice : Mme BENBLIDIA A.	Maître Assistante à l'U.S.D.B
Promoteur : M. BERBER A.	Maître de conférence à l'U.S.D.B
Co-promotrice : Mme MEKADEMI K.	Maître Assistante à l'U.S.D.B

Promotion 2007

*« Plus s'étend et s'approfondie le champ de ma
connaissance, plus s'aiguise la conscience de l'étendue
de mon ignorance »*

Michel Beaud

DEDICACES

« Louange à Dieu, le tout puissant »

*A mes très chers parents et mes grands parents,
En reconnaissance de leur soutien indéfectible et ininterrompu,
Que Dieu les garde !*

*A mon cher frère, ma très chère sœur et son mari
A mes tantes, mes oncles et leurs familles*

*A ma binôme yasmine, mes très chers amis (es)
A mes collègues, confrères et partenaires pour la vie*

*Je dédie ce modeste travail avec l'expression de tous mes sentiments
D'affection et de respect !*

F. Nabil

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

-A mes très chers parents Mahfoud et Sonia, que Dieu me les garde.

-A mes frères Lamouri, Fares et Ahmed.

-A ma sœur Siham.

-A ma sœur Louiza et son mari Abdel Kader.

-A ma nièce Marwa Zahia.

-A mon binôme Nabil.

-A mes copines Samia, Nina, Zakia, Samia et Amina, Faiza, Karima et Afaf.

-A mes copines de chambre Amina, Samia et Amina.

-A mes très chers Amis Ismail et Mohand.

-A tous mes amis (es) que je n'ai pu citer mais qui sont toujours présents dans mes pensées et mon cœur.

Yasmina

REMERCIEMENTS

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

Nos sincères remerciements vont à **M. KAIDI** pour nous avoir fait l'honneur d'être le président de jury, mais également **Mmes BOUMAHDI et BENBLIDIA**, toujours présentes pour partager leur savoir et leur bonté d'âme.

Pour son aide efficace, ses avis éclairés et ses encouragements, **Mme. KECHIH** du laboratoire régional vétérinaire de Draa Ben Khedda, wilaya de Tizi-ouzou mérite d'être mentionnée particulièrement, d'une part pour l'aide et les données qu'elle nous a fournies et d'autre part, pour les orientations prodiguées et l'intérêt qu'elle a toujours manifesté durant la progression de ce travail.

Nos vifs remerciements vont également à **M. HOUARI**, éleveur au niveau de chiffa, wilaya de Blida, pour nous avoir permis d'accéder à son élevage et aider tout au long de notre travail.

Nous présentons nos sincères remerciements à **M. AYACHI**, Technicien au laboratoire d'analyse médicale ARABI de Belcourt, wilaya d'Alger, pour nous avoir accueillis au laboratoire et aider à la réalisation de l'électrophorèse, test qu'on voulait pratiquer depuis des mois sans succès.

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

Enfin, remercier nos parents serait se répéter, citer leur affection serait un pléonasme, parfois pour exprimer plus que ce qu'on a envie de dire, on a recours au silence.

Liste des abréviations

- ARN** : Adénine ribonucléique.
- ACTH** : Adréno corticotrophie hormone.
- ADN** : Adénine dihydroribonucléique.
- ELISA** : Enzyme linked immuno sorbent assay.
- AD** : Antérieur droit.
- AG** : Antérieur gauche.
- PD** : Postérieur droit.
- PD** : Postérieur gauche.
- CMV** : Complexe minero- vitaminique.
- TDA** : Perchlorure de Fer Officinal.
- ADH** : Arginine dihydrolase.
- ODC** : Ornithine dihydrolase.
- LDC** : Lysine décarboxylase.
- VP** : Voges proskauer.
- NR** : Nitrate réductase
- RM** : Rouge de méthyl.
- ONPG** : Ortho-Nitro phényl Galatopyranoside.
- DNase** : Désoxycarbonucléase.
- S** : Sensible.
- R** : Résistant.
- INT** : Intermédiaire.

Liste des schémas

Schéma 1 : Système sécréteur de la glande mammaire.....	4
Schéma 2 : Modèle de structure de micelle de caséines selon Ono et Obata (1989).....	11
Schéma 3 : Différents stades de l'inflammation.....	21

Liste des figures

Fig 1. Voie d'administration des antibiotiques par voie galactophore.....	30
Fig.2 : Résultats de la première série de dépistage.....	63
Fig.3 : Résultats de la deuxième série de dépistage.....	63
Fig.4 : Evolution de la prévalence de mammites sub-cliniques à quatre mois d'intervalle.....	65
Fig.5 : Résultats des analyses bactériologiques.....	69
Fig.6 : Fréquence des différentes espèces bactériennes responsables des mammites sub-cliniques.....	70
Fig.7 : Fréquence des différentes catégories de Staphylocoques et d'Entérobactéries.....	70
Fig.8 : Résultats de l'antibiogramme sur les différentes souches de Staphylocoques testés....	73
Fig.9 : Résultat de l'antibiogramme sur les différentes souches d'Entérobactéries testés.....	74
Fig.10 : Résultats de l'antibiogramme sur les différentes souches de Streptocoques testés....	75
Fig.11 : Electrophorèse sur acétates de cellulose réalisée sur du lait sain (à gauche) et du lait atteint de mammites sub-cliniques.....	77

Liste des photos

Photo 1 Matériels pour le test CMT	37
Photo 2 De gauche à droite ; nettoyage des mains, nettoyage de la mamelle et séchage.....	37
Photo 3 De gauche à droite ; élimination des premiers jets, récupération de 2ml de lait dans chaque coupelle puis addition de 2 ml de teepol test	38
Photo 4 Papier PH pour le diagnostic des mammites.....	39
Photo 5 Désinfection de l'extrémité du trayon et remplissage du flacon stérile.....	40
Photo 6 Entreposage et acheminement du ou des prélèvements dans une glacière.....	40
Photo 7 : Colonies d' <i>Escherichia coli</i> à droite et de <i>Klebsiella spp.</i> à gauche.....	43
Photo 8 : Différentes réactions aux tests VP et RM.....	47
Photo 9 : Galerie biochimique pour Entérobactéries.....	47
Photo 10 : Colonie mannitol+ à gauche de Staphylocoque.....	49
Photo 11: Coccis Gram+ en grappe de raisin caractéristique des Staphylocoques après coloration de Gram (Grossissement $\times 100$).....	50
Photo 12: Colonies de Streptocoques 'D' entourées d'un halo noir.....	52
Photo 13: Coccis Gram+ en chaînettes caractéristiques des Streptocoques après coloration de Gram (grossissement $\times 100$).....	52
Photo 14: Différentes zones d'hémolyse sur gélose Columbia au sang de mouton.....	53
Photo 15: Préparation de la gélose au sang : mélanger le sang frais avec la gélose Columbia puis couler dans la boîte de pétrie.....	53
Photo 16 : Antibiogramme d'une souche de Staphylocoque.....	57
Photo 17: Matériels utilisés pour l'Extraction de la caséine du lait.....	58
Photo 18: Différentes étapes d'extraction de la caséine.....	59
Photo 19 : Matériel pour électrophorèse.....	60
Photo 20 : De gauche à droite ; reconstitution de la suspension et agitation pour homogénéiser.....	60
Photo 21: De gauche à droite ; trempage de l'acétate de cellulose et dépôt des papiers ponts dans la cuve de migration.....	61
Photo 22 : De gauche à droite ; remplir chaque cuve, Déposer l'échantillon sur la plaque en abaissant les embouts et placer la plaque dans la cuve.....	61
Photo 23: De gauche à droite ; migration, Coloration, Décoloration.....	62

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition du lait selon les espèces (teneurs en grammes par kilo).....	7
Tableau 2 : Proportion des différentes caséines dans le lait de quatre mammifères.....	10
Tableau 3 : Caractéristiques physicochimiques des protéines majeures du lait de vache.....	12
Tableau 4 : Altérations physico-chimiques du lait causées par les mammites.....	14
Tableau 5 : Caractéristiques générales des germes contagieux et des germes d'environnement.....	16
Tableau 6 : Evolution des différents paramètres de composition du lait mesurés sur des laits de quartier.....	25
Tableau 7 : Critères de choix d'un antibiotique.....	29
Tableau 8 : Principales mesures du plan de lutte contre les mammites et leurs actions sur ces infections.....	32
Tableau 9 : Informations générales sur le type d'élevage et sa gestion globale.....	35
Tableau 10 : Données relatives à la propreté des vaches et à l'hygiène du logement.....	36
Tableau 11 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Staphylococcus</i> <i>sp</i>	55
Tableau 12 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les <i>Entérobactéries</i>	56
Tableau 13 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Streptococcus</i> <i>sp</i>	57
Tableau 14 : Fiche d'identification et résultat du tipool test (CMT) réalisé entre le 19/03/07 et le 02/04/07.....	ANNEXE
Tableau 15 : Fiche d'identification et résultat du tipool test (CMT) réalisé entre le 17/06/07 et le 03/07/07.....	ANNEXE
Tableau 16 : Régime alimentaire des vaches en lactation en mars 2007.....	66
Tableau 17 : Régime alimentaire des vaches en lactation en juillet 2007	66
Tableau 18 : Identification des germes des différents prélèvements.....	68
Tableau 19 : Qualité bactériologique du lait issue de vaches atteintes de mammites sub- clinique et danger potentiel pour la santé du consommateur.....	71
Tableau 20 : Diamètre des zones d'inhibition aux différents antibiotiques pour <i>Saphylococcus sp</i>	72

Tableau 21 : Diamètre des zones d'inhibition aux différents antibiotiques pour les Entérobactéries.....	74
Tableau 22 : Diamètre des zones d'inhibition aux différents antibiotiques pour les Streptocoques.....	75

RESUME

L'étude réalisée porte sur les mammites sub-cliniques des vaches en lactation, une pathologie très répandue au niveau nationale.

L'expérimentation a duré 6 mois et s'applique à un élevage important, de plus de 200 têtes de bovins au niveau d'une exploitation située à Chiffa, wilaya de Blida.

Trois grands axes ont été ciblés :

*Le dépistage des animaux atteints de mammites sub-cliniques à l'aide du test de référence CMT ainsi que d'autres tests.

*Des analyses bactériologiques pour déterminer le ou les agents infectieux responsables de la maladie, puis la réalisation de l'antibiogramme afin d'évaluer la sensibilité de ces germes microbiens à différents antibiotiques.

*Une analyse biochimique, l'électrophorèse sur acétate de cellulose, des caséines du lait après leur extraction dans le but de déterminer l'action des différents germes responsables de ces mammites sub-cliniques sur les protéines du lait.

Ces tests et analyses ont démontré que :

* Le pourcentage de vaches affectées par des mammites sub-cliniques est très important, pouvant atteindre 40% de l'effectif total.

* Une alimentation riche et équilibrée entraînait une réduction des mammites sub-cliniques

*Les germes à réservoir mammaire, en premier lieu les Staphylocoques mais également les Streptocoques, représentent 80% des agents de mammites sub-cliniques ; ils peuvent s'avérer très résistants à certains antibiotiques largement et anarchiquement utilisés comme la tétracycline et la pénicilline.

*Les bactéries, responsables de cette pathologie, ont un impact très important sur les caséines du lait qui peuvent être complètement hydrolysées d'où diminution de la qualité alimentaire, inconvénient majeur qui va s'additionner à la réduction de la production laitière.

Mots clefs :

- Vaches
- Mammites
- dépistage
- lait
- Analyses
- Eléctrophorése

Summary

The study we refer to it concerns subclinical mammitis of cows while in lactation, a pathology widely spread all over country. Experimenting lasted six months and investigated an important breeding of more than 200 cows in a farm located at Chiffa in the wilaya of Blida.

Three important axes were examined:

*Tracking down animals affected by subclinical mammitis by means of the CMT test of reference together with other tests.

*Bacteriological analysis to determine infectious agents responsible of the disease, then the realization of the antibiogram to estimate the sensibility of these germs to various antibiotics.

*A biochemical analysis on extracted milk caseins by means of electrophoresis on cellulose acetate, the aim of which is to assess how germs, responsible of subclinical mammitis, affect milk proteins.

The tests run and analysis have shown that:

*The percent of cows with the subclinical mammitis disease is very important, reaching near 40% of the total breeding.

*A rich and well balanced feed resulted in a reduction of subclinical mammitis.

*Germs, evolving near the mamma, firstly stated Staphylococci but also Streptococci, represent 80% of germ agents responsible of subclinical mammitis, they turn out to be very resistant to some antibiotics extensively used in an anarchic way such as tetracycline and penicillin.

*Bacteria, responsible of this pathology, have a very important impact on milk caseins which can be completely hydrolysed, resulting in milk a poor food quality, a major disadvantage which is going to add to the less milk production.

Key words:

- Cows
- mammitis
- Tracking down
- Milk
- analysis
- Electrophoresis

PLAN DE TRAVAIL

-Dédicaces	
-Remerciements	
-Liste des abréviations	
-Liste des schémas	
-Liste des figures	
-Liste des photos	
-Liste des tableaux	
-Résumé	
-Plan de travail	
-Introduction.....	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I- RAPPELS ANATOMOPHYSIOLOGIQUES SUR LA MAMELLE.....	2
1-1-Definition.....	2
1-2 Morphologie de la glande mammaire.....	2
1-2-1-Morphologie externe.....	2
1-2-2-Morphologie interne	2
1-2-2-1- Le tissu mammaire	2
1-2-3-Mammogénèse.....	2
1-2-2-2- Le tissu conjonctif	3
1-2-2-3- Les vaisseaux et les nerfs	3
1-3- Physiologie de lactation	4
1-3-1- Contrôle hormonal de la mammogénèse	4
1-3-2- Lactogénèse	5
1-3-3- Contrôle hormonal de la lactogénèse.....	5
1-3-4-Galactopoïèse	5
1-3-5- LE TARISSEMENT.....	6
1-3-5-1- Fin de lactation	6
1-3-5-2-Involution et période sèche	6
II- LE LAIT.....	6
2-1- Définition	6

2-2- Composition biochimique du lait	7
2-2-1- Matières grasses	7
2-2-2- Glucides	7
2-2-3- Minéraux	7
2-2-4- Vitamines	8
2-2-5 Les matières azotées	8
2-2-5-1 L'azote non protéique (ANP)	8
2-2-5-2 Les protéines.....	8
2-3- Propriétés microbiologiques du lait.....	8
2-4- Qualités bactériologiques du lait	9
III-LES PROTEINES DU LAIT (CASEINES)	9
3-1-Introduction	9
3-2- les caséines	9
3-3-Caractéristiques de la micelle de caséine.....	9
3-4-Composition	10
3-5-Architecture générale de la micelle.	11
3-6-Propriétés physicochimiques de la caséine.....	11
IV- INFECTIONS INTRA-MAMMAIRES.	13
4-1 Définition	13
4-2 Incidence des mammites	13
4-2-1 Au niveau hygiénique et sanitaire	13
4-2-2 Au niveau économique	13
4-3 - Etiologie des mammites	14
4-3-1- Les germes	14
4-3-2 l'animal : Deux point influent sur la sensibilité aux mammites	15
4-3-2-1- l'hérédité	15
4-3-2-2- Anatomie.....	15
4-3-3 La production laitière	15
4-3-4- L'age et le rang de lactation	16
4-3-5- Stade de lactation	16
4-3-6 - Mode d'élevage et saison	16
4-4-L'environnement.....	16
4-4-1- La traite	16
4-4-2 Lésions de la mamelle et du trayon	17

4-4-3 Logement	17
4-5 Le vacher.....	17
4-6- Alimentation	17
4-4- Classification des mammites	18
4-4-1 -Classification en fonction des symptômes	18
4-4-1-1- Infection latente.....	18
4-4-1-2- Mammite sub-clinique.....	18
4-4-1-3- Mammite clinique	18
4-4-2- Classification en fonction de l'agent causal	18
4-4-2-1- Mammites d'environnement.....	18
4-4-2-2- Mammites de tarissement	19
4-4-2-3- Mammites de traite ou « mammites contagieuses »	19
4-5-Pathogénie	19
4-5-1 Mammites à coliformes.....	19
4-5-2- Mammites streptococciques	20
4-5-3 Mammites staphylococciques	21
4-6-Diagnostic.....	22
4-6-1-Mammites cliniques	22
4-6-2-Mammites sub-cliniques.....	22
4-6-2-1 Dénombrement des cellules du lait	22
4-6-2-1-1- Méthodes indirectes	22
a.-Le californien Mastitis Test (CMT).	22
b.- Le test de la catalase.....	22
4-6-2-1-2- Méthodes directes	23
4-6-2-2- Diagnostic bactériologique.	23
4-6-2-3- Diagnostic par mesure de la conductivité électrique	24
4-6-2-4- Diagnostic immunologique.....	24
4-6-2-5- Diagnostic biochimique.....	25
4-7- EPIDEMOLOGIE	25
4-7-1- Facteurs liés a l'animal ..	25
* Morphologie de la mamelle ..	25
*Stade de lactation ..	26
*Nombre de lactation.....	26

4-7-2 Facteurs liés à l'agent causal	26
4-7-3- Facteurs liés au logement	26
4-7-4- Facteurs liés à la traite	27
4-7-5 Facteurs liés à l'alimentation.....	27
4-8- Traitement des mammites	28
4-8-1- Traitement des mammites cliniques (Antibiothérapie)	28
4-8-2- Traitement des mammites sub-cliniques	30
4-9- Prophylaxie medico- sanitaire	30
4-9-1- Traitement au tarissement	30
4-9-2- La vaccination	31
4-9-3- La prévention des mammites	31

PARTIE EXPERIMENTALE

I-MATERIELS ET METHODES.....	33
1-OBJECTIFS.....	33
2- Conditions expérimentale	33
2-1-Lieu d'expérimentation	33
2-2-Matériel biologique.....	34
3-1- Prélèvement.....	36
3-2- Source des informations	36
3-3- Dépistage des mammites sub-cliniques	37
3-3-1-L'épreuve de CMT	37
a- Matériels	37
b- Méthodologie.....	37
c- Interprétation des résultats	38
3-3-2-Autres moyens de dépistage	38
a- Le papier PH	38
b- Le Test de conductivité électrique	39
3-4- Méthode de prélèvement.....	39
3-4-1- Matériel	39
3-4-2- Méthodologie.....	39
3-4-3-Conservation et acheminement	40

3-5- Analyses bactériologiques.....	41
3-5-1- Laboratoire d'analyse.....	41
3-5-2- Matériel et réactifs utilisés	41
3-5-3-Recherche des Entérobactéries	43
a- Enrichissement	43
b- Isolement	43
c-Purification	44
d-Identification	44
d-1-Caractères morphologiques	44
d-2-Caractères biochimiques	44
3-5-4-Recherche des Staphylocoques	49
a-Enrichissement	49
b-Isolement.....	49
c-Purification	50
d-Identification	50
d-1-Caractères morphologiques	50
d-2-Caractères biochimiques	50
3-5-5-Recherche des Streptocoques	51
a-Enrichissement.....	51
b-Isolement	51
c-Purification	52
d-Identification	52
d-1-Caractères morphologiques..	52
d-2-Recherche du pouvoir hémolytique	52
3-6- L'antibiogramme	54
3-7-Analyses biochimiques	58
3-7-1- Extraction de la caséine du lait	58
a-Matériels et réactifs.....	58
b-Méthode de travail	58
3-7-2- Electrophorèse de la caséine du lait.....	59
3-7-2-1-Définition	59
3-7-2-2-Matériels et réactifs.....	59
3-7-2-3-Méthodologie.....	60
IV-RESULTATS ET DISCUSSION.....	63

4-1-Effectif bovins contaminés par les mammites sub-cliniques	63
4-1-1- Résultats	63
4-1-2- Discussion	64
4-2-Analyses bactériologiques	68
4-2-1-Résultats.....	68
4-2-2-Discussion	69
4-3- Antibiogrammes réalisés sur les germes identifiés	72
4-3-1-Résultats	72
4-3-2-Interprétation.....	73
4-3-2-1-Cas des Staphylocoques	73
4-3-2-2-Cas des Entérobactéries	75
4-3-2-3-Cas des Streptocoques.....	75
4-3-3-Discussion.....	76
4-4-Electrophorèse sur acétate de cellulose du lait mammitieux sub-clinique..	77
4-4-1-Résultat	77
4-4-2-Discussion.....	78
Conclusion.....	79

Recommandations

ANNEXE

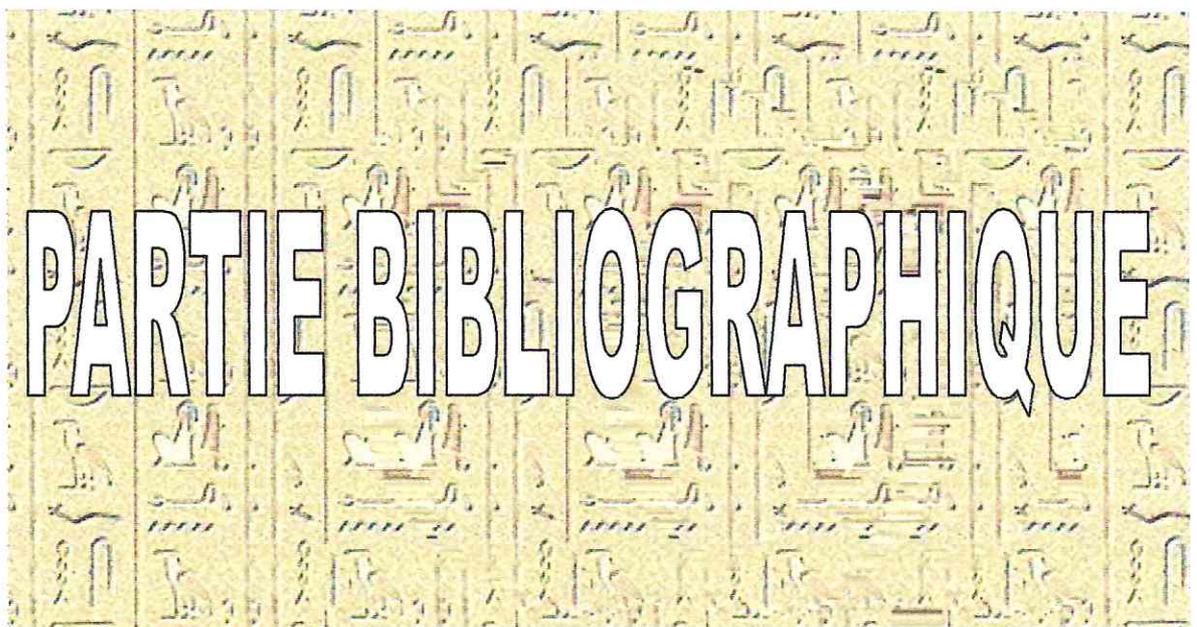
INTRODUCTION:

L'Algérie est le premier consommateur de lait et dérivés en Afrique avec 3380 millions de litres par an équivalent à 1151 / habitant/an; par comparaison, on consomme plus que nos voisins marocains et tunisiens réunis avec respectivement 1866 et 800 millions de litre / an. La production lactée nationale est assurée par un cheptel d'environ 675000 têtes bovines produisant 1140 millions de litres par an (34% de couverture), ce qui est largement insuffisant pour répondre à la demande nationale. Les raisons du déficit sont variées : manque de formation et de moyens des éleveurs, carence en études scientifiques sur le terrain.... (BOURBOUZE, 2003).

Parmi les pathologies dormantes, il y a les infections de la glande mammaire nommées mammites qui tiennent une place économique très importante ; ces mammites atteignent des proportions inquiétante dans notre pays et sont responsable de répercutions négatives très importantes aussi bien qualitatives que quantitatives sur la production lactée nationale (BOURBOUZE, 2003).

Dans notre travail, nous nous sommes assignés trois objectifs :

- _Le dépistage des animaux atteints de mammites sub-cliniques sur un élevage connu.
- _La recherche, l'isolement et l'identification des différentes souches bactériennes notamment : Entérobactéries, Streptocoques, Staphylocoques et Pseudomonas.
- _L'étude du profil électrophorétique du lait mammitiqueux.



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I- RAPPELS ANATOMOPHYSIOLOGIQUES SUR LA MAMELLE

1-1-Definition

La mamelle est une glande tubulo-alvéolaire d'origine ectodermique qui présente l'évolution suivante : Le cordon mammaire produit des crêtes mammaires puis des bourgeons mammaires (CRAPLE ,1999).

Elle joue un rôle dans les phénomènes de la reproduction et son activité fonctionnelle est étroitement liée à leur évolution (KLOB ,1975).

1-2 Morphologie de la glande mammaire

1-2-1-Morphologie externe

Le pis de la vache est composé de deux paires de mamelles ou quartiers. Ces quartiers sont physiquement séparés par un ligament suspenseur du pis et par deux sillons transverses ; chaque quartier forme ainsi une entité anatomique distincte et indépendante des trois autres (BAUDY, 2005).

1-2-2-Morphologie interne

La mamelle est constituée de deux sortes de tissus innervés par des vaisseaux et des nerfs :

- Un tissu glandulaire ;
- un tissu conjonctif, plus ou moins adipeux.

1-2-2-1- Le tissu mammaire

Il présente une structure acineuse en grappe. Chaque acini est une petite sphère de 100 à 500 microns de diamètre qui constitue, de l'intérieur à l'extérieur ; des cellules épithéliales, une membrane basale, un maillage de capillaires artériels et veineux et de fibres musculaires lisses. En se contractant, ces fibres presseront l'acinus pour en chasser le lait vers les canaux (SOLTNER., 2001)

Cette structure glandulaire est formée par une arborisation touffue où l'on distingue, des canaux des plus fins aux plus larges :Les canaux intra- lobulaires puis intra- lobaires, les canaux galactophores ou lactifères, Les sinus galactophore ou bassinets, le méat du trayon (fig1)

1-2-3-Mammogénèse

C'est le développement de la glande mammaire pendant la première gestation et l'ensemble du processus comprend cinq périodes réparties en deux phases bien distinctes

- La première phase de la naissance jusqu' à la puberté :
- La seconde est cyclique : elle débute de la première gestation, se termine ensuite lentement pendant la lactation puis reprend avec le tarissement et la nouvelle période gestative et ce, plus ou moins intensivement, pendant toute la durée de production de l'animal (DOSOGNE et *al.*,2000 ; SOLTNER, 2001)

1-2-2-2- Le tissu conjonctif

C'est une sorte de « tissu d'emballage » qui comprend :

- Les ligaments suspenseurs entourant la mamelle et séparant les quartiers gauches et droits.
- La matière interstitielle entourant le tissu glandulaire, constituée de fibres élastiques et d'une inclusion grasseuse plus ou moins abondante.

1-2-2-3- Les vaisseaux et les nerfs

Les réseaux artériels et veineux comprennent : deux artères mammaires, un réseau veineux sous-cutané, visible à l'extérieur, et comprenant deux veines inguinales, deux veines périnéales et deux veines centrales.

Un réseau lymphatique complète le réseau sanguin. Il recueille la lymphe filtrant à travers les capillaires sanguins et converge vers les deux ganglions mammaires.

Le système nerveux de la mamelle est surtout composé de fibres sensibles, il n'existe pas de nerf moteur mammaire : le fonctionnement mammaire est commandé par des mécanismes hormonaux (SOLTNER, 2001).

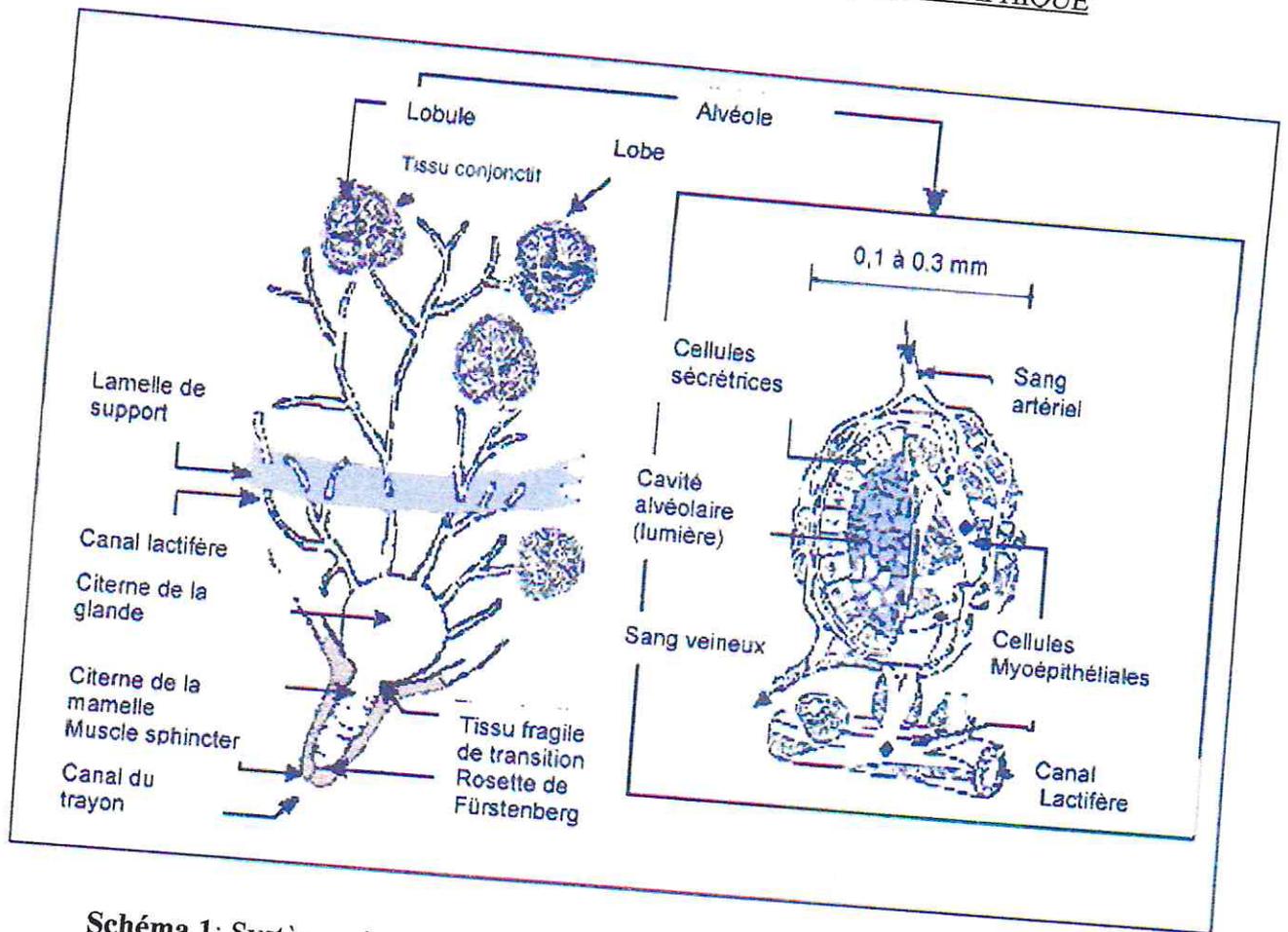


Schéma 1: Système sécréteur de la glande mammaire (WATTIAUX, 1999)

1-3- Physiologie de lactation

1-3-1- Contrôle hormonal de la mammogénèse

Tout un complexe hormonal contrôle la mise en place du tissu mammaire préparant la sécrétion du lait, en évitant qu'elle ne démarre :

- La folliculine (œstradiol) et la progestérone : sécrétées par l'ovaire (au cours de chaque cycle) et par l'ovaire et le placenta (au cours de la gestation),elles stimulent l'accroissement des canaux et des acini (HANZEN, 2005)
 - En même temps, la progestérone empêche le sécrétion l'actée : en freinant la sécrétion hypophysaire de la prolactine et en limitant « les récepteurs de la prolactine » dans les cellules sécrétrices.
 - Les hormones de métabolisme général : glucocorticoïdes, insuline, thyroxine, hormones de croissance; elles agissent également sur le développement de la glande mammaire.
- L'hypophyse est préparée par les hormones ovariennes et placentaires à la sécrétion future de prolactine (HANZEN, 2005).

1-3-5- LE TARISSEMENT

1-3-5-1- Fin de lactation

Le tarissement se définit comme une phase physiologique transitoire en fin de lactation ; progressive chez les animaux qui allaitent leurs petits, le tarissement se produit par diminution des réflexes de stimulation, donc par chute des influences hormonales (SERIEYS, 1997)

1-3-5-2-Involution et période sèche

La période d'involution de la glande mammaire dure environ un mois et le processus de régression du tissu sécrétoire débute entre 12 et 24 heures après l'arrêt de la traite : les cellules épithéliales disparaissent les premières puis les fibres myo épithéliales.

La période sèche qui suit la période d'involution est caractérisée par la régression des organites cellulaires impliqués dans la synthèse des constituants du lait (appareil de Golgi, réticulum endoplasmique, ribosomes, mitochondries) et la réduction de la lumière alvéolaire qui est compensée par une augmentation du tissu conjonctif ou stroma. (SERIEYS, 1997)

II- LE LAIT

2-1- Définition

Le lait est un liquide sécrété par la glande mammaire des femelles mammifères et destiné à nourrir le nouveau-né durant les premières semaines ou les premiers mois de sa vie.

D'un point de vue légal, le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante et non surmenée ; il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum. La dénomination lait sans indication de l'espèce animale de provenance est réservée au lait de vache (ANONYME, 1981).

2-2- Composition biochimique du lait

Aliment complet, le lait est une émulsion de matières grasses dans un sérum aqueux qui contient des protéines, des glucides, des minéraux, des vitamines...

Tableau 1 : Composition du lait selon les espèces (teneurs en grammes par kilo)
(ANONYME, 1981)

<i>espèces</i>	<i>Eau</i>	<i>Matières grasses</i>	<i>lactose</i>	<i>caséines</i>	<i>Autres protéines</i>	<i>Matières minérales</i>
Bovine	871	38	48	27	7	7
caprine	872	41	42	29	8	8
humaine	874	38	70	9	7	2

Nous constatons dans le tableau 1 une composition très proche entre le lait bovin et caprin, et une importante différence avec le lait d'humain surtout en ce qui concerne la teneur en lactose, en caséines et matières minérales.

2-2-1- Matières grasses

Le lait de vache renferme 98% de triglycérides, 1% de phospholipides et 1% de lipides insaponifiable (non transformable en savon).

2-2-2- Glucides

Le lactose représente quantitativement, biologiquement et technologiquement, le glucide le plus important du lait ; il est présent pratiquement dans le lait de tous les mammifères.

Sur le plan nutritionnel, le lactose est une des sources essentielles de galactose, élément nécessaire à la construction du système nerveux des mammifères (ANONYME, 1981).

2-2-3- Minéraux

Le lait contient une grande quantité de minéraux qui sont présents sous forme de sels non ionisés ou faiblement ionisés. Les principaux cations sont le potassium, le calcium, le sodium et le magnésium ; les principaux anions sont les phosphates, les chlorures et les citrates (ANONYME, 1981)

2-2-4- Vitamines

Le lait contient, en concentration relativement élevée, une grande variété de vitamines ou de provitamines (substances inactives contenues dans les aliments et que l'organisme transforme en vitamines actives) aussi bien liposolubles (A, D, E) qu'hydrosolubles (B, C..) ; les conditions de stockage peuvent réduire sa valeur vitaminique (ANONYME, 1981).

.2-2-5 Les matières azotées

On distingue dans le lait deux types de matières azotées :

2-2-5-1 L'azote non protéique (ANP)

Il est constitué principalement d'urée, d'acide urique, d'ammoniaque et de créatinine.

2-2-5-2 Les protéines

Dites protéines du lactosérum, elles ne précipitent pas lors de la coagulation du lait, après ajout de chymosine (présure) ou lors d'une acidification. Elles sont constituées de deux catégories:

- Les protéines mineures

Elles sont stables et solubles et ne que représentent que 15 à 22% des protéines du lait.

- Les protéines majeures

Insolubles, elles sont responsables de la coagulation quand le lait s'acidifie.

2-3- Propriétés microbiologiques du lait

De par sa richesse en éléments nutritifs, le lait constitue un milieu très favorable au développement des micro-organismes. La présence de nombreux facteurs de croissance permet de satisfaire de nombreuses espèces microbiennes exigeantes et difficiles à cultiver dans un milieu moins complet ; le lait au sens écologique du terme constitue un écosystème [BOURGEOS, LEVEAAU, 2006].

La flore banale est très variée (nombreux microcoques, quelques *Staphylocoques* (*corynébacérium*, *pseudomonas*, *aéromonas*), mais contient surtout des bactéries lactiques (streptocoques, lactobacilles) qui sont responsables de la fermentation du lactose en acide lactique.

Les bactéries pathogènes sont indésirables en tant qu'agents infectieux et imposent la stérilisation ; les plus courants sont des entérocoques d'origine fécale, des staphylocoques, mais le lait peut être aussi contaminé par le bacille tuberculeux, des brucellas....

2-4- Qualités bactériologiques du lait

Un bon lait, sur le plan bactériologique doit être sain et apte à se conserver et à subir les traitements technologiques : sa microflore, exempte de germes pathogènes, doit être aussi réduite que possible ; par ailleurs, aucune substance inhibitrice (comme les antibiotiques) ne doit entraver le développement des bactéries lactiques.

Le critère le plus courant et le plus utile d'appréciation de la qualité bactériologique des laits est le nombre de germes totaux par millilitre (G.T/ml) ;

Un lait présentant jusqu'à 10^6 G.T/ml à l'arrivée à l'usine est acceptable ; un lait contenant de 50 à $100 \cdot 10^6$ G.T /ml risque de coaguler en cours de traitement thermique ; au-delà de 10^9 G.T/ml, la coagulation risque fort d'avoir lieu à température ambiante. Il semble nécessaire que le lait, au moment de son ramassage à la ferme, contienne $5 \cdot 10^4$ G.T./ml, voire moins, s'il est destiné à la consommation sous forme de lait pasteurisé de haute qualité (ANONYME, 1981).

III-LES PROTEINES DU LAIT (CASEINES)

3-1-Introduction

On distingue deux grands groupes de protéines dans le lait, les caséines et les protéines du lactosérum qui sont considérées comme négligeables alors que la β - lactoglobuline et l'albumine sont prédominants en nombre de moles (BRUNER , 1981 *In* CAYOT et LORIENT,1998).

3-2- les caséines

Elles forment la micelle de caséines, un ensemble supramoléculaire qui rassemble ces protéines.

3-3-Caractéristiques de la micelle de caséine

La presque totalité de la phase caséinique est structurée en superstructures sphériques volumineuses (les micelles) avec une surface granuleuse ressemblant à une framboise. Celle-ci traduit la présence de submicelles, de masse micellaire comprise entre 0,5 et 1×10^9 DA et dont le diamètre varie de 30 à 600 nm Leur taille varie selon l'espèce de mammifère, la saison (micelles plus grosses dans le lait d'été), le stade de lactation (les micelles peuvent atteindre un diamètre de 1000 nm chez un même individu dans le colostrum), et des divers traitements du lait (les traitements thermiques en particulier provoquent un accroissement de la taille des micelles) (ANONYME, 1981).

3-4-Composition

La micelle contient environ 92% de protéines nommées caséines et 8% de minéraux contenant 90% de phosphate de calcium et 10% d'ions citrates et de magnésium.

Les unités protéiques constituant la micelle de caséine sont au nombre de 5:

_ La caséine α_1 : C'est la protéine la plus abondante du lait avec 10 g/l ; elle est considérée comme le squelette interne de la micelle, majoritaire en proportion et masquée semble-t-il au cœur de la micelle ; elle possède une zone qui permet très vraisemblablement des liaisons phosphocalciques aisées et solides entre les constituants micellaires et s'associe facilement avec d'autres caséines pour former des submicelles.

_ La caséine α_2 : Le lait en contient en moyenne 2,6g/l ; comme la précédente elle semble ne pas être à la surface de la micelle.

_ La caséine β : Elle est présente en très forte proportion dans le lait avec 9,3g/l en moyenne ; elle possède l'hydrophobicité moyenne la plus forte et représente la protéine où la répartition en une zone hydrophobe et une zone hydrophile est la plus marquée .

_ La caséine k : cette caséine, bien que non majoritaire dans la micelle (3,3g/l), est la protéine laitière de loin la plus étudiée car elle détient le rôle clef de la coagulation du lait par la présure; il se trouve que la très grande majorité de la protéine k se trouve à la surface de la micelle accessible à l'enzyme et constitue la chevelure stabilisante de la micelle grâce à sa séquence c-terminale (pôle hydrophile) présente à la périphérie de la sphère.

_ La caséine γ : Elle est présente en proportion relativement faible (0,8g/l).

Tableau 2 : Proportion des différentes caséines dans le lait de quatre mammifères (BOURGEOS, LEVEAAU, 2006).

Espèce	% (mg/ml) caséine		
	α_s ($\alpha_1 + \alpha_2$)	β	k
Bovine	49,6(35+10)	37,3(40)	13,1(15)
Caprine	50,5(5+25)	43,2(50)	6,3(20)
Ovine	48,5	38,1	13
Equidés	58,0	42	Pas identifié

Le tableau 2 nous indique que le pourcentage de caséine α_s et β sont présentes à des taux comparables chez toutes les espèces, par contre pour la caséine k ce taux varie d'une espèce à une autre.

3-5-Architecture générale de la micelle

La micelle est constituée au centre de submicelles de caséines β et α_1 au cœur et de submicelles α_1 , α_2 et k en périphérie ; les submicelles externes exposeraient les caséines k vers le milieu dispersant. Le côté intérieur de la submicelle, tourné vers l'intérieur, serait constitué exclusivement de caséines α_1 et α_2 . Une faible quantité de caséines β pourraient s'y trouver aussi.

Les submicelles internes sont liées en partie par des compactages hydrophobes mais surtout grâce à des liaisons ioniques par l'intermédiaire de phosphate inorganique de calcium (CAYOT, LORIENT, 1998).

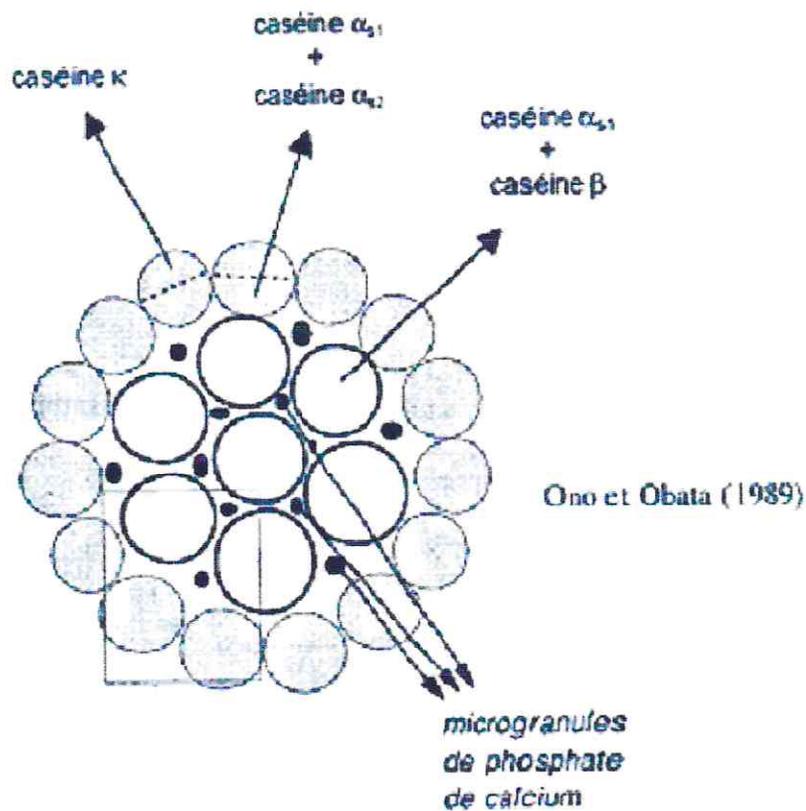


Schéma 2. Modèle de structure de micelle de caséines selon Ono et Obata (1989).

3-6-Propriétés physicochimiques de la caséine

La caséine est un complexe protéique et salin (à l'état micellaire dans le lait frais, et à l'état précipité sous forme de caillé en présence d'une enzyme spécifique, la présure ou d'un acide).

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

La coagulation correspond à la précipitation de la caséine dans la phase aqueuse du lait sous forme d'un caillé, qui, se rétractant après la prise en masse, expulse l'eau et les substances hydrosolubles (lactosérum). Elle peut parfois résulter d'un chauffage intensif sous pression élevée, d'un accroissement des concentrations du lait en certains minéraux (calcium, chlorure de sodium...), ou d'un abaissement brutal de la température... (ANONYME, 1981).

La stabilité des micelles est due à la résultante de forces attractives comme les liaisons hydrogènes et de forces répulsives (encombrement stérique et répulsion électrostatique). La stabilisation stérique de la micelle par la <chevelure> due à la séquence C-terminale de la caséine *k* à l'extérieur explique en partie cette stabilité.

La prise en compte des répulsions par des forces électrostatiques qui s'opposeraient à l'action des forces attractives semble suffire par contre à expliquer à la fois l'action de la chymosine, les effets de l'augmentation de la concentration en calcium, de l'acidification ou de l'ajout d'alcool sur la stabilité de la micelle dans la coagulation du lait (CAYOT, LORIENT, 1998).

Tableau 3 : Caractéristiques physicochimiques des protéines majeures du lait de vache (CAYOT, LORIENT, 1998); β -lg = β -lactoglobuline ; α -lb = α -lactalbumine ; C = calculé ; E = expérimentale. Le volume spécifique est en mg/l, l'absorption de la lumière monochromatique à 280nm en cm²/g, la masse moléculaire (MM) en Da et l'hydrophobicité totale (H Φ) en kJ par résidu d'acide aminé.

Protéines	Charge à ph=6,6		Point iso- ionique		Volume spécifique(mg /l)		Absorption à 280nm(cm/g)		MM (Da)	H Φ (kJ)
	C	E	C	E	C	E	C	E		
Caséines α 1b	-21	-23	6	5,1	0,72	0,73	1,05	1,01	23 612	4,89
Caséine α 2a	-15	n.d.	5,3	n.d.	0,72	n.d.	1,1	n.d.	25 228	4,64
Caséine Ba2	-12	n.d.	5,2	5,3	0,74	0,74	0,46	0,46	23 980	5,58
Caséine <i>k</i>	-3	n.d.	5,6	5,4	0,73	n.d.	0,95	0,96	19 005	5,12
β -lg	-11	-11	5,2	5,3	0,75	0,75	0,92	0,94	18 362	5,03
α -lb	2,6	n.d.	5,4	4,8	0,70	0,73	2,01	2,00	14 174	4,68

Le tableau 3 nous indique les caractères physico-chimiques des caséines ; ces informations sont très importantes pour l'interprétation du résultat de l'électrophorèse de la caséine sur acétate de cellulose que nous réaliserons dans la partie expérimentale.

IV- INFECTIONS INTRA-MAMMAIRES

4-1 Définition

La mammite se définit par l'état inflammatoire et infectieux de la glande mammaire. Elle est due à la présence et à la multiplication dans le tissu mammaire d'une ou plusieurs souches de bactéries (DEDERT, 2001). Dans tous les cas, elle provoque une altération de la qualité du lait .

La mammite se caractérise par des changements physiques et habituellement bactériologiques du lait et par des lésions pathologiques du tissu glandulaire (BLOOD, HANDERSON, 1976).

4-2 Incidence des mammites :

4-2-1 Au niveau hygiénique et sanitaire

Les modifications du lait, consécutives à l'infection mammaire, sont souvent si profondes que le produit, par son aspect, son changement de composition et les germes pathogènes qu'il renferme, a perdu tout pouvoir alimentaire et, surtout, peut devenir nocif pour le consommateur (RISCH., 1978).

4-2-2 Au niveau économique

-En ce qui concerne le producteur

Les mammites sont responsables de pertes financières non négligeables qui peuvent se répartir en quatre groupes :

- Les pertes à court terme (7 % de pertes) représentées par la quantité de lait rendu inutilisable par les résidus d'antibiotiques (lait perdu) et les frais des traitements des mammites.
- Les pertes à moyen terme (10% de pertes) résultant d'une dépréciation commerciale due à une augmentation de la quantité de germes pathogènes responsables de mammite clinique ou de la présence d'antibiotiques dans le lait.
- Les pertes à long terme (70% de pertes) représentées par la diminution de production qui existe toujours en cas de mammite aigue ; parfois même, la sécrétion se tarit entièrement, de façon temporaire ou définitive (HANZEN, LOUP CASTEIGNE, 2002).

Ajoutons à cela les frais de remplacement des animaux reformés (8% des frais) et les pertes de potentiel génétique de cheptel.

-En ce qui concerne le transformateur

Les conséquences majeures des mammites sont liées à la diminution en protéines insolubles : la caséine. Le lait de mammité subit de nombreuses altérations chimiques et biochimiques, comme il ressort du tableau 4 ; sa valeur est dépréciée comme matière première (RISCH., 1978)

Tableau 4 : Altérations physico-chimiques du lait causées par les mammites (ANONYME : 1995, SERIEYS., 1997)

Caractères physico-chimiques	Evolution
Matières protéiques :	
Taux protéique	=
% protéines coagulables (caséines)	↓
% des protéines solubles	↑
Protéolyse par la plasmine	↑
Matières grasses :	
Taux butyreux	= ou ↓
Acides gras libres	↑
Lactose	↓
Matières minérales :	
Ca. P. K	↓
Na Cl	↑
PH	↑

4-3 - Etiologie des mammites

La cause d'apparition des mammites résulte de l'interaction de trois éléments : Le germe, l'animal et l'environnement.

4-3-1- Les germes

La plupart des germes responsables de mammites peuvent exister dans l'élevage en l'absence d'infections mammaires dans le troupeau.

Classiquement, les germes responsables de mammites se répartissent en deux catégories, l'une comprenant les germes contagieux et l'autre les germes d'environnements (Tableau 5) (HANZEN, LOUP CASTEIGNE, 2002)

Tableau 5 : Caractéristiques générales des germes contagieux et des germes d'environnement (HANZEN, LOUP CASTEIGNE., 2002).

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

4-3-2 l'animal : Deux point influent sur la sensibilité aux mammites :

4-3-2-1- l'hérédité

Des observations ont montré qu'il existe des différences d'une famille de vaches à une autre en ce qui concerne la résistance aux mammites. Ceci peut s'expliquer par l'intervention d'autres facteurs liés à l'hérédité : anatomie, physiologie et immunologie

4-3-2-2- Anatomie

Le développement important de la mamelle, de même que le relâchement ligamentaire prédispose au traumatisme et au frottement contre les membres postérieurs, alors que les risques d'écrasement des trayons sont accrus. La conformation du trayon influe sur la qualité de la traite. Les animaux les plus sensibles sont ceux à traite rapide en raison du diamètre du canal plus important facilitant la pénétration des germes. Les vaches à traite lente sont, quant à elles, traumatisées par l'action de la main du trayeur ou de la machine à traire (CRAPLET, THIBIER, 1973).

4-3-3 La production laitière

Les vaches en forte production laitière souffrent plus de mammites cliniques (CRAPLET, THIBIER, 1973).

4-3-4- L'âge et le rang de lactation

L'effet de l'âge reste toujours sous-évalué du fait de la politique de réforme qui tend à éliminer les animaux affectés.

Cependant, les vaches âgées sont plus sensibles non pas directement du fait de l'âge mais par suite des infections antérieures car les mammites n'entraînent pas secondairement un état d'immunité mais au contraire un état de sensibilité. (CRAPLET, THIBIER, 1973).

Une vache qui n'a pas fait de mammite à sa 3^{ème} lactation est une vache résistante (CRAPLET, THIBIER, 1973).

4-3-5- Stade de lactation

Le tarissement est souvent mal conduit et aboutit à une surtension du lait dans la mamelle qui favorise la pénétration des microbes venant de l'extérieur (CRAPLET, THIBIER, 1973). Plus la fréquence des troubles peri-partum est élevée dans un élevage et plus la fréquence des mammites cliniques est élevée ; Les vaches sont particulièrement sensibles aux infections mammaires en début de lactation (BAREILLE, SEEGER, 2004).

4-3-6 - Mode d'élevage et saison

Autrefois on parlait beaucoup de l'influence des saisons, mais en réalité il s'agit du mode d'élevage qui fait qu'en stabulation les vaches sont plus fréquemment souillées par le fumier et plus fréquemment blessées aux trayons (CRAPLET, THIBIER, 1973).

Il n'est pas rare de constater une plus grande fréquence d'infection en automne et en hiver, tout de même liée à la stabulation (CHARRON, 1989).

4-4 L'environnement

4-4-1- La traite

C'est la période la plus favorable à l'installation des germes, liée aux éléments suivants :

- La machine à traite est souvent accusée de provoquer des mammites, notamment au début de l'usage de la traite mécanique, en raison d'un mauvais réglage ou d'une qualité médiocre de la machine. Une machine mal nettoyée intervient en tant que vecteur d'agents pathogènes et réservoir de germes lorsque l'hygiène et l'entretien sont négligés.

- La durée de la traite dépend surtout de la vache. Elle occasionne des traumatismes lorsqu'elle dépasse 10 à 15 % du temps de traite (CRAPLET, THIBIER, 1973).

La traite incomplète entraîne une mammite beaucoup plus tôt et beaucoup plus sévère qu'une traite à fond réalisée par un bon trayeur, d'où l'importance de l'égouttage (CRAPLET, THIBIER, 1973).

4-4-2 Lésions de la mamelle et du trayon

Les lésions du sphincter du trayon augmentent fortement le risque d'infection par des bactéries de l'environnement entre les traites.

Des lésions de la peau des trayons sont observées sous forme de verrues planes ou filiformes. Les maladies en cause sont la papillomatose et la pseudo variole (BAREILLE, LEMARCHAND, 2004).

4-4-3 Logement

La mauvaise orientation des bâtiments d'élevage favorise la dissémination des germes par mauvaise ventilation.

Des épisodes de mammite à forte prédominance de bactéries a réservoir d'environnement sont observées dans certains élevages en raison de la forte densité des animaux (BARREILLE, LEMARCHAND, 2004).

4-5 Le vacher

Le vacher peut diminuer dans une forte proportion l'apparition des mammites par la traite, les soins des lésions de la mamelle et des trayons et le diagnostic précoce des infections (CRAPLET, THIBIER, 1973).

4-6- Alimentation

On a constaté plus de mammites :

- Lors d'une sur alimentation en concentrés des vaches tarées avant le vêlage ;
- Si pendant la lactation, les fourrages contiennent une forte proportion d'ensilages de maïs ou une forte valeur énergétique ;
- Lors de déficit en sélénium et vitamine E (CARPLET, THIBIER, 1973).

4-4- Classification des mammites

4-4-1 -Classification en fonction des symptômes

4-4-1-1- Infection latente

Elle se caractérise par la présence de germes pathogène dans le lait mais la glande ne présente aucune réaction inflammatoire, ni altération visible de la sécrétion, ni signes cliniques. (HANZEN, LOUP CASTEIGNE, 2002).

4-4-1-2- Mammite sub-clinique

Elle ne présente aucun des signes cliniques : L'état général est parfaitement normal, la mamelle cliniquement saine et le lait ne présente aucune modification macroscopique. Par contre, l'examen cytologique du lait met en évidence une augmentation considérable du nombre de polynucléaires. De même, son analyse biochimique révèle la présence de modifications importantes de la composition du lait. Elle peut évoluer pendant très longtemps, parfois sur plusieurs lactations et aboutir à une fibrose plus ou moins importante des quartiers atteints : mammite clinique chronique. (HANZEN, LOUP CASTEIGNE, 2002).

4-4-1-3- Mammite clinique

Elle se traduit par une inflammation, visible à l'œil nu, de la glande mammaire (mamelle gonflée, chaude et douloureuse au toucher) et/ ou du lait (caillots, voire du sang) sans qu'il soit nécessaire de mettre en œuvre des examens complémentaires. (HANZEN, LOUP CASTEIGNE, 2002).

4-4-2- Classification en fonction de l'agent causal

Une nouvelle nomenclature permet de les classer en mammites d'environnement, mammites de tarissement, mammites de traite.

4-4-2-1- Mammites d'environnement

Les Principaux germes responsables sont : *Streptocoques agalactiae*, *streptococcus uberis*, *streptococcus dysgalactiae*, *streptococcus equinus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*.

Parmi les Gram - : *Escherichia Coli*, *Klebseilla*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Proteus spp* et *Citrobacter spp*.

Il y a d'autres germes d'environnement tels que *Actinomyces pyogènes*, *Bacillus spp*, les champignons et les levures (HANZEN, 2005).

4-4-2-2- Mammites de tarissement

Il y a peu de temps encore, on pensait que la mamelle au repos, c'est-à-dire pendant la période de tarissement n'était pas sujette aux infections.

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

4-4-2-3- Mammites de traite ou « mammites contagieuses »

Ces mammites sont imputables le plus souvent à *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae* et plus occasionnellement *Corynebacterium bovis* et aux Mycoplasmes.

L'infection est subclinique. Les manifestations cliniques sont le plus souvent imputables à une infection par les Mycoplasmes ou par *Staphylococcus aureus* (HANZEN, 2005).

4-5- Pathogénie

L'infection de la glande mammaire se produit toujours par le canal du trayon et l'apparition de l'inflammation après l'infection semble une suite naturelle.

Cependant l'apparition de la mammite est plus complexe ;

Invasion → infection → inflammation (BLOOD, HANDERSON, 1976).

- Le stade d'invasion est celui au cours duquel les germes passent de l'extérieur dans le lait du canal du trayon.

-L'infection est le stade durant lequel les germes se multiplient rapidement et envahissent le tissu glandulaire, ce qui conduit à une augmentation de la numération cellulaire dans le lait (afflux des leucocytes), caractéristique de la mammite sub-clinique.

-Enfin, le stade d'inflammation est celui où la mammite clinique se manifeste par les signes classiques de l'inflammation (chaleur, douleur, tuméfaction et rougeur).

4-5-1 Mammites à coliformes

Les coliformes sont essentiellement responsables de mammites cliniques au début et en fin de tarissement dont *Escherichia Coli* en particulier qui a été mise en évidence. Elles possèdent une résistance aux bactéricides du sérum (BLOOD, HANDERSON, 1976)

E. coli est une bactérie qui produit des toxines puissantes ; il y a également production d'une tuméfaction aigue avec fièvre à 41-42° ; le lait est remplacé par un liquide séreux avec des flocons et des caillots conduisant à la réforme de la vache.

Tous ces signes cliniques disparaissent en 48 à 96 heures.

La lésion principale est une modification de la perméabilité vasculaire qui serait à l'origine d'une véritable réaction allergique (BLOOD, HANDERSON, 1976).

Il est probable que les variations de gravité des cas cliniques sont dues soit aux variations de l'intensité de l'invasion tissulaire et de la production de toxines des diverses souches, soit à une sensibilité mammaire particulière.

4-5-2- Mammites streptococciques

Après franchissement naturel ou artificiel du sphincter du trayon, une bonne partie des bactéries qui ont pu s'introduire sont rejetées au-dehors par l'acte de la mulction.

Cependant chez de nombreuses vaches, les bactéries prolifèrent et arrivent à envahir le tissu glandulaire.

Après introduction de l'infection dans le trayon, l'invasion, si elle se produit, demande 1 à 4 jours et le début de l'inflammation survient 3 à 5 jours après (BLOOD, HANDERSON, 1976).

- L'installation d'une mammitte à *Streptococcus agalactie* apparaît comme une succession de crises constituant le processus d'invasion et d'inflammation de différents lobules de la glande.

- D'abord la multiplication des bactéries est rapide dans les canalicules lactifères puis les germes passent au travers des parois de ces vaisseaux pour gagner les voies lymphatiques et le ganglion rétro mammaire ; ainsi il ya un afflux de neutrophiles dans le lait. La fibrose du tissu inter acinaire et l'involution des acini glandulaires en résultent, même si l'invasion bactérienne est stoppée rapidement. Ultérieurement, des crises identiques se succèdent et de plus en plus de lobules mammaires sont atteints de la même façon, provoquant ainsi une chute de production laitière associée à une fibrose progressive, aboutissant parfois à l'atrophie du quartier atteint (BLOOD, HANDERSON, 1976).

-A la deuxième infection mammaire, la réponse sera plus rapide, plus forte, plus durable et souvent plus efficace que la première fois grâce à la réponse mémoire. La réponse immunitaire acquise est principalement méditée par (BLOOD, HANDERSON, 1976) :

- Les anticorps.
- Les macrophages.
- Les lymphocytes.

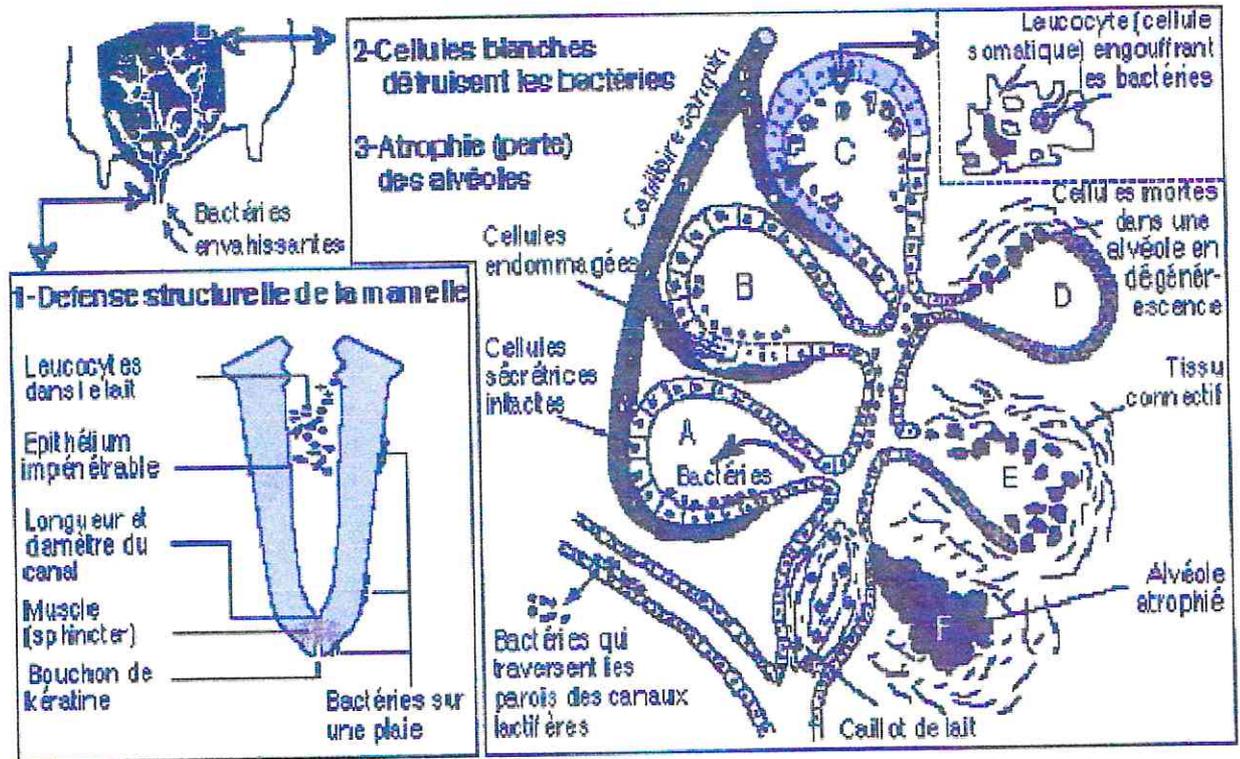


Schéma 3. Différents stades de l'inflammation (WATTIAUX, 1999)

4-5-3 Mammites staphylococciques

La mammite due à *Staphylococcus aureus* est plus connue chez la vache laitière ; cette bactérie constitue la principale cause des mammites sub-cliniques (80%) et des cas cliniques (20%) (BLOOD, HANDERSON, 1976).

Les mammites staphylococciques semblent en relation avec la quantité d'inoculum et la période de lactation au moment de l'infection ; celle-ci survenant au début de la lactation donne souvent des formes suraiguës, avec gangrène de la mamelle.

Au cours de la période de tarissement, les infections nouvelles induisent, d'emblée, des formes chroniques ou aiguës.

-La pathogénie des mammites staphylococciques aiguës chroniques de la vache est la même, la différence ne résidant que dans une question de degré de l'atteinte tissulaire.

La mammite staphylococcique chronique peut être convertie en forme suraiguë et gangreneuse, d'où l'apparition d'une neutropénie expérimentale (BLOOD, HANDERSON, 1976).

4-6-Diagnostic

4-6-1-Mammites cliniques

Le diagnostic repose sur la mise en évidence des symptômes caractéristiques de l'inflammation de la mamelle : douleur, chaleur, rougeur, augmentation du volume des différents quartiers (ROSENBERG ,1979).

4-6-2-Mammites sub-cliniques

Il repose d'une manière générale sur la mise en évidence des modifications cytologiques, chimiques et bactériologiques de l'état inflammatoire de la mamelle (NIELEN, FERTIER, 1992).

4-6-2-1 Dénombrement des cellules du lait

4-6-2-1-1- Méthodes indirectes

a.-Le californien Mastitis Test (CMT) : Encore appelé Schalm test (SCHALM, NOOLANDER, 1957), ce test est d'emploi facile, économique et efficace.

• Principe du test

Il repose sur le mélange à parties égales d'un agent tensio-actif (solution de Na-teepol) et de lait et provoque la lyse des cellules et la libération de l'ADN formant un réseau qui enrobe les globules gras, la caséine et d'autres particules. Plus les cellules sont nombreuses, plus le mélange lait réactif prend l'aspect d'un flocculat visqueux et épais.

-Un indicateur de PH coloré (pompe de bromocresol) additionné au teepol facilite la lecture de la réaction. Quand le PH est de 6,2 à 7, la couleur vire au bleu-violet (FISCHER, 1991).

•Réalisation du test

Après lavage, essuyage et extraction des premiers jets de lait, l'opérateur recueille 2ml de lait de chaque quartier sur les quatre coupelles d'un plateau auquel il ajoute 2ml de teepol à 10%. Le mélange doit se faire par un mouvement de rotation du plateau dans un plan horizontal. La lecture doit être immédiate (FISHER, 1991).

b.- Le test de la catalase

Ce test repose sur l'induction de l'apparition d'oxygène par action de la catalase des leucocytes et des bactéries du lait sur le peroxyde d'hydrogène ; la formation de 20, 30 et 40 % de gaz correspond respectivement à la présence de 500×10^3 , 10^6 et $2 \text{ à } 3 \times 10^6$

Cellules /ml de lait. Cette méthode nécessite 3 heures de temps et un matériel assez coûteux ; la formation de gaz s'accroît après 24 heures de conservation (NIELEN, FERTIER, 1992).

4-6-2-1-2- Méthodes directes

- Le comptage direct au microscope

C'est une méthode directe de « PRESCOT et BREED », basée sur le comptage au microscope de 0,01 ml de lait, coloré au bleu de méthylène et étalé sur une lame en verre de 1cm (LE FOLP, 1990). Cette méthode a été délaissée au profit des méthodes automatisées qui sont beaucoup plus rapides tel que le comptage électronique ((BADINAND, 1994).

-Le comptage par le couler – conter

Il s'agit d'une méthode électronique reposant sur la modification du champ électrique créée par le passage de cellules au travers d'un orifice calibré situé à l'extrémité d'une sonde. Cette méthode économique et rapide permet l'analyse de 100 échantillons par minute (LE RAY, 1999).

-Le système fossomatic

Cette méthode repose sur le comptage des noyaux cellulaires rendus fluorescents par l'utilisation d'un colorant, le bromure d'ethidium qui se fixe électivement sur l'ADN. Cette méthode permet l'analyse de 180 prélèvements par heure (FISHER, 1991).

4-6-2-2- Diagnostic bactériologique

Seul l'examen bactériologique permet l'isolement et l'identification de la bactérie responsable de la mammite et la détermination de leur sensibilité aux divers antibiotiques.

Cet examen nécessite du temps et une technicité rigoureuse ; il est utilisé :

- pour isoler et identifier les agents bactériens ou mycosiques, responsables de mammites cliniques ou subcliniques.
- pour confirmer une hypothèse de diagnostic.
- à des fins d'enquêtes épidémiologiques ou d'évaluation de l'efficacité d'un médicament.

Les tests et analyses sont appliqués sur des échantillons de lait correctement prélevés. Les prélèvements doivent donc s'effectuer dans des conditions aussi aseptiques que possible. La méthodologie est décrite dans la partie expérimentale.

4-6-2-3- Diagnostic par mesure de la conductivité électrique

Des études ont montré que le développement d'une mammite subclinique va de pair avec une augmentation de la salinité (concentration en ions Na et Cl) du lait, entraînant une diminution immédiate de la résistance électrique. La mesure « on-line » (en continu) de la conductivité électrique du lait est une méthode rapide, non contraignante pour les trayeurs. Elle peut s'effectuer soit sur le lait de mélange des quatre quartiers soit quartier par quartier.

La conductivité du lait de vache varie en fonction de l'état de santé et de l'état physiologique des vaches. Il y a aussi des effets « race » et même des effets « troupeau ».

Elle est en général comprise entre 4 et 5,5 milli-Siemens /cm (BILLON *et al.*, 2001).

4-6-2-4- Diagnostic immunologique

- Tests immuno-enzymatique (ELISA)

Ils permettent la mise en évidence soit des antigènes soit des anticorps IgG surtout. Le complexe antigène-anticorps est révélé par une réaction enzymatique colorée, quantitativement mesurable. Il s'agit de tests automatisables qui permettent de réaliser des diagnostics sur un petit nombre d'échantillons ou sur de grandes séries (SARRADIN, 1991).

- Test de l'anneau (Cream Rising Test)

Il consiste en la mise en évidence du réseau Globules gras-Anticorps. Les IgA et IgM sécrétés localement lors d'une infection, se fixent à la surface des globules gras. Les bactéries préalablement colorées et mélangées au lait, sont reconnues par ces anticorps et constituent avec les globules gras un réseau qui remonte avec la crème formant un anneau coloré, d'où le nom de Cream Ring Test. Cette méthode est envisageable pour les infections à *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae* (SANDHOLM, 2005).

- Test au latex

La mise en présence de billes de latex (éventuellement colorées et sur lesquelles sont fixés soit des antigènes soit des anticorps) avec le lait (contenant les anticorps ou les antigènes correspondants) entraîne une agglutination visible à l'œil nu (NIELEN, FERTIER, 1992)

4-6-2-5- Diagnostic biochimique

Globalement, lors d'épisodes de mammites, on observe (LE ROUXY, 1999) (Tableau 4).

- Une augmentation de la teneur en protéines solubles (immunoglobulines) ;
- Une augmentation de la teneur en chlorures ;
- Une augmentation du pH ;
- Une diminution du pourcentage de caséines ;
- Une augmentation des activités enzymatiques protéolytiques et lipolytiques.

Tableau 6 : Evolution des différents paramètres de composition du lait mesurés sur des laits de quartier (LE ROUXY, 1999).

Numération cellulaire du lait	Protéines solubles (g/l)	%de caséines	pH	Chlorures (g/l)	Temps de coagulation (min)
< 100 000 / ml	6,9	79,7	6,58	1,33	22,4
>100 000 et <300 000 /ml	8,0	77,5	6,58	1,59	34,1
>300 000 et <600 000 /ml	8,6	76,2	6,63	1,73	36,6
>600 000 /ml	9,3	72,4	6,75	1,88	54,1

4-7- EPIDEMOLOGIE

4-7-1- Facteurs liés a l'animal

*** Morphologie de la mamelle**

Elle doit permettre de limiter les contaminations et les blessures du trayon et être adaptée à la traite mécanique (SERIEYS, 1997). La mamelle doit donc être haute ; idéalement, elle ne doit pas dépasser les jarrets, avec des trayons courts et coniques, symétriquement implantés, et des quartiers d'égal volume afin d'éviter une sur- traite sur l'un ou plusieurs d'entre eux

***Stade de lactation**

L'incidence des mammites est maximale pendant les deux premiers mois qui suivent le vêlage où la contamination est souvent d'origine environnementale. Les primipares sont infectées pendant le premier mois, surtout avec des bactéries du genre *Staphylococcus* et *Streptococcus*. Après ces deux premiers mois, l'incidence des mammites dues à des bactéries à réservoir environnementale diminue au profit de celle dues aux autres espèces de bactéries. Pendant la période sèche, l'incidence des mammites est maximale pendant les trois premières semaines et pendant les quinze jours précédant le vêlage.

***Nombre de lactation**

L'augmentation des concentrations cellulaires du lait et de l'incidence des mammites avec le nombre de lactation est due à la répétition des infections au cours des lactations successives (BODDIE et al., 2002). La morphologie de la mamelle s'éloignant des canons de la mamelle idéale, le sphincter du trayon perdant de son élasticité, tout cela fait que chez les vaches âgées l'incidence des mammites augmente.

4-7-2 Facteurs liés à l'agent causal

De la bactéries responsable de l'infection vont dépendre l'intensité des symptômes et la persistance de l'infection.

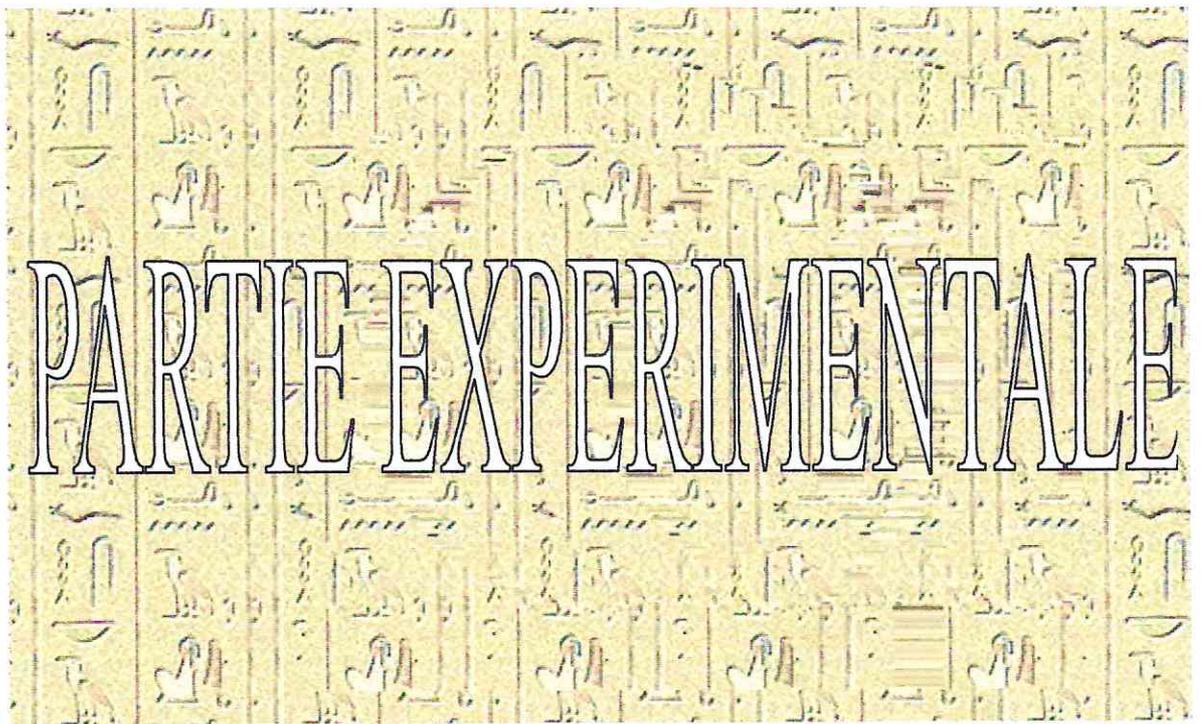
Les mammites à staphylocoques forment des micro-abcès dans le parenchyme mammaire ou restent en latence dans les macrophages, ce qui les rend inaccessibles à la plupart des antibiotiques. Ces bactéries sont souvent responsables de mammite pendant toute la lactation de l'animal (BARONER, 1990).

Les mammites à entérobactéries, généralement de courte durée et en début de lactation, seraient due à *Escherichia coli* (HOVE et al., 2002).

4-7-3- Facteurs liés au logement

Le logement de la vache laitière agit selon deux grandes modalités (CHAFFAUX, STEFFAN, 1985) :

- La fréquence des traumatismes des trayons et leur effet sur les mammites de l'environnement donc sur le facteur comptage cellulaire élevé.
- La pollution du trayon dépend de la pression microbienne, et en particulier celle du couchage et de l'ambiance, avec répercussion directe sur les mammites d'environnement.



La contamination des mamelles par les germes d'environnement se fait principalement lors du couchage sur des laitières souillées, ces germes pouvant pénétrer entre les traites. Ils peuvent persister jusqu' à la traite sur le trayon souillé et être inoculé si la technique de traite n'est pas satisfaisante.

4-7-4- Facteurs liés à la traite

La technique de traite et le fonctionnement de la machine à traire peuvent favoriser les infections mammaires par deux mécanismes : les traumatismes du trayon et les reflux de lait (HANZEN, 2000).

Les traumatismes du trayon affaiblissent son rôle de barrière naturelle vis-à-vis de la pression microbienne environnante. Un niveau de vide excessif, une pulsation défectueuse, une durée de traite longue (sur traite, arrachage des griffes) sont à incriminer.

Le phénomène d'impact est généré par les entrées d'air ponctuelles à la collerette du manchon et va permettre à des germes d'être projetés vers les trayons. Les phénomènes de traite humide peuvent être dus à des problèmes de pulsation ou surtout de mauvaise évacuation du lait (HANZEN, 2000).

Les opérations de traite conditionnent aussi la qualité du lait et la santé de la mamelle : le trayeur devrait systématiquement se laver les mains en début de traite.

Les lavettes doivent tremper dans une eau tiède, propre, additionnée d'un savon. L'eau de javel est à proscrire : à forte concentration elle irrite les trayons, à faible concentration elle est inutile. La seule solution efficace et satisfaisante pour que ce lavage aboutisse à une augmentation de la propreté des trayons est l'utilisation d'une lavette par vache.

Les primipares et les vaches en début de lactation devraient être traitées en premier (on suppose qu'elles ne sont pas infectées) et les vaches atteintes de mammites cliniques ou sub-cliniques, en dernier ou bénéficier d'un poste de traite qui leur serait réservé.

4-7-5 Facteurs liés à l'alimentation

L'alimentation des vaches hautement productives augmente le stress sur le pis et peut entraîner la manifestation de la maladie chez les animaux infectés et ainsi, réduire la production laitière. Les problèmes de santé lors de la mise bas, particulièrement ceux qui causent le syndrome de la vache couchée, augmentent les risques de mammites (HANZEN, 2000).

- Certains minéraux et vitamines jouent un rôle important dans la résistance aux infections. Le rôle du sélénium semble plus important dans le cas des mammites sub-cliniques, des teneurs élevées d'autres éléments comme l'iode, réduisent la résistance aux infections (GIRODON, 2001).

-Le cuivre et le cobalt ont été régulièrement constatés dans les troupeaux laitiers à forte incidence de mammites (MEISSONIER *et al.*, 1992).

4-8- Traitement des mammites

4-8-1- Traitement des mammites cliniques (Antibiothérapie)

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

Rapidement : Le plus tôt possible afin d'éviter l'extension de l'inflammation et de l'infection.

Massivement : Pour éviter d'avoir des doses inférieures aux concentrations minimales inhibitrices des germes présents dans la mamelle et ainsi créer des phénomènes de résistance.

De façon prolongée : En lactation, il est indispensable des respecter le protocole proposé par le fabricant (le plus souvent, trois traitement consécutifs).

IL ne faut pas interrompre le traitement lors de la disparition des signes cliniques sous peine d'échec thérapeutique (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

- Choix de l'antibiotique

L'antibiotique utilisé varie en fonction du type de germes supposé à l'origine de la mammite (Gram⁺ ou Gram-), de la gravité de la mammite (suraiguë, aigue, chronique ou sub-clinique) et de la voie d'administration utilisée (tableau 8), (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

Tableau 7 : Critères de choix d'un antibiotique, (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

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

- Voie d'administration

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

La première voie doit toujours être accompagnée d'un traitement local. L'avantage de cette voie est de permettre une bonne diffusion des antibiotiques dans toute la mamelle et pour tous les cas de mammites afin de prévenir une généralisation de l'infection.

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

Il existe d'autres traitements qui sont complémentaires telles que la traite répétée, l'application de pommades décongestionnante, la corticothérapie ou la calcithérapie.

L'efficacité de la vaccinothérapie et l'antigénotherapie est très controversée.

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



Fig 1. Voie d'administration des antibiotiques par voie galactophore (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

4-8-2- Traitement des mammites sub-cliniques

L'utilisation d'antibiotiques n'est pas recommandée dans le cas de mammites sub-cliniques (nombre élevé de cellules somatiques dans le lait) car le taux de réussite du traitement est très faible : en général, le traitement aux antibiotiques est inefficace pendant la lactation.

Par contre le traitement au tarissement est très efficace pour guérir de nombreuses mammites sub-cliniques (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

4-9- Prophylaxie medico- sanitaire

4-9-1- Traitement au tarissement

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

Avec les médicaments actuels, on obtient un pourcentage de guérison de 70 à 80% en moyenne ; le risque de nouvelle infection pendant la période sèche se trouve réduit de moitié environ dans les quartiers traités.

D'une manière générale, il est recommandé de réaliser un traitement systématique, de façon à ce que toutes les vaches bénéficient d'une protection en début de la période sèche.

Dans le cas particulier où les risques de nouvelles infections pendant la période sèche apparaissent très faibles, on peut se limiter aux traitements des seules vaches infectées. Le renouvellement du traitement au milieu de la période sèche ne permet guère d'augmenter le taux de guérison (BORNOT- BABOUILARD, 1994).

4-9-2- La vaccination

La mise au point de vaccins efficaces est difficile de part la diversité des souches bactériennes, par conséquent les antigènes appropriés d'une part et l'insuffisance des connaissances relatives aux mécanismes immunitaires de la mamelle d'autre part (RAINARD, POUTREL, 1991).

4-9-3- La prévention des mammites

Les mesures de prévention sont basées sur l'hygiène dans la technique d'élevage :

- Entretien régulier de l'installation de la machine à traire et contrôle annuel de celle-ci par un technicien spécialisé.
- Lavage et essuyage des trayons avec lavette individuelle ou par un système douchette serviette papier, ou encore pré trempage et essuyage des trayons avec un produit réservé à cet usage.
- Désinfection des trayons après la traite.
- Technique de traite non traumatisante pour les trayons et non génératrice de phénomènes de retour de lait.
- Respect des normes de densité animale et d'ambiance dans le bâtiment.
- Entretien des aires de couchage et de promenade des vaches qu'elles soient en lactation, tarées ou parturientes.
- Traitement systématique au moment du tarissement pour limiter les nouvelles infections pendant la période sèche.
- Réduction du stress qui passe notamment par des bâtiments confortables, une bonne ventilation (RODENBURG J, 2001).

Tableau 8 : Principales mesures du plan de lutte contre les mammites et leurs actions sur ces infections (SERIEYS ,1991).

Mesures de lutte	Mode d'action		Période d'action		Infections concernées	
	Prévention	Guérison	Lactation	Période sèche	Réservoir mammaire	Réservoirs de l'environnement
Contrôle de la machine à traire	OUI	NON	OUI	NON ⁽¹⁾	OUI	OUI
Lavage des trayons	OUI	NON	OUI	NON	NON ⁽³⁾	OUI
Opération de traite	OUI	NON	OUI	NON ⁽¹⁾	OUI	OUI
Désinfection des trayons avant la traite	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON ⁽⁴⁾
Hygiène du logement	OUI	NON	OUI	OUI	NON ⁽²⁾	OUI
Traitement au tarissement	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	OUI ⁽⁵⁾
Traitement en lactation	NON	OUI	OUI	NON	OUI	OUI
Réforme des incurables	NON	OUI	OUI	NON	OUI	NON

(1) Sauf si les défenses des trayons étaient altérées à l'occasion de la traite.

(2) Sauf si les conditions de logement favorisaient les blessures des trayons.

(3) Effet limité.

(4) Effet limité sur *S.uberis*.

(5) Activité sur les colibacilles avec les produits à effet barrières selon le spectre du médicament et sa persistance.

PARTIE EXPERIMENTALE

I-MATERIELS ET METHODES

1-OBJECTIFS

Pour notre expérimentation, nous nous sommes assignés trois objectifs :

- 1-Le dépistage des animaux atteints de mammites sub-cliniques par l'intermédiaire du teepol test NK ou CMT (California mastitis test) sur un élevage important, au niveau d'une ferme.
- 2-La recherche, l'isolement et l'identification des différentes espèces bactériennes notamment *Staphylocoque* spp., *Streptocoque* spp., *Escherichia Coli*, *Klebsilla* et *Pseudomonas*
- 3- L'étude du profil électrophoretique du lait mammitiqueux.

2- Conditions expérimentale

2-1-Lieu d'expérimentation

Notre étude a été réalisée au niveau de l'exploitation de Sidi yahia-Chiffa dans la wilaya de Blida, région à vocation agricole disposant d'un climat type méditerranéen avec un accès suffisant en eau ; son système fourrager est constitué de 12 hectares de surface cultivable, utilisée partiellement pour la culture du trèfle et du sorgho. A proximité de l'élevage se trouvent plusieurs poulaillers à une distance de séparation réglementaire inférieure à celle imposée par le Ministère de l'agriculture. Ceci peut être préjudiciable à l'exploitation car cette réglementation permet de prévenir les risques de transmission d'agents infectieux d'une exploitation à une autre.

Notre choix s'est porté sur cet élevage car c'est une grande exploitation assez bien entretenue comme il en existe de plus en plus dans notre pays et qui, par conséquent, prendront une place de plus en plus importante dans la production nationale de lait et de viande.

L'expérimentation a été suivie durant une période de 6 mois afin de :

- * déterminer le taux de mammites sub-cliniques touchant le cheptel
- * relever l'évolution des mammites sub-cliniques dans le temps
- * souligner l'effet de cette pathologie sur la qualité bactériologique et alimentaire du lait
- * mettre en évidence des facteurs pouvant influencer sur la proportion de cette infection.

2-2-Matériel biologique

C'est le lait issu d'une exploitation dont les caractéristiques ressortent dans le tableau 9, c'est un élevage important : le nombre de vaches laitières dépasse largement la soixantaine alors que le nombre total de têtes de bovin est supérieure à 200.

Il semble, à priori, que la gestion de l'élevage est assez sérieuse ; les contrôles que nous allons faire nous permettront de le vérifier.

Le tableau 10, par contre, montre une hygiène du logement et des vaches médiocre.

Tableau 9 : Informations générales sur le type d'élevage et sa gestion globale.

		Exploitation
Nombre d'animaux	Vaches laitières	83
	Vaches en tarissement	94
	Veau	32
	Total	219
Nombre d'employés travaillant dans la gestion de l'élevage		10
Nature de l'aire d'exercice		Terre nue
Type de stabulation		Semi-entravé
Mode de traite		Chario-trayeur
Nombre de traite		2 fois/jour
Gestion de la distribution alimentaire	Vaches en lactation	Aliment* : 3kg, 2 fois/jour Trèfle : 4kg, 2fois/jour
	Vaches en gestation	Aliment* : 3kg, 2 fois/jour Paille : 5kg, 2 fois/jour
	Vaches en tarissement	Aliment* : 4kg, 2 fois/jour Paille : 3kg, 2 fois/jour
	Veaux	Aliment* : 2 à 3 kg (selon l'âge) 2 fois par jour Paille : 3 fois/jour
Déparasitage	Vaches en lactation	Vermicile : tous les 3 mois, (rappel : 15 jours)
	Vaches en tarissement	Une dose d'Ivermectine
	Vaches en gestation	Albendazole : 1 fois avant vêlage et une fois 15 jours après
	Veaux	Une dose d' Ivermectine tous les 6 mois Une dose d'Albendazole tous les mois
Hygiène	Etable	Désinfection 1 fois/semaine avec méfestaux (insecticide, bactéricide)
	Mamelle	Lavage de la mamelle avant et après la traite avec biocide (désinfectant)
	Chariot trayeur	Désinfection 1 fois/jour avec Profil et lavage avec savon et eau de javel 2 fois/jour

*Composition de l'aliment : voir tableaux 16 et 17 page 66.

Tableau 10 : Données relatives à la propreté des vaches et à l'hygiène du logement

Ambiance du bâtiment	
Odeur d'ammoniac	+
Humidité et ou moisissures sur les parois ou le plafond	+ (par temps humide)
Traces de condensation (bois noirâtre, poutre rouillée)	+
Zone non occupée par les vaches	-
Epaisseur de la litière	Moins de 5 centimètres
fréquence de changement de la litière	2 fois/jour
Propreté de l'eau d'abreuvement	
Origine de l'eau d'abreuvement	Adduction
Les abreuvoirs sont ils propres ?	Oui
Propreté des vaches	
Poils des animaux humides et souillés par les excréments	+
Présence sur la mamelle de lésions et souillures d'excréments	+

3-1- Prélèvement

Les échantillons de lait utilisés dans le cadre de notre travail proviennent du lait de vaches laitières de différentes races ne présentant aucun signe d'atteinte clinique de la mamelle. Chaque quartier a été échantillonné individuellement.

Ces prélèvements ont été réalisés moins de 30 minutes avant la traite de l'après midi afin d'éviter une importante perte de lait due à une traite partielle des animaux après laquelle le lait continue à s'écouler.

3-2- Source des informations

Les informations relatives aux techniques d'élevage, à la gestion globale et à la fiche d'identification de chaque vache ont été recueillies par une enquête sur le terrain et des questionnaires que nous avons faits remplir par l'éleveur ; celles concernant la pratique de la traite ont été obtenues par un suivie des étapes de la traite alors que nous n'avons pas recueilli les informations relatives aux antécédents pathologiques et aux traitements appliqués du fait que les problèmes médicaux des animaux sont souvent diagnostiqués et traités par l'éleveur lui-même ce qui rend ces informations peu fiables.

3-3- Dépistage des mammites sub-cliniques : Nous avons appliqué plusieurs tests

3-3-1-L'épreuve de CMT : C'est une méthode de référence qui reste la plus conviviale et pratique sur le terrain (ANONYME, 1995 ; GHOURI, 2005 ; MEKADEMI, 2006).

a- Matériels

- *Eau javellisée.
- *Récipient noir.
- *lavette individuelle pour le lavage de la mamelle.
- *Serviettes individuelles pour le séchage des mamelles.
- *Mastitis test NK.
- *Plateau en matière plastique à quatre coupelles (4 puits).

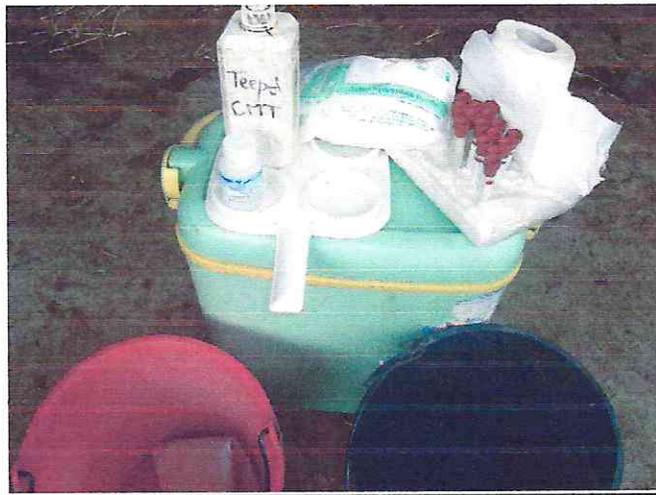


Photo 1 Matériels pour le test CMT

b- Méthodologie

- *Nettoyage des mains avec de l'eau de javel.
- *Nettoyage de toute la surface des mamelles avec de l'eau javellisée tiède en insistant particulièrement sur les trayons et surtout leur extrémité souvent souillée par les excréments.
- *Séchage complète des mamelles avec les lavettes individuelles pour éviter l'écoulement de l'eau qui peut souiller les échantillons.



Photo 2 De gauche à droite ; nettoyage des mains, nettoyage de la mamelle et séchage

- *Elimination des premiers jets dans un récipient noir contenant un désinfectant du fait qu'ils

peuvent contenir des grumeaux, signe d'une mammité.

*Récupération de 2 ml de lait de chaque trayon dans chacune des coupelles puis addition de 2 ml de réactif de Mastitis test NK.

*Mélange des deux liquides par un mouvement de rotation du plateau dans un plan horizontal.

*Lecture au bout de deux minutes.



Photo 3 De gauche à droite ; élimination des premiers jets, récupération de 2ml de lait dans chaque coupelle puis addition de 2 ml de teepol test

c- Interprétation des résultats

Une réaction positive est caractérisée par la formation d'un gel dont l'épaisseur témoigne du degré d'atteinte de la mamelle : les mammites sont classées selon la gravité en trois degrés qui sont 1, 2, 3.

Dans notre étude, nous n'avons pas tenu compte de ces degrés : les prélèvements ont été réalisés sur des mammites quel que soit le degré d'atteinte ; notre but était de déterminer l'agent causal et les effets sur la qualité du lait. (MEKADEMI, 2006)

3-3-2-Autres moyens de dépistage

Pendant notre expérimentation, nous avons appliqué d'autres tests pour le dépistage des mammites en parallèle de l'épreuve CMT qui reste, cependant, la méthode de référence.

C'est ainsi que nous avons utilisé deux tests complémentaires :

a- Le papier PH : Il est constitué de quatre cercles avec un indicateur de pH qui correspond aux quatre quartiers de la mamelle, de couleur jaune à l'origine et qui virent au bleu lorsque l'animal présente une mammité.

C'est un test disponible à la vente dans les pharmacies de produits vétérinaires ; nous avons donc voulu le tester du point de vue fiabilité et facilité d'emploi.

En application, ce test s'est avéré facile d'emploi et très concluant en ce qui concerne les mammites fortement positives ; par contre, pour les mammites de stade 1, nous avons obtenu des résultats intermédiaires : l'indicateur de PH prend une couleur verdâtre alors que parallèlement, pour ces résultats intermédiaires, le test CMT est positif pour certains et négatif pour d'autres. En conclusion, ce test ne permet pas de dépister les mammites de premier stade.



Photo 4 Papier PH pour le diagnostic des mammites

b- Le Test de conductivité électrique : Comme son nom l'indique, c'est un appareil qui comprend une coupelle avec deux électrodes au fond où le lait est disposé ; il permet de calculer le taux butyreux et de dépister les mammites cliniques et sub-cliniques selon la concentration en NaCl du lait. Celui-ci augmente en cas d'altération de la glande mammaire. En pratique, cet appareil peut s'avérer très utile pour l'éleveur car il permet une lecture instantanée et claire du taux butyreux et de la présence ou l'absence de mammites, mais pour les mammites sub-cliniques, nous avons remarqué un certain nombre de « faux positif » car l'origine du NaCl peut être divers et ne traduit pas toujours une mammité. Ce test est souvent utilisé au niveau de la ferme, siège de notre expérimentation. (BILLON et *al.*, 2001).

Les étapes préliminaires qui sont le nettoyage et le séchage de la mamelle ainsi que l'élimination des premiers jets demeurent les mêmes pour tous les tests disponibles à la vente.

3-4- Méthode de prélèvement : Celui-ci, étant à la base de l'obtention de résultats justes et représentatifs, doit être effectué avec soin (MEKADEMI, 2006 ; GHOURI, 2005).

3-4-1- Matériel

- *Coton.
- *Alcool à 70°C.
- *Flacon stérile type Vacutainer d'une contenance de 5 ml.
- *Glacière.
- *Fiche commémorative sur chaque prélèvement.

3-4-2- Méthodologie

- *Désinfecter l'extrémité de chaque trayon avec du coton imbibé d'alcool à 70°C pendant 10 à 20 secondes.
- *Remplir aux trois quarts deux flacons stériles pour chaque quartier infecté ; les flacons

doivent être ouverts au dernier moment et inclinés à 45°, la partie antérieure du bouchon en position inférieure.

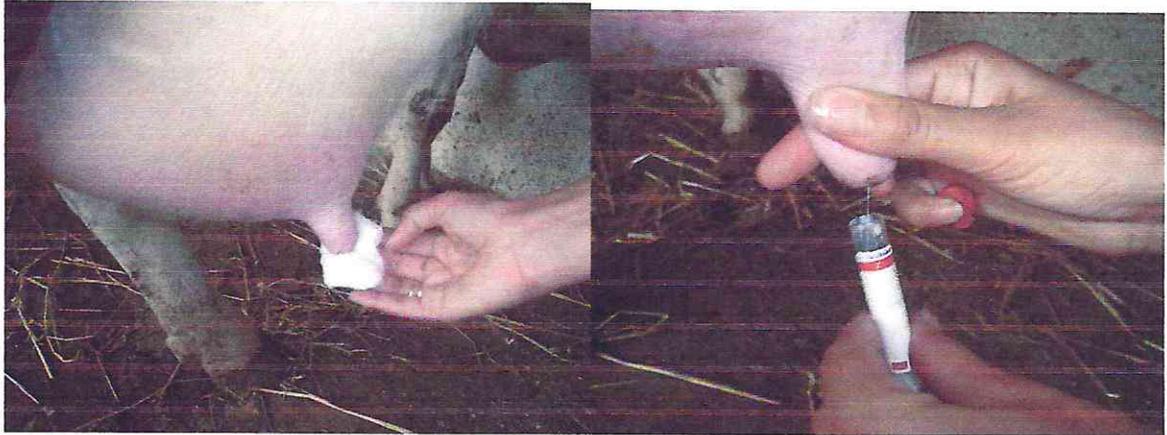


Photo 5 Désinfection de l'extrémité du trayon et remplissage du flacon stérile

*Remplir la fiche signalétique de chaque échantillon : date, numéro de matricule de chaque vache et position de chaque trayon (droit, gauche, supérieur ou inférieur).

Les deux prélèvements, correspondant à chaque quartier, sont destinés respectivement au laboratoire de biochimie pour l'extraction de la caséine avant électrophorèse, l'autre au laboratoire de microbiologie pour analyse bactériologique.

3-4-3-Conservation et acheminement

Juste après le remplissage de la fiche signalétique, les prélèvements sont immédiatement déposés dans une glacière.

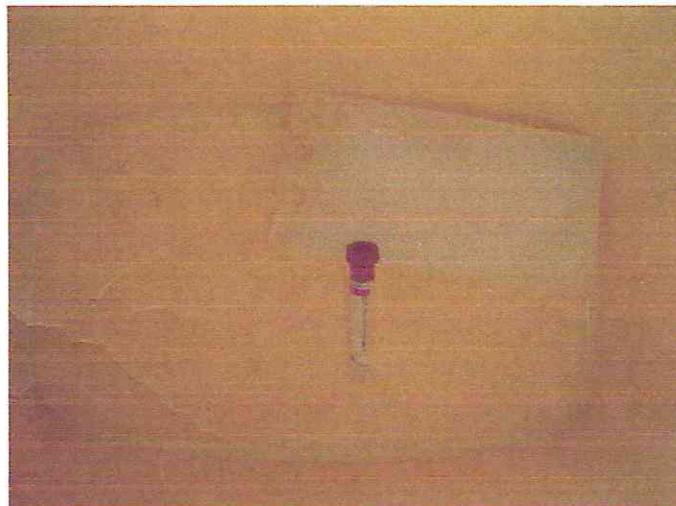


Photo 6 Entreposage et acheminement du ou des prélèvements dans une glacière

Ils sont réfrigérés à 2°C pendant 12-18 heures, le temps d'être acheminés vers les laboratoires où les analyses doivent débiter immédiatement.

3-5- Analyses bactériologiques.

3-5-1- Laboratoire d'analyse

Nous avons acheminé les prélèvements sous froid, dans une glacière, vers le laboratoire régional vétérinaire de Draa Ben Khedda, wilaya de Tizi-ouzou pour l'identification des espèces bactériennes responsables des mammites dépistées et la réalisation de l'antibiogramme pour chaque souche identifiée.

Nous avons appliqué tous les tests présentés ci après qui est la méthode de référence appliquée au niveau du laboratoire régional vétérinaire de Draa Ben Khedda.

3-5-2- Matériel et réactifs utilisés

a- Appareillage

- Etuve bactériologique
- Bain marie
- Agitateur magnétique
- Microscope photonique
- Réfrigérateur
- Autoclave
- Anses à ensemercer
- Portoirs
- Ecouillons
- Pipettes pasteur
- Pipettes graduées (1ml, 10ml)
- Tubes à essais
- Lames et lamelles
- Bec bunsen
- Boite de pétri
- Distributeur d'Antibiotiques

b-Matériel biologique

- Echantillons de lait prélevés pour analyse
- Souches ATCC

c- Milieux de culture

-Solides

- Gélose nutritive
- Gélose au sang de mouton
- Gélose Chapman
- Gélose Hektoen
- Citrate de simmons
- Milieu TSI
- Milieu mannitol mobilité

-Liquides

- Bouillon BHIB
- Chapman liquide
- Milieu urée indol
- Bouillon nitraté Clarks et Lubs

d- Réactifs et autres

- Plasma de lapin
- ADH, ODH, LCD, MOELLER témoin
- Disques Oxydase
- Disques ONPG
- Réactif de KOVACS et TDA
- Réactif VP1 et VP2
- Réactif NR1 et NR2
- Rouge de méthyle
- Huile de vaseline
- Eau oxygénée
- Violet de gentiane
- Lugol
- Alcool à 96°
- Fushine
- Eau physiologique
- Eau distillée stérile

3-5-3-Recherche des Entérobactéries

a- Enrichissement : Dépôt d'un ml de lait dans le bouillon BHIB et incubation à 37°C pendant 24 à 48 h.

b- Isolement :

Gélose Hektoen : Milieu d'isolement pour les bactéries Gram -.

Technique :

Ensemencement en épuisement d'une goutte de lait et incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Lecture

Colonies saumon	Colonies saumon à centre noir	Colonies bleu-vert à centre noir	Colonies bleu-vert ou vertes
<i>Escherichia</i> , <i>Levinea</i> , <i>Citrobacter diversus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Yersinia</i>	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Proteus vulgaris</i> ,	Suspicion de <i>Salmonella</i> , à différencier de <i>Proteus mirabilis</i>	Suspicion de <i>Shigella</i> ou de <i>Salmonella</i>

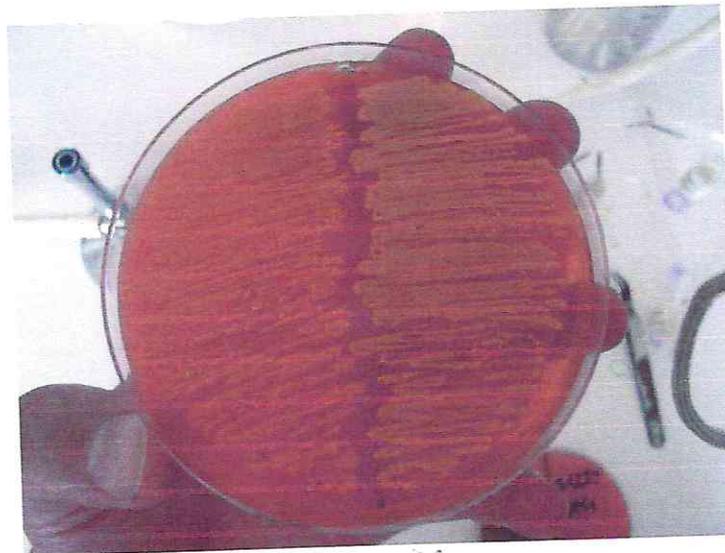


Photo 7 : Colonies d'*Escherichia coli* à droite et de *Klebsiella spp.* à gauche

c-Purification

Après incubation de 24 heures à 35°C, les colonies non identiques (différentes par la forme, la couleur, la taille, l'épaisseur ou l'odeur) seront ensemencées séparément dans des boîtes de pétrie avec le même milieu (Hektoen).

d-Identification

d-1-Caractères morphologiques

-Etat frais :

Une goutte de suspension bactérienne (fragment de colonies dans de l'eau physiologique) est déposée au centre d'une lame propre et recouverte par une lamelle en évitant de créer des bulles d'air ; l'observation se fait au microscope optique au grossissement $\times 40$ sur la base de la forme (bacille pour les Entérobactéries), la mobilité et le regroupement.

-Coloration de gram :

*frottis : Une goutte de suspension bactérienne est fixée à la chaleur

*Coloration avec le violet de gentiane pendant 2 à 3 minutes.

*Lavage à l'eau.

*Fixation de la coloration avec le lugol pendant 1 minute.

*Décoloration avec l'alcool pendant 30 secondes.

*Lavage à l'eau.

*Recoloration avec la fushine pendant 1 minute.

*Lavage à l'eau puis séchage du frottis.

Observation : appliquer une goutte d'huile d'immersion sur le frottis puis observer au microscope optique au grossissement $\times 100$.

Lecture: -Germe de couleur violette \rightarrow Gram+

- Germe de couleur rose \rightarrow Gram- (comme pour les Entérobactéries)

d-2-Caractères biochimiques :

* Recherche de l'oxydase :

_ Sur une lame propre, déposer un disque préalablement imprégné d'une goutte d'eau distillée stérile.

_ Prélever à l'aide d'une pipette pasteur une colonie bactérienne et la déposer sur le disque.

Lecture :- Le disque prend une couleur violette \rightarrow Oxydase+

- Pas de changement de couleur \rightarrow Oxydase- (comme pour les Entérobactéries).

* Recherche de la nitrate réductase :

Au bouillon de nitrate ensemencé et incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures, ajouter 4 gouttes

du réactif NR1 (acide sulfonique) et 4 gouttes du réactif NR2 (alpha-naphtylamine).

Lecture : Coloration rose du milieu (stable quelques secondes) → Nitrate réductase+

Pas de changement de couleur → Nitrate réductase-

* Etude de la fermentation des sucres :

Ensemencement en profondeur et en surface sur milieu TSI (pour tester le glucose, le saccharose, le lactose, H₂S et le gaz).

Lecture : virage au jaune d'une partie ou de la totalité du tube → fermentation du sucre correspondant à la partie jaunâtre du milieu.

Présence d'une poche de gaz → Gaz+

Présence d'une tache noire → H₂S+

* Recherche de l'uréase, la production d'indole et le TDA sur le milieu urée indole.

-Uréase

Déverser 0.5ml du milieu urée indole dans deux tubes stériles puis les ensemercer et les incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture : Virage au rouge violacé du milieu → Urée+

Pas de changement de couleur → Urée-

-Production d'indole

Dans un des deux tubes précédents, ajouter 4 à 5 gouttes de réactif Kovaks : la lecture est immédiate.

Lecture : Formation d'un anneau rouge en surface → Indole+

Pas d'anneau en surface → Indole-

-TDA

Dans le deuxième tube, ajouter 4 à 5 gouttes de TDA (perchlorure de fer officiel) ; lecture après quelques secondes.

Lecture : Virage de la couleur au brun rouge → TDA+

Virage de la couleur au jaune orangé → TDA-

*Epreuve de la β galactosidase (ONPG).

ONPG : Enzyme responsable de la dégradation du lactose en galactoside artificiel.

Dans un tube contenant environ 1 ml de suspension bactérienne (eau physiologique+colonie bactérienne), ajouter un disque d'ONPG et l'incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Lecture : Virage au jaune du milieu → ONPG+

Suspension reste transparente → ONPG-

* Etude du catabolisme des acides aminés : Milieu moeller ADH, LDC, ODC :

ADH : Arginine di hydrolase.

LDC : Lysine de carboxylase.

ODC : Ornithine de carboxylase.

_Prendre trois tubes à essais contenant chacun un des produits précédemment cités et un quatrième contenant le milieu moeller témoin ; ces quatre milieux sont de couleur violette.

_Ensemencer ces quatre tubes et ajouter quelques gouttes d'huile de vaseline pour créer une anaérobiose relative puis incuber à 37°C pendant 4 jours

Lecture : Elle se fait quotidiennement pendant quatre jours :

Premier et deuxième jour : tous les tubes virent au jaune (due à la dégradation du glucose présent dans le milieu)

Troisième et quatrième jour : Les milieux ADH, LDC, ODC redeviennent violet → réaction+
Les milieux restent jaunes → réaction-

*Recherche de l'utilisation du citrate de simmons comme seule source de carbone :

Le milieu est présenté sous forme de gélose inclinée verte. La pente estensemencée par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Il est important de ne pas apporter de substrats carbonés autres que celui présent dans le milieu.

Ne pas visser le bouchon à fond afin de permettre les échanges gazeux (en particulier élimination du dioxyde de carbone). Mettre à l'étuve 24 heures à 37°C.

Lecture :

-Virage de l'indicateur de pH au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et la souche est citrate de Simmons +.

- Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y a pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture. La souche est citrate de Simmons -.

*Recherche de la réaction VP et RM

Le milieu utilisé, Clark et Lubs, permet l'étude de la voie de fermentation du glucose

Ensemencer largement et Incuber 24 h à 37°C.

Prélever 2 fois 1 ml du milieu, à transvaser dans deux tubes à essais.

- Test VP

- Ajouter 10 gouttes du réactif VP1 (alpha naphthol) et le même volume du réactif VP2, puis incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation.
- Attendre quelques minutes à 1 heure.

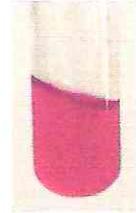
- Test RM :

- ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle,
- la lecture est immédiate.

Lecture :

Test VP

Test RM



Anneau rouge en surface

Milieu jaune

Milieu jaune

Milieu Rouge

VP+

RM -

RM -

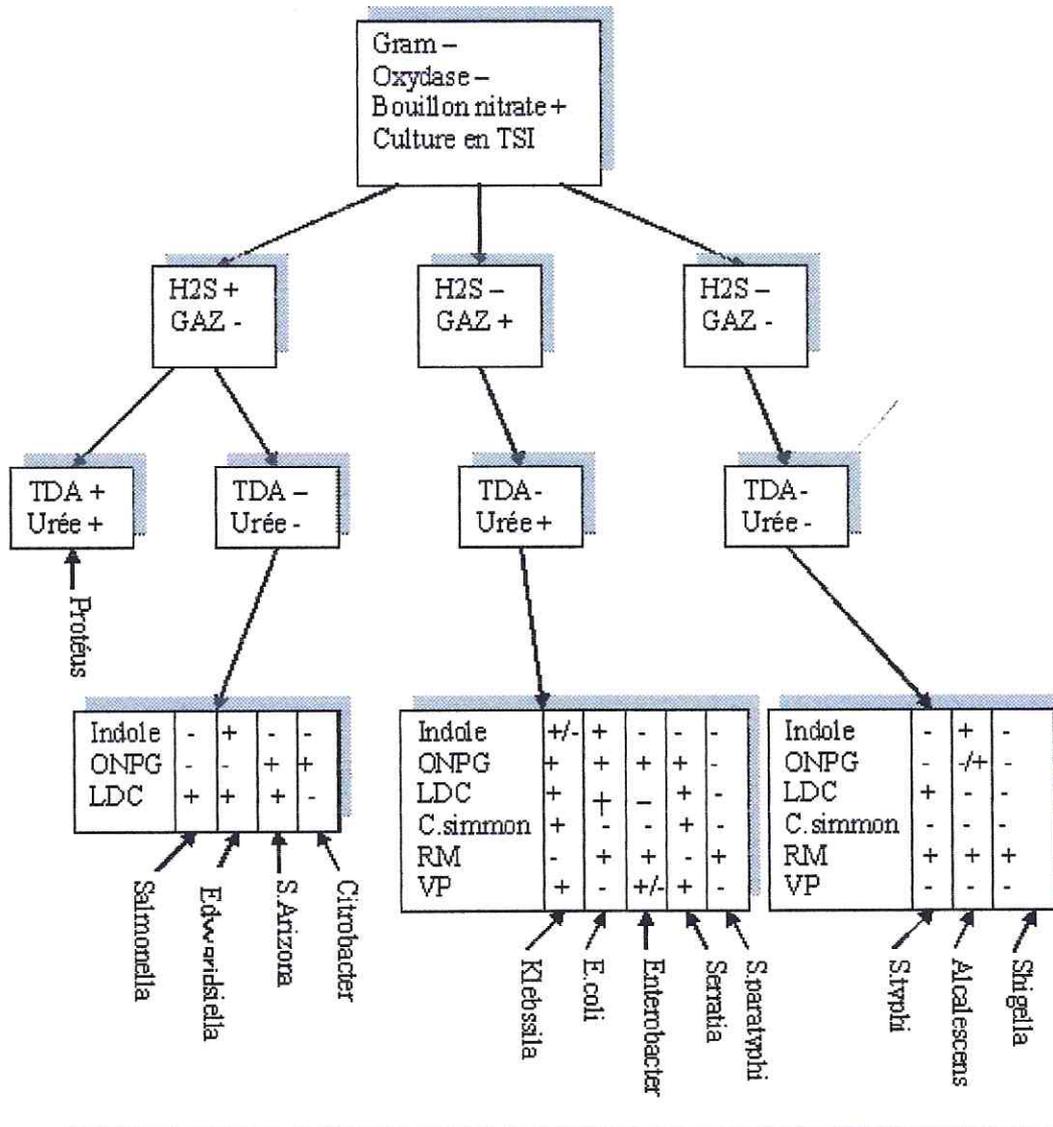
RM +

Photo 8 : Différentes réactions aux tests VP et RM



Photo 9 : Galerie biochimique pour Entérobactéries

-Différenciation des entérobactéries d'après les caractères biochimiques



3-5-4-Recherche des Staphylocoques :

a-Enrichissement

Enrichissement d'un ml de lait dans le bouillon Chapman et incubation 24 heures à 37°C.

b-Isolement

Gélose Chapman. C'est un milieu sélectif, surtout utilisé en microbiologie médicale, permettant la croissance des germes halophiles.

Principe

Ce milieu contient un inhibiteur, le chlorure de sodium, en fortes concentrations (75 g.L^{-1}), ce qui permet un isolement sélectif de *Staphylococcus* spp. tolérant les fortes concentrations en NaCl.

On peut étudier la fermentation du mannitol par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge de phénol, autour des colonies.

Technique

L'ensemencement doit être massif, en stries serrées ou par inondation.

Lecture :

L'utilisation du mannitol se traduit par une acidification du milieu, provoquant le virage au jaune de l'indicateur de pH.

Les colonies mannitol + sont entourées d'une auréole jaune.

L'utilisation du mannitol est un caractère discriminatif important dans le genre *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* étant mannitol +.



Photo 10 : Colonie mannitol+ à gauche de Staphylocoque

c-Purification

Les colonies nettement différentes seront ensemencées séparément dans le même milieu.

d-Identification : Celle-ci peut se faire sur la base des caractères morphologiques et biochimiques.

d-1-Caractères morphologiques

-Etat frais : Nous observons des cocci en grappe de raisin.

-Coloration de Gram : Bactéries violettes → Gram +

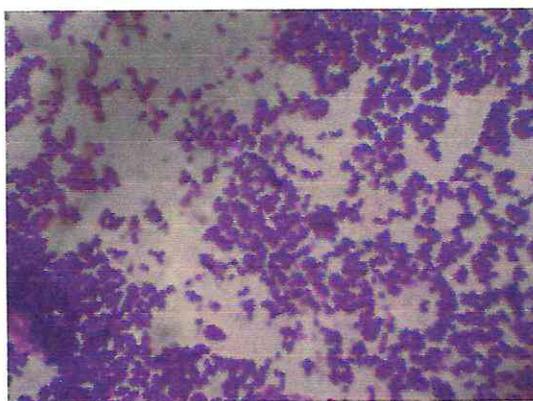


Photo 11: Cocci Gram+ en grappe de raisin caractéristique des Staphylocoques après coloration de Gram (Grossissement × 100)

d-2-Caractères biochimiques :

-Epreuve de catalase :

Principe :

La catalase est une enzyme qui dégrade l' H_2O_2 (eau oxygénée) et donne de l' $H_2O + O_2$

Technique :

Déposer une goutte d'eau oxygénée sur une lame propre sur laquelle est disposée une colonie bactérienne.

Lecture :

Dégagement de bulle de gaz → Bactérie Catalase + (comme pour les Staphylocoque)

Pas de dégagement de bulle de gaz → Bactérie Catalase -

Ce test permet en outre de distinguer les Staphylocoques des Streptocoques.

-Recherche de la Staphylocoagulase libre :

Principe :

La Staphylocoagulase est une enzyme qui peut coaguler le plasma de lapin et qui est utilisée

pour distinguer *Staphylocoques aureus* qui possède cette enzyme des autre Staphylocoques qui en sont dépourvus.

Technique :

Ensemencement d'une colonie bactérienne dans le bouillon BHIB, et incubation 18 à 24 heures à 37°C.

Mélange dans un tube stérile de 0.5 ml de bouillon ensemencé avec 0.5 ml de plasma de lapin (ou humain) et incubation 5 à 18 heures à 37°C.

Lecture :

Elle doit se faire toutes les heures.

Coagulation du plasma → coagulase +

Pas de coagulation → coagulase -

3-5-5-Recherche des Streptocoques :

a-Enrichissement

Dépôt d'un ml de lait dans le bouillon BHIB et incubation à 37°C pendant 24 heures.

b-Isolement

-Milieu d'isolement : Gélose bile esculine azide (BEA) OU Gélose D-Coccosel, milieu d'isolement sélectif des Streptocoques D (entérocoques et non entérocoques).

-Principe :

Ce milieu contient une base nutritive riche grâce aux 2 peptones et à l'extrait de levure.

Il renferme 2 inhibiteurs : la bile de bœuf et l'azide de sodium. Ces 2 inhibiteurs permettent de sélectionner la culture des streptocoques du groupe D.

Il contient, par ailleurs, un critère de différenciation : l'hydrolyse de l'esculine révélée par le citrate de fer ammoniacal :

Esculine + H₂O → Glucose + Esculétine

↓ Citrate de fer ammoniacal

Coloration noire

Les bactéries esculines + présentent des colonies noires. C'est un milieu sélectif des streptocoques peu exigeants.

Technique :

Ensemencement en stries serrées d'une goutte de lait et incubation à 37°C pendant 18 à 24

heures.

Lecture :

_Apparition de petites colonies sur le milieu → Streptocoques D

_ Colonies entourées d'un halo noir → esculine +

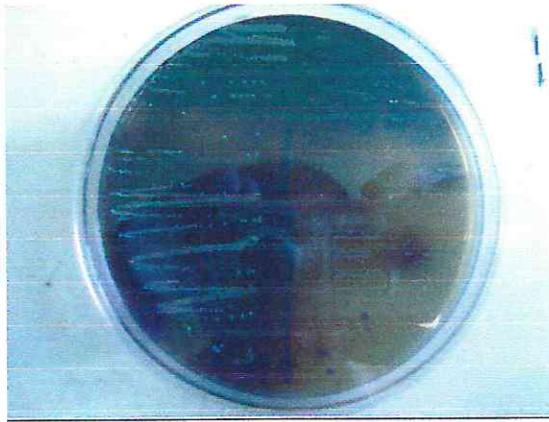


Photo 12: Colonies de Streptocoques 'D' entourées d'un halo noir

c-Purification

Les colonies distinctement différentes seront ensemencées séparément dans le même milieu.

d-Identification

d-1-Caractères morphologiques

Etat frais : Coccies isolés ou en chaînettes.

Coloration de Gram : Bactéries de couleur violettes → Gram +

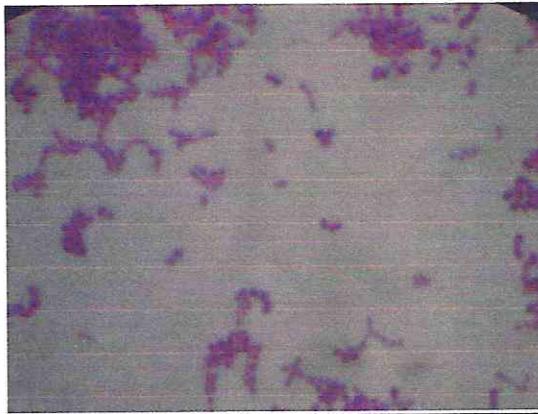


Photo 13: Coccis Gram+ en chaînettes caractéristiques des Streptocoques après coloration de Gram (grossissement $\times 100$)

d-2-Recherche du pouvoir hémolytique : Gélose Columbia au sang de mouton. C'est un milieu d'isolement enrichi sur lequel les Streptocoques se développent bien. Il permet la lecture du caractère hémolytique.

Composition : Gélose columbia + 0.5 mL sang de mouton défibriné

Technique : Préparation de la gélose au sang :

- liquéfier au bain-marie bouillant la gélose et la maintenir à 45°C.
- à l'aide d'une pipette Pasteur, prélever le sang stérilement.
- déposer dans la boîte (ou un récipient stérile) 20 gouttes de sang, bien réparties.
- rajouter par-dessus, la gélose en surfusion.
- homogénéiser par des mouvements lents de rotation.
- laisser sécher à l'étuve.
- Ensemencer.

Lecture :

_Hémolyse β : zone claire d'hémolyse totale de diamètre 3-4 mm entourant les colonies.

_Hémolyse α : zone floue et granuleuse, verdâtre de 1 à 2 mm de diamètre



Photo 14: Différentes zones d'hémolyse sur gélose Columbia au sang de mouton



Photo 15: Préparation de la gélose au sang : mélanger le sang frais avec la gélose Columbia puis couler dans la boîte de pétrie

3-6- L'antibiogramme :

L'antibiogramme est une technique de laboratoire qui permet de déterminer la sensibilité d'un germe aux différents antibiotiques testés.

Technique :

_Milieu utilisé: Milieu de Mueller-Hinton.

_Inoculum : A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures, nous diluons quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques dans 5 à 10 ml d'eau physiologiques stérile jusqu'à l'obtention d'une densité de 0.5

_Ensemencement :Il se fait à l'aide d'un écouvillon stérile chargé de la suspension bactérienne, puis la totalité de la surface gélosée est frottée de droite à gauche en stries serrées, en insistant sur les bordures (deux à trois rotations de la boîte de pétrie doivent être effectuées).

_Application de disques d'antibiotiques pour chaque espèce bactérienne (10 pour les Staphylocoques, 13 pour les Entérobactéries et 04 pour les streptocoques).

_Incubation 24 heures à 37°C.

L'antibiogramme des différentes espèces bactériennes est réalisé en respectant les recommandations de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé).

Lecture : La lecture du diamètre des zones d'inhibitions bactériennes se fait grâce à un pied à coulisse électronique de préférence ; l'interprétation de ces résultats est réalisée selon les normes de L'OMS présentées dans les tableaux 11, 12 et 13.

Tableau 11 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus sp.*
(ANONYME, 2003)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>β-lactamines :</u>				
Pénicilline	10 UI	≤28	≥29
Oxacilline→S.aureus	-1 µg	≤10	11 – 12	≥13
Oxacilline→S.coagulase-	1 µg	≤17	≥18
<u>Aminosides :</u>				
Streptomycine	10 µg	<13	≥15
<u>Macrolides :</u>				
Erythromycine	15 µg	≤13	14 – 22	≥23
Spiramycine	100 µg	<19	≥24
<u>Glycopeptides :</u>				
Vancomycine	30 µg		≥15
<u>Quinolones :</u>				
Enrofloxacin	5 µg	≤16	17 - 22	≥23
<u>Tétracyclines :</u>				
Tétracycline	30 µg	≤14	15 - 18	≥19
<u>Sulfamides :</u>				
Cotrimoxazole	1.25/23.75µg	≤10	11 - 15	≥16
<u>Polypeptides :</u>				
Bacitracine	130 µg	<15	≥15

Tableau 12 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les *Entérobactéries*.
(ANONYME, 2003)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>β-lactamines :</u>				
Ampicilline	10 µg	≤13	14 – 16	≥17
Amoxicilline+Acide clavulanique	20/10 µg	≤13	14 – 17	≥18
Ceftiofur	30 µg	≤17	18 – 20	≥21
Cephalotine	30 µg	≤14	15 – 17	≥18
<u>Aminosides :</u>				
Néomycine	30 µg	≤12	13 – 16	≥17
Gentamicine	10 µg	≤12	13 – 14	≥15
<u>Sulfamides :</u>				
Triméthopriime/Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤10	11 – 15	≥16
Sulfamides	250 ou 300µg	≤12	13 – 16	≥17
<u>Tétracyclines :</u>				
Tétracycline	30 µg	≤14	15 – 18	≥19
<u>Quinolones :</u>				
Flumequine	30 µg	<21	21 – 24	≥25
Enrofloxacin	5 µg	≤16	17 – 22	≥23
<u>Polypeptides</u>				
Colistine	10 µg	≤8	9 – 10	≥11
<u>Furanes :</u>				
Nitrofurantoin	300 µg	≤14	15 – 16	≥17
<u>Phénicolés :</u>				
Chloramphénicol	30 µg	≤12	13 - 17	≥18

Tableau 13 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Streptococcus sp.*
(ANONYME, 2003)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
<u>β-lactamines :</u>				
Ampicilline	10 µg	≥24
Pénicilline	10 UI	≥24
<u>Tétracyclines :</u>				
Tétracycline	30 µg	≤18	19 – 22	≥23
<u>Macrolides :</u>				
Erythromycine	15 µg	≤15	16 – 20	≥21
Pristinamycine	15 µg	<19	≥22

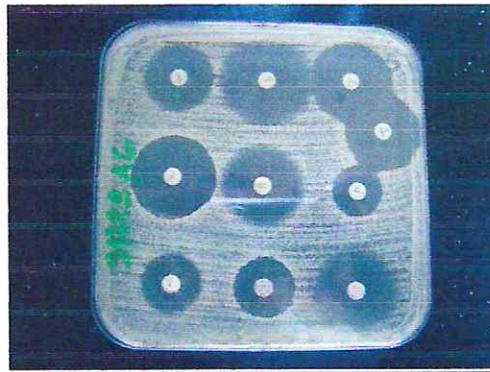


Photo 16 : Antibiogramme d'une souche de Staphylocoque

3-7-Analyses biochimiques

3-7-1- Extraction de la caséine du lait

a-Matériels et réactifs

- _ Tubes à essai.
- _ Papier filtre.
- _ Entonnoir.
- _ Mortier.
- _ Centrifugeuse.
- _ Agitateur magnétique.
- _ Eau distillée
- _ Acide trichloracétique



Photo 17: Matériels utilisés pour l'Extraction de la caséine du lait

b-Méthode de travail

- _ Centrifugation du prélèvement de lait à 3000 tours/minute pendant 10 minutes.
- _ Ecrémage (enlever le surnageant)
- _ Acidification du lait écrémé en y ajoutant de l'acide trichloracétique à 12% à quantité égale (même volume d'acide et de lait).
- _ Filtrage de la caséine du surnageant avec le papier filtre disposé sur l'entonnoir.
- _ Addition à la caséine filtrée de l'eau distillée (lavage) et centrifugation à 3000 tours/ minute pendant 10 minutes.
- _ Elimination de l'eau distillée puis deuxième lavage.
- _ Séchage du culot à l'étuve.
- _ Récupération de la caséine et concassage à l'aide du mortier.



Photo 18: Différentes étapes d'extraction de la caséine

3-7-2- Electrophorèse de la caséine du lait.

3-7-2-1-Définition : L'électrophorèse désigne l'ensemble des méthodes visant à séparer et à identifier les constituants d'une phase solide chargée, suspendue dans une phase liquide tamponnée quand on lui applique un champ électrique ; la phase aqueuse est stabilisée sur un support poreux imprégné de solution tampon conductrice (SAIDOUN et SADAOUI, 2006)

-Principe : Il repose sur le déplacement de molécules ionisées dans un champ électrique ; plusieurs facteurs interviennent dans la vitesse de migration des protéines, les plus importants étant le poids moléculaire et la charge électrique (SAIDOUN et SADAOUI, 2006)

3-7-2-2-Matériels et réactifs.

- plaque d'acétate de cellulose
- Cuve de migration
- Générateur de courant (micro-hotte 220V)
- Agitateur
- Masque applicateur (puits)
- Applicateur avec cavaliers
- Embase d'alignement
- Tampon (contient un tampon tris-barbital-barbital-sodique à PH 8.6-9, dissoudre un sachet de tampon sec dans 750ml d'eau distillé et bien mélanger)
- Colorant (rouge ponceau)
- ponts papier pour chambre
- Papier buvard
- Micropipette



Photo 19 : Matériel pour électrophorèse

3-7-2-3-Méthodologie.(ANONYME, 2004)

- Peser la poudre de caséine
- Reconstituer 0.4 mg de poudre de caséine dans 5 ml d'eau distillée
- Agiter jusqu'à obtention d'une suspension aqueuse homogène



Photo 20 : De gauche à droite ; reconstitution de la suspension et agitation pour homogénéiser

- Tremper l'acétate de cellulose dans le tampon pendant 20 minutes (plonger la plaque lentement et uniformément pour ne pas l'abîmer)
- Verser environ 100ml de tampon dilué dans chaque compartiment de la cuve de migration
- Humidifier deux ponts papiers jetables dans le tampon et en déposer un sur chaque pont support, en veillant à ce qu'il soit bien en contact avec le tampon et qu'aucune bulle d'air ne reste en dessous
- couvrir la chambre pour éviter que le tampon ne s'évapore



Photo 21: De gauche à droite ; trempage de l'acétate de cellulose et dépôt des papiers ponts dans la cuve de migration

- Remplir chaque puit du masque applicateur avec 3 μ l d'échantillon en utilisant la micropipette
- Amorcer l'applicateur en abaissant les embouts dans les puits échantillons 3 ou 4 fois
- Enlever la plaque du tampon et la sécher entre deux papiers buvards. Placer la plaque sur l'embase d'alignement, acétate de cellulose vers le haut, en faisant correspondre le bat de la plaque avec la ligne de séparation signalé par CENTRE DEPOT. Le repère d'identification doit être aligné avec l'échantillon numéro1.
- Déposer l'échantillon sur la plaque en abaissant les embouts de l'applicateur dans les puits puis transférer l'applicateur sur l'embase d'alignement ; appuyer sur le bouton pendant 5 secondes.
- Placer la ou les plaques dans la cuve, acétate de cellulose vers le bat. Placer un poids dessus pour assurer un bon contact avec les ponts papiers. Couvrir la chambre et attendre 20 secondes qu'elles s'équilibrent.



Photo 22 : De gauche à droite ; remplir chaque cuve, Déposer l'échantillon sur la plaque en abaissant les embouts et placer la plaque dans la cuve

PARTIE EXPERIMENTALE

- Faire migrer pendant 15 minutes, à 320 volts
- Une fois l'électrophorèse terminée, enlever la plaque de la cuve et la placer dans 40-50 ml de colorant Ponceau pendant 6 minutes
- Décolorer dans 3 bains de 2 minutes d'acide acétique à 5% ou jusqu'à ce que le fond de la bande de la plaque soit blanc.



Photo 23: De gauche à droite ; migration, Coloration, Décoloration

IV-RESULTATS ET DISCUSSION

4-1-Effectif bovins contaminés par les mammites sub-cliniques

4-1-1- Résultats : Ceux-ci sont compris dans les tableaux 14 et 15(Annexe) et illustrés par les histogrammes, figures 2 et 3.

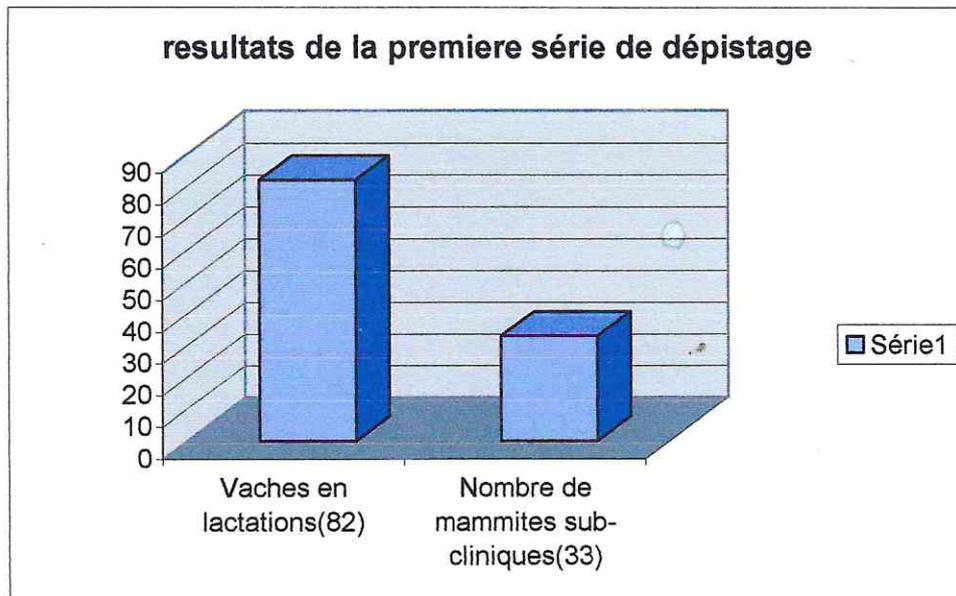


Fig.2 : Résultats de la première série de dépistage

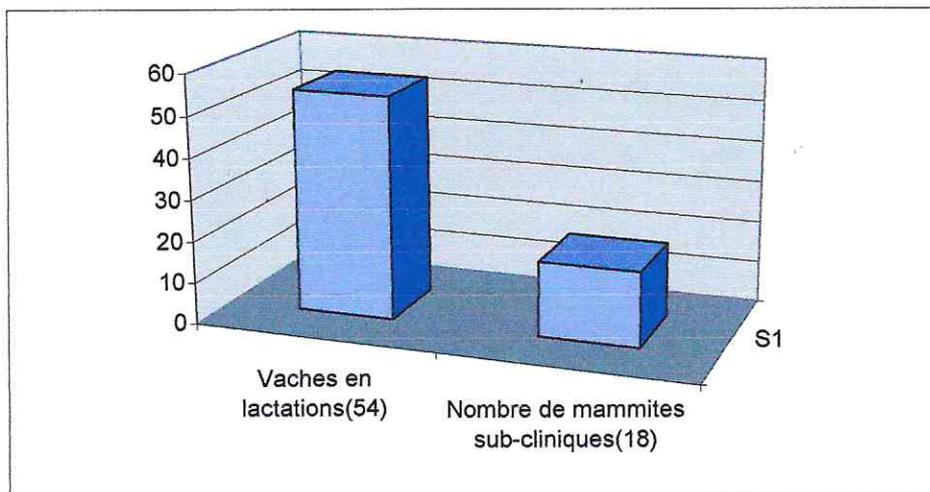


Fig.3 : Résultats de la deuxième série de dépistage

4-1-2- Discussion

Les informations citées dans le tableau 14 nous donnent un aperçu général sur l'état de gestion et les performances de reproduction de cette exploitation.

Les remarques issues de ces informations peuvent être nombreuses, nous citerons les plus importantes en relation avec notre thème de recherche :

*Le pourcentage de mammites sub-cliniques est de 40.2%, ce qui représente un chiffre très élevé entraînant des pertes importantes de la production lactée.

* Dans cet élevage, les pies rouges et les brunes des alpes sont séparées des pies noires et sont manipulées par d'autres trayeurs avec des machines à traire différentes ce qui peut expliquer la différence des résultats du test CMT selon la robe.

*14.6% des vaches ne possèdent que 3 quartiers fonctionnels ce qui est dû aux séquelles de mammites cliniques mal soignées ou plus souvent à des anomalies de développement mammaire, ce qui diminue la production lactée de l'animal et constitue une perte économique importante pour l'éleveur.

* On peut remarquer que le nombre de vaches dans ces tableaux est très en dessous du nombre d'animaux présents dans l'exploitation et précédemment cité de 219 têtes ; cela est dû au fait qu'il y a de nombreuses vaches en tarissement, des animaux qui n'ont pas encore atteint la maturité sexuelle et surtout à des écarts vêlage-vêlage très importants (mauvaise fécondité). Ce dernier point est confirmé par le fait que 50% des vaches âgées de 4 ans n'ont qu'une seule lactation et 91.4 % âgées de 5 à 6 ans sont à leur deuxième lactation.

* Il est à noter que les vaches présentant des mammites sont généralement groupées (l'une à côté de l'autre), ce qui montre que la contamination a lieu au cours de la traite par l'intermédiaire du chariot-trayeur ou des lavettes de nettoyage des mamelles (non individuelles).

_En ce qui concerne l'évolution des mammites sub-cliniques, aucune des vaches dépistées positives lors du premier contrôle n'est guérie pendant les mois suivants et on les retrouve positives au deuxième test, ce qui veut dire que dans la plupart des cas, lorsqu'une mammite sub-clinique est installée, elle persiste durant toute la durée de la lactation et au-delà (les lactations suivantes), en absence de traitement.

_Il est à souligner un net recul de la prévalence de mammites sub-cliniques dans le tableau 15 évalué à 33.3% de l'effectif bovin. Une diminution d'environ 7% par rapport à la première série de dépistage (fig.4) due principalement à un changement du régime alimentaire et à l'introduction de nouvelles génisses plus saines

_Ces résultats concordent parfaitement avec les travaux réalisés dans le cadre de mémoires

Tableau 16 : Régime alimentaire des vaches en lactation en mars 2007

	%
Mais	46.9
Son de blé	18.25
Soja	14.2
Calcaire	1.75
Sel	0.6
GL mix turbo lait	15.3
CMV (Pmx II hp 1%)	1
bt ATNA bt hp	2

CMV : complexe minero-vitaminique.

GL mix turbo lait: Ensemble de protéines micronisées à partir de 5 tourteaux.

Bt ATNA bt hp: Système May passe, ensemble d'huiles essentielles qui freinent la dégradabilité des protéines au niveau du rumen pour l'augmenter au niveau de l'intestin pour optimiser l'utilisation de ces protéines dont l'efficacité biologique augmente.

Tableau 17 : Régime alimentaire des vaches en lactation en juillet 2007

	%
Mais	50
Son	21.7
Soja	26
Calcaire	0.8
Sel	0.5
CMV	1

Ainsi, dans le cadre de l'amélioration des performances des animaux et la réduction du niveau de pathologies, en l'occurrence les mammites sub-cliniques et les fourbures qui ont atteints des proportions inquiétantes dans l'exploitation en pénalisant l'ensemble de la production, l'éleveur a fait appel à une société spécialisée dans l'alimentation animale (Algérienne des Technologies de la nutrition Animale, Ouled-yaich, Blida.) afin de corriger les éventuels déséquilibres alimentaires, sources de nombreuses pathologies.

Après étude du régime alimentaire et des performances des animaux, les techniciens ont conclu à un déséquilibre du rapport protéines/énergie trop élevé dans la formule alimentaire appliquée (tableau 16); cet excès en protéines, sensé augmenter qualitativement et quantitativement la production laitière, s'est révélé préjudiciable associé à une carence

énergétique.

Dans ce sens, un nouveau régime alimentaire a été établi, plus riche en énergie et moins en protéines (tableau 17). Il a rapidement donné des résultats positifs, avec une diminution du nombre de mammites sub-cliniques de 7% (fig.4) et une chute sensible du nombre de fourbures.

Evolution du niveau d'infection en cours de lactation (ANONYME, 1995) : Celle-ci peut être évaluée en considérant le pourcentage de mammites chez les primipares. En effet, les primipares vèlent généralement sans infections mammaires et une élévation anormale de leurs numérations indique qu'un grand nombre de nouvelles infections s'installent au cours de la lactation. D'après la norme française (ANONYME, 1995), si ce critère est inférieur à 5%, la situation est satisfaisante. Par contre, lorsqu'il est supérieur à 15%, il est urgent de réagir en corrigeant les causes de ces infections.

Dans la première série de dépistage, 47% des primipares sont atteints d'une mammite ce qui est énorme par référence à la norme précédemment citée ; par contre ce chiffre a diminué à 25%, ce qui témoigne d'un progrès important réalisé pour contrôler la progression de l'infection en cours de lactation mais des efforts restent à faire pour contrôler d'avantage ce fléau.

4-2-Analyses bactériologiques421-Résultats

Ceux-ci sont compris dans les tableaux 18 et 19 et illustrés par les figures 5, 6 et 7. Le tableau 18 comprend les résultats que nous avons obtenus au laboratoire de Tizi ouzou alors que les résultats du tableau 19 nous ont été fournis par un laboratoire spécialisé

Tableau 18 : Identification des germes des différents prélèvements.

Numéro du prélèvement	Germes mis en évidence
3876 PD	Streptocoque
3876 AG	Lactobacille
5481 AD	Staphylocoque coagulase + Streptocoques
61928 AD	<i>Escherichia coli</i> Staphylocoque coagulase + Streptocoque
371 AD	Staphylocoque coagulase +
371 AG	Staphylocoque coagulase -
6876 PG	Staphylocoque coagulase + Streptocoque
3903 AG	Pseudomonas Staphylocoque coagulase -
0393 AG	Streptocoque
91229 AG	<i>Escherichia coli</i> Staphylocoque coagulase - Streptocoque
30094 AG	Staphylocoque coagulase -
30094 PD	Staphylocoque coagulase -
59694 PD	<i>Escherichia coli</i> Klebsiella Streptocoque
96019 PD	Staphylocoque coagulase+
4059 AD	Staphylocoque coagulase - Streptocoque (esculine-)

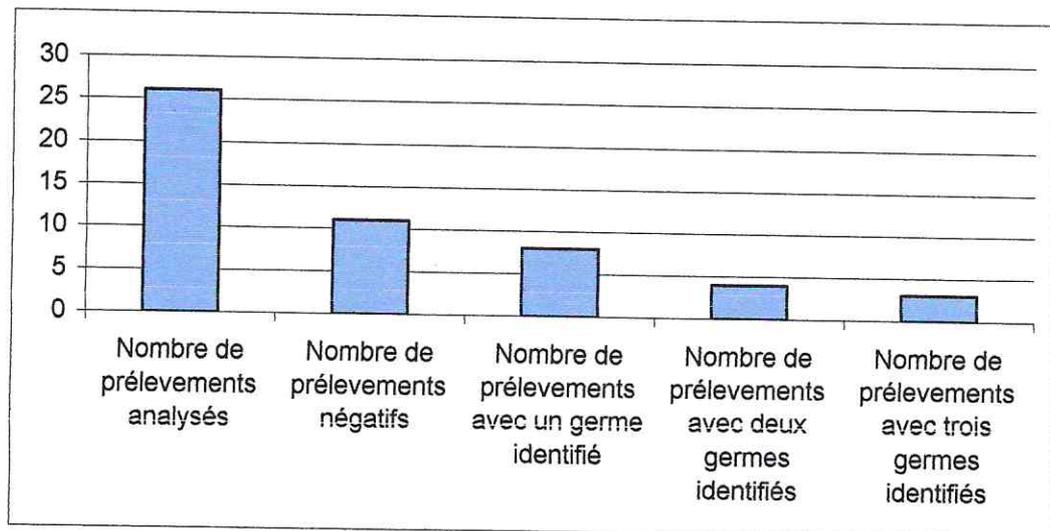


Fig.5 : Résultats des analyses bactériologiques.

4-2-2-Discussion

Du tableau.18 ressort le nombre faible de prélèvements analysés par rapport au nombre d'échantillons CMT+ prélevés sur le terrain ; cela peut s'expliquer par le fait :

- qu'un certain nombre de prélèvements se sont avérés négatifs au laboratoire pour cause de présence d'antibiotiques : un grand nombre d'animaux sont traités pour des maladies telles que les métrites, plaies suppurées ou autres
- que d'autres prélèvements ont donné lieu à une ou deux colonies éparpillées dans la boîte de pétrie qu'on ne peut pas prendre en considération.

_Nous remarquons également que pour le même prélèvement, nous pouvons mettre en évidence jusqu'à 3 germes surtout pour les entérobactéries ; ces mammites sont dues à des contaminations par des germes de l'environnement et nous pensons que cette contamination est souvent multi microbienne.

_Pour le prélèvement numéro 3876 AG, nous avons mis en évidence un lactobacille, mais étant donné que, au niveau bibliographique, ce germe n'a jamais été identifié comme responsable de mammite, nous ne l'avons pas pris en compte.

_La première constatation de la figure **5** est la somme de la proportion des Staphylocoques et des Streptocoques réunis qui dépasse les 79% et représente la grande majorité des germes responsable des mammites sub-cliniques ; Cette prédominance a été largement notée dans nombre de travaux nationaux et internationaux parmi lesquels nous citerons ANONYME (1995) et GHOURI (2005). Il est à signaler qu'en ce qui concerne les Streptocoques, il s'agit des Streptocoques du groupe « D » esculine +, sauf le prélèvement numéro 4059 AD qui est esculine -.

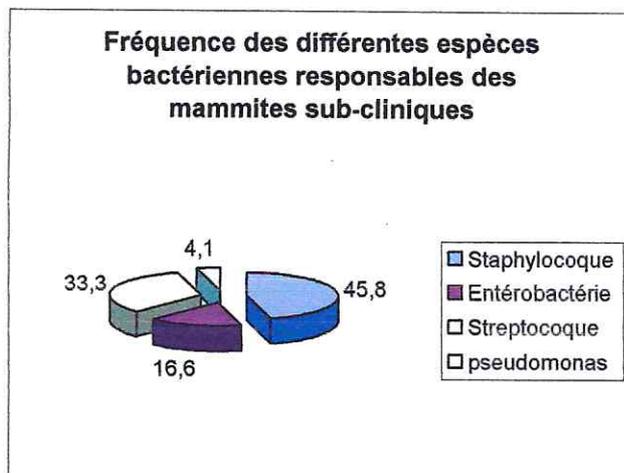


Fig.6 : Fréquence des différentes espèces bactériennes responsables des mammites sub-cliniques

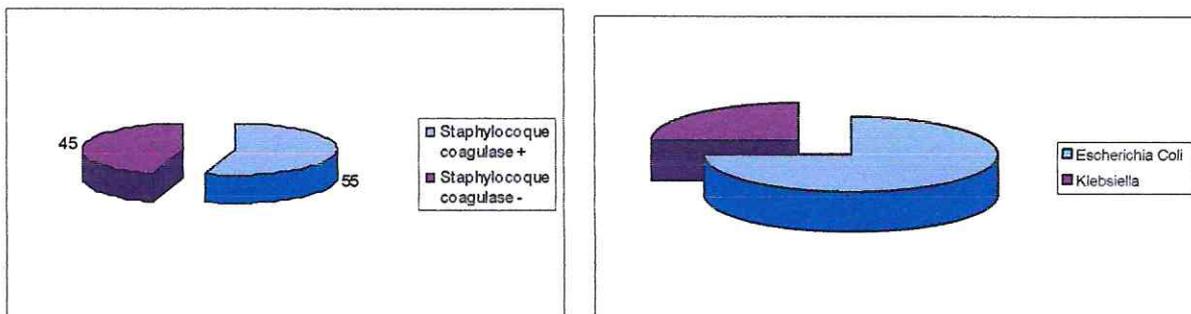


Fig.7 : Fréquence des différentes catégories de Staphylocoques et d'Entérobactéries.

Tableau 19 : Qualité bactériologique du lait issue de vaches atteintes de mammites sub-clinique et danger potentiel pour la santé du consommateur (réalisé au niveau du laboratoire militaire d'el-harrach) :

Numéro d'identification	Quartier	Résultats du test CMT	Mésophiles (Germes/ml)	Staphylocoques (Germes/ml)	Streptocoques (Germes/ml)	Clostridium (Germes/ml)	Coliformes fécaux (Germes/ml)
04003	PD	+	4600	03	01	0	03
04003	AD	+	5000	0	0	0	0
04003	AG	+	2800	0	0	0	0
04003	PG	+	1500	0	0	0	0
6876	AD	+	2750	0	0	0	0
6876	PG	+	3500	0	01	0	0
6876	PD	-	100	04	0	0	02
6876	AG	-	1500	0	01	0	0
49054	PG	+	600	0	01	0	0
49054	PD	-	1500	0	0	0	0
49054	AD	-	1000	0	0	0	0
Limite			10^5	Absence	Absence/0.1ml	50	10^3

Discussion

_ Ces prélèvements sont issus de la première série de dépistage réalisée le 19/03/07. Ils ont été par la suite congelés avant d'être envoyés au laboratoire militaire d'El-Harrach pour la détermination de la qualité bactériologique du lait et du danger potentiel pour la santé du consommateur.

_ En raison de l'impossibilité d'accès à ces laboratoires pour les civiles, nous n'avons pu ni réaliser les tests ni même suivre les différentes étapes de la méthodologie pour la détermination de la qualité bactériologique du lait destiné à la consommation humaine.

_ Puisque le lait examiné est congelé, le dénombrement des coliformes totaux est déconseillé car les possibilités d'erreurs sont importantes.

_ Le lait examiné provient des quartiers atteints et des quartiers voisins au niveau de trois mamelles afin de déterminer le niveau de contamination entre quartiers voisins.

_ Les tests de microbiologie alimentaire réalisés ont pour but de déterminer si la charge bactérienne est susceptible de constituer un danger pour le consommateur ; ainsi, le tableau 19

montre que la charge bactérienne ne dépasse pas la limite autorisée pour les différentes catégories de bactéries à l'exception de quelques échantillons qui dépassent légèrement les normes pour les Staphylocoques et les Streptocoques : le lait testé ne constitue pas un réel danger pour la santé publique.

4-3- Antibiogrammes réalisés sur les germes identifiés

4-3-1-Résultats : Les résultats sont compris dans les tableaux 20, 21 et 22 et illustrés par les figures 35, 36 et 37.

Tableau 20 : Diamètre des zones d'inhibition aux différents antibiotiques pour *Saphylococcus sp.* (En centimètres).

	5481 PD coagulase+	61928 AD coagulase+	371 AD coagulase+	371 AG coagulase+	91229 AG coagulase-	30094 AG coagulase-	30094 PD coagulase-	96019 PG coagulase+	4051 coag
<i>Oxacilline (OX)</i>	20 « S »	19.9 « S »	19.7 « S »	22 « S »	18 « S »	29 « S »	18 « S »	20.6 « S »	17. « I »
<i>Pénicilline (P)</i>	17 « R »	18.7 « R »	16 « R »	18 « R »	29.5 « S »	51 « S »	32 « S »	19.6 « R »	38. « S »
<i>Enrofloxacin(e) (ENR)</i>	21 « INT »	23 « S »	24 « S »	24 « S »	27.8 « S »	33 « S »	27.2 « S »	28.1 « S »	30 « S »
<i>Tétracycline (TE)</i>	19 « S »	21.2 « S »	21 « S »	6 « R »	24 « S »	6 « R »	28 « S »	6 « R »	6 « S »
<i>Cotrimoxazole (SXT)</i>	17 « S »	26.6 « S »	19 « S »	24 « S »	30 « S »	32 « S »	31 « S »	21 « S »	18 « S »
<i>Stréptomycine (S)</i>	15.3 « S »	20 « S »	23 « S »	19 « S »	24 « S »	23.7 « S »	25 « S »	17.8 « S »	17. « S »
<i>Vancomycine (VA)</i>	16.7 « S »	19 « S »	21.4 « S »	19 « S »	20 « S »	21.8 « S »	20.8 « S »	18 « S »	17. « S »
<i>Spiramycine (SP)</i>	19 « R »	27.5 « S »	28.7 « S »	25 « S »	24 « S »	29.6 « S »	28 « S »	22 « INT »	6 « S »
<i>Erythromycine (E)</i>	14.2 « R »	27 « S »	28 « S »	6 « R »	28 « S »	31.6 « S »	38.6 « S »	6 « R »	6 « I »
<i>Bacitracine (B)</i>	22.7 « S »	17.5 « S »	25 « S »	23 « S »	19 « S »	22.8 « S »	17 « S »	26 « S »	17. « S »

« S » : Sensible.

« R » : Résistant.

« INT » : Intermédiaire.

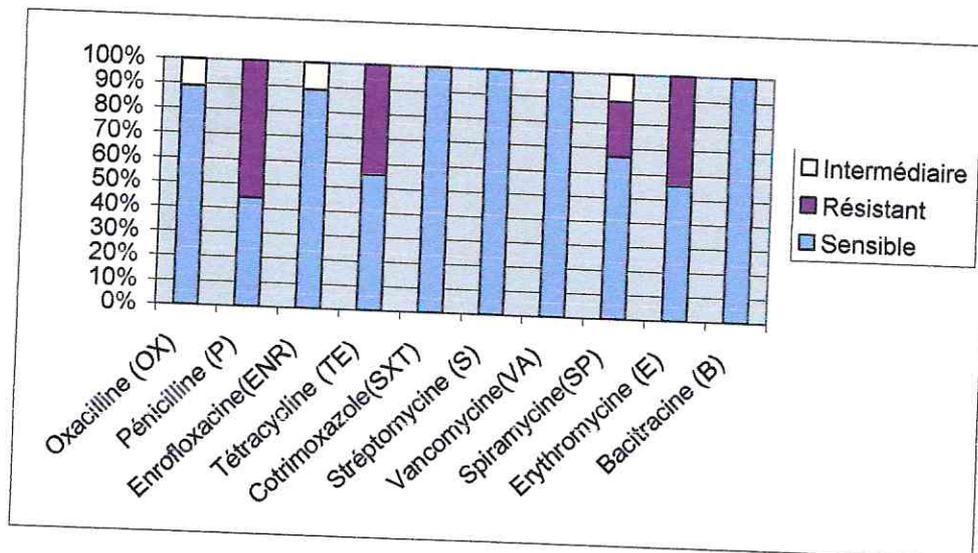


Fig.8 : Résultats de l'antibiogramme sur les différentes souches de Staphylocoques testés.

4-3-2-Interprétation

4-3-2-1-Cas des Staphylocoques : Il ressort du tableau 20 que certains antibiotiques sont actifs sur toutes les souches testées telles que la Cotrimoxazole, la Vancomycine et la bacitracine alors que d'autres donnent des résultats intermédiaires mais d'importance négligeable comme l'Oxacillin et l'Enrofloxacin.

Par contre d'autres antibiotiques possèdent une efficacité très aléatoire et sont caractérisés par de nombreux cas d'antibiorésistance ; on peut citer la Tétracycline, la Streptomycine, la Spiramycine et l'Erythromycine avec une petite particularité pour la Pénicilline où on note 100% de résistance pour les staphylocoques coagulase + (aureus) et une efficacité totale pour les coagulases -

Tableau 21 : Diamètre des zones d'inhibition aux différents antibiotiques pour les Entérobactéries (en centimètres).

	61928 AD <i>Escherichia Coli</i>	91229 AG <i>Escherichia Coli</i>	59694 PD <i>Escherichia Coli</i>	59694 PD <i>Klebsiella</i>
Gentamicine (GM)	22 « S »	26 « S »	26.7 « S »	26 « S »
Ceftiofur (CF)	6 « R »	17.6 « R »	14.2 « R »	18.2 « S »
Ampicilline (AMP)	6 «R »	30 « S »	23 « S »	12.6 « R »
Néomycine (N)	19 « S »	24.6 « S »	23.7 « S »	24 « S »
Chloramphénicol (C)	24 « S »	25.7 « S »	24.5 « S »	26 « S »
Amoxicilline + acide clavulanique (AMC)	6 « R »	21.7 « S »	18.4 « S »	20 « S »
Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (XNL)	21.5 « S »	28.5 « S »	27.3 « S »	25.9 « S »
Enrofloxacin (ENR)	24 « S »	32 « S »	24 « S »	27.6 « S »
Flumiquine (F)	25 « S »	24.5 « S »	26 « S »	26 « S »
Colistine (CS)	14 « S »	14.6 « S »	15.6 « S »	14.8 « S »
Nitrofurantoin (UB)	25.5 « S »	27 « S »	25 « S »	27 « S »
Sulfamides (SSS)	18.4 « S »	6 « R »	23 « S »	25 « S »
Tétracycline (TE)	6 « R »	6 « R »	6 « R »	14.2 « R »

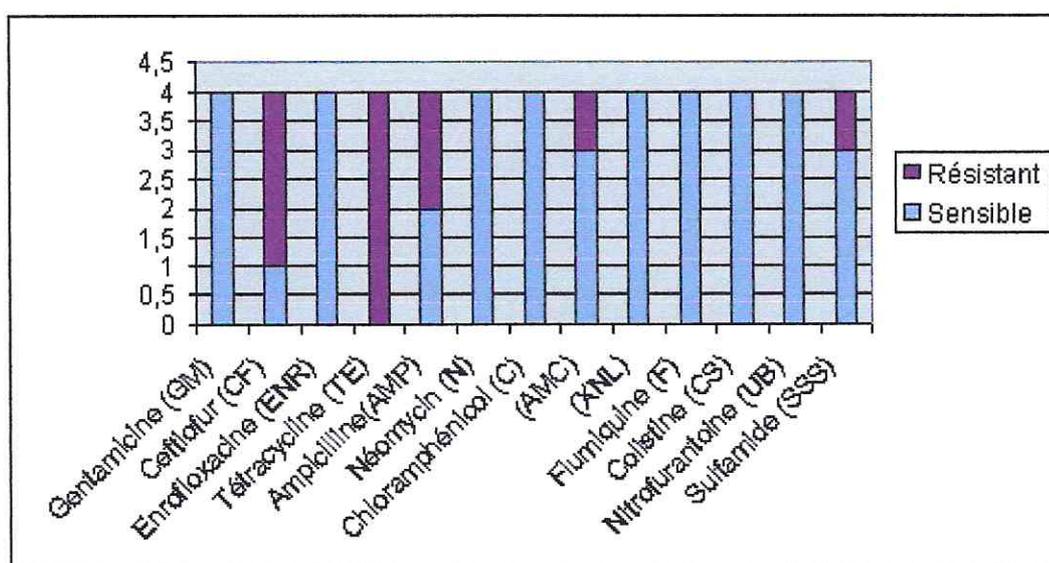


Fig.9 : Résultat de l'antibiogramme sur les différentes souches d'Entérobactéries testés.

4-3-2-2-Cas des Entérobactéries : Du tableau 21 l'antibiogramme des entérobactéries révèle que la plupart des antibiotiques possèdent une efficacité optimale avec quelques résistances pour l'Amoxicilline+acide clavulanique et les sulfamides et une efficacité limitée pour la Ceftiofur, l'Ampicilline et la tétracycline.

Tableau 22 : Diamètre des zones d'inhibition (en centimètre) aux différents antibiotiques pour les Streptocoques.

	61928 AD	6876 AG	0393 AG	91229 AG	4059 AD	5481 PD
Ampicilline (AMP)	17.2 « R »	22.5 « R »	31 « S »	28.1 « S »	34.7 « S »	26.5 « S »
Erythromycine (E)	32.9 « S »	13 « R »	26 « S »	32 « S »	6 « R »	24.8 « S »
Pénicilline (P)	17 « R »	20.8 « R »	33 « S »	29 « S »	38.8 « S »	24 « S »
Tétracycline (TE)	6 « R »	7 « R »	6 « R »	6 « R »	6 « R »	6 « R »

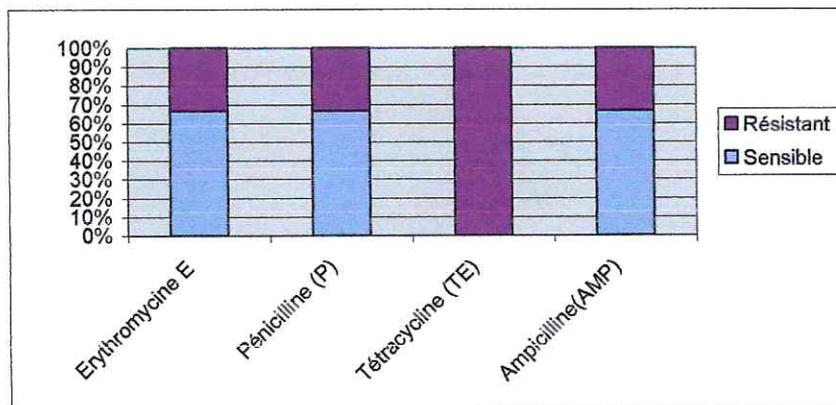


Fig.10 : Résultats de l'antibiogramme sur les différentes souches de Streptocoques testés.

4-3-2-3-Cas des Streptocoques

Cet antibiogramme nous indique que les streptocoques responsables de mammites sub-cliniques possèdent une propriété d'adaptation et de résistance aux antibiotiques très importante puisque aucun antibiotique testé n'est efficace à 100% contre ces germes à l'instar de la Tétracycline qui est quasiment inactive. On note particulièrement le cas du prélèvement numéro 6876 AG résistant à tous les antibiotiques.

4-3-3-Discussion

_ Les résultats de ces antibiogrammes concordent parfaitement avec les travaux de Ghouri 2005 surtout en ce qui concerne certains antibiotiques tels que la Tétracycline et la pénicilline.

_ Pour comprendre l'évolution de ces antibiorésistances, il faut s'intéresser aux traitements généralement entrepris par voie générale ou galactophore, souvent administrées de façon abusive et sans consultation du vétérinaire. Pour les traitement des mammites sous toutes ses formes, trois produits sont principalement utilisés : le premier est le Céfaximine-L, conseillé pour les mammites type aigue ; il est constitué d'un cocktail de deux antibiotiques qui sont le Rifaximine et la Céphlatine. Le deuxième produit, sans doute le plus utilisé, est vendu sous le nom de Mastalone ; il est composé d'Oxytétracycline, d'Oléandomycine, de Néomycine, de Prednisolone ainsi que de corticoïdes ; le troisième est distribué aux vaches en tarissement sous le nom déposé de Vonapen-HL constitué de Bezypeniciline et de Neomycine.

_ Ces traitements peuvent nous aider à comprendre en partie la raison de l'apparition de ces antibiorésistances, surtout pour la quasi inefficacité sur toutes les souches testées de la tétracycline, l'efficacité limitée de certains antibiotiques pourtant réputés très actifs comme la pénicilline et l'ampicilline ainsi que de nombreux autres produits utilisés.

_ Des travaux plus importants et plus approfondis sont nécessaires pour comprendre l'évolution de ces antibiorésistances d'autant plus que nous avons constaté que le choix des antibiotiques administrés par voie générale sur le terrain est souvent arbitraire, selon la disponibilité à la vente et sans intervention du vétérinaire. Par ailleurs, ces traitements ne sont pas enregistrés par l'éleveur ce qui rend le suivi des produits utilisés par l'éleveur, pour le traitement des différentes pathologies, problématique.

4-4-Electrophorèse sur acétate de cellulose du lait mammitieux sub-clinique

4-4-1-Résultat : Le résultat est illustré par la figure 11.

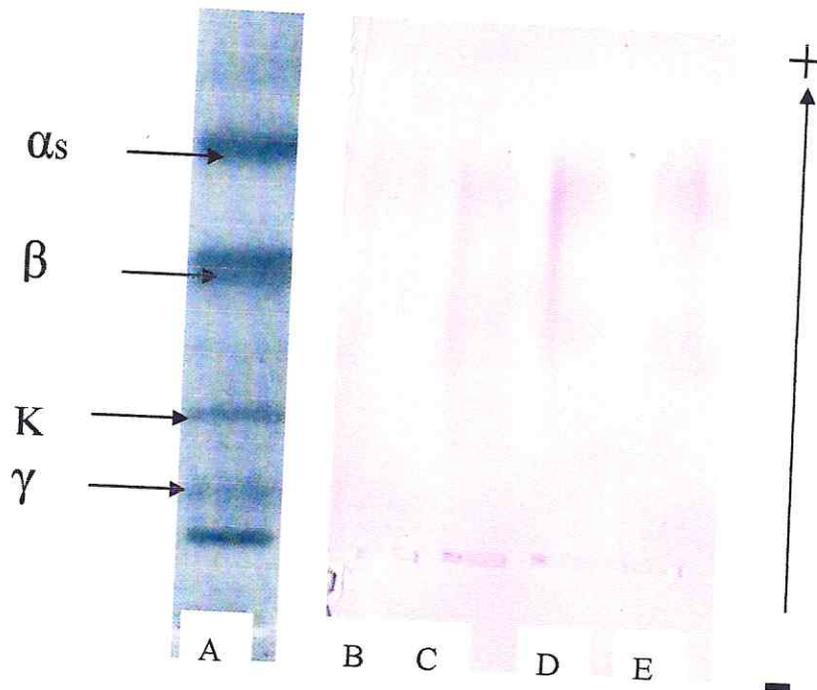


Fig.11 Electrophorèse sur acétates de cellulose réalisée sur du lait sain (à gauche) et du lait atteint de mammites sub-clinique (photo personnelle)

- A : Bande correspondant à la caséine du lait sain
- B : Bande correspondant à la caséine du lait mammitieux sub-clinique due aux Staphylocoques coagulase - (prélèvement numéro 30094 PD)
- C : Bande correspondant à la caséine du lait mammitieux sub-clinique due à *Staphylocoques aureus* (prélèvement numéro 371 AD)
- D : Bande correspondant à la caséine du lait mammitieux sub-clinique due aux Streptocoques (prélèvement numéro 3876 PD)
- E : Bande correspondant à la caséine du lait mammitieux sub-clinique due aux Entérobactéries (prélèvement numéro 59634 PD)

4-4-2-Discussion

L'électrophorèse du lait mammitieux sub-clinique constitue non seulement un examen de confirmation mais également un test de détermination du degré d'altération qualitative du lait par l'intermédiaire d'une protéolyse active des caséines par les germes responsables de ces infections mammaires.

L'électrophorèse sur acétate de cellulose comprend:

- La bande A : Elle représente le profil électrophoretique du lait cru sain, les différentes caséines en l'occurrence α_s , β , κ et γ y sont nettement et distinctement représentées.
- La bande B, C, D et E : Elle représente le profil électrophoretique du lait atteint de mammites sub-cliniques, les différentes caséines ne sont présentes qu'en forme de trace, difficilement distinctes ce qui témoigne d'une activité protéolytique très marquée ; cela est due à des protéases alcalines secrétées par les différentes bactéries responsables de ces mammites, ces protéases entraînant une hydrolyse des caséines en particulier α_s et β .
- Ces résultats concordent parfaitement avec les travaux de nos prédécesseurs (SAIDOUN et SADAOUI, 2006).
- Cette protéolyse est particulièrement remarquée dans le lait mammitieux dû aux Staphylocoques et en particulier les Staphylocoques coagulase- où les caséines ont pratiquement disparues.

CONCLUSION GENERALE

Notre étude, portant sur les mammites sub-cliniques des vaches en lactation, a pu se réaliser au niveau d'une grande exploitation de plus de 200 têtes bovines avec plusieurs objectifs à atteindre :

*La détermination du pourcentage de vaches affectées et l'évolution de la maladie dans le temps par l'intermédiaire d'un dépistage avec différents tests dont le plus fiable demeure le test CMT.

*L'identification du ou des bactéries responsables des mammites dépistées pour déterminer le réservoir de ces germes, puis la réalisation de l'antibiogramme des espèces identifiées afin d'évaluer la sensibilité de ces germes aux différents antibiotiques, et ce dans le but d'élaborer une démarche préventive et les moyens de lutte à mettre en place.

*L'évaluation de l'action de ces germes sur la composition biochimique du lait, plus précisément sur les caséines, par électrophorèse après leur extraction, afin de mettre en évidence l'impact des mammites sub-cliniques sur la qualité nutritionnelle du lait produit. Les tests et analyses ont démontré que :

*Le test CMT demeure le moyen de dépistage le plus fiable, le plus économique et le moins contraignant en Algérie.

*La prévalence de ces mammites a atteint 40% de l'effectif total ce qui est très élevé. De plus cette pathologie s'avère persistante durant toute la durée de la lactation.

*Une alimentation riche, équilibrée et adaptée aux performances recherchées chez ces animaux, s'avère un outil indispensable pour la maîtrise de cette infection ainsi que de nombreuses pathologies comme les fourbures. Elle influe positivement sur la quantité et la qualité du lait produit.

*Les bactéries du réservoir mammaire, dominé par les Staphylocoques mais également par les Streptocoques, représentent près de 80% des agents infectieux des mammites sub-cliniques. Dans notre expérimentation, ces bactéries se sont avérées très résistantes à certains antibiotiques utilisés anarchiquement comme la tétracycline et la pénicilline.

*Les animaux atteints sont toujours groupés (voisins) ce qui témoigne d'une contamination d'un animal à un autre lors de la traite.

*Les bactéries, responsables de cette pathologie, ont un impact très important sur les caséines du lait qui peuvent être complètement hydrolysées d'où une diminution de la qualité alimentaire du lait produit.

En ce qui concerne le lieu d'expérimentation, le nombre excessivement élevé de vaches mammites nous indique que le problème est plurifactoriel, bien que l'amélioration de l'alimentation par un régime plus riche et plus équilibré a donné des résultats encourageants. Cependant un long chemin reste à faire pour une maîtrise de l'infection en question.

Recommandations

Le type d'agents causals (bactéries à réservoir mammaire) nous indique que la majorité des contaminations ont lieu durant la lactation, d'où nécessité d'améliorer la méthode de traite, de réviser les machines de traite par un technicien spécialisé et d'isoler les animaux infectés qui seront soumis à la traite en dernier.

Dans ce cadre, beaucoup de pratiques très répandues sont à proscrire telles que le traitement des maladies par l'éleveur lui-même et la commercialisation des produits vétérinaires en libre service ; ces médicaments sont alors souvent administrés de façon arbitraire et abusive sans la connaissance des risques encourus. Un programme de vulgarisation permettrait aux éleveurs de prendre conscience du danger d'antibiorésistance que court leur bétail.

Pour la maîtrise de ce fléau handicapant et la production d'un lait de qualité optimale et en quantité élevée, il est indispensable d'aider l'éleveur à revoir la gestion de son exploitation d'un point de vue critique afin d'analyser tout ce qui est fait et tout ce qui doit être fait pour détecter et modifier les points critiques induisant des problèmes sur la santé des animaux. Il ne doit pas reproduire les pratiques irrationnelles et dangereuses qui vont à l'encontre de ses objectifs de production « durable » en quantité et en qualité.

Au niveau national, des stages de formation en continue pour les éleveurs par des spécialistes dans un cadre planifié sont nécessaires et un rassemblement des éleveurs en comité peut améliorer la communication et le dialogue dans la filière « élevage ».

En dernier lieu, il est à signaler un problème essentiel qui se répercute sur l'ensemble des élevages : c'est le manque de développement des cultures fourragères, induisant une alimentation du bétail en dessous des besoins des animaux locaux ou importés à haut potentiel génétique dont les besoins nutritionnels sont particulièrement élevés. De ce fait découle une multitudes de pathologies répétitives sans l'apport d'une alimentation adaptée, variée et suffisante.

Pour un élargissement de notre thème de recherche, une étude comparative des mammites sub-cliniques en lactation et ceux en tarissement peut s'avérer très enrichissante ainsi que la détermination de l'impact des mammites sur les autres composantes du lait comme les lipides, glucides et oligo-éléments. Par ailleurs, une étude sur les causes éventuelles des mammites sur le terrain après enquête suivie de solutions proposées et des résultats obtenus peut constituer un excellent sujet d'investigation.

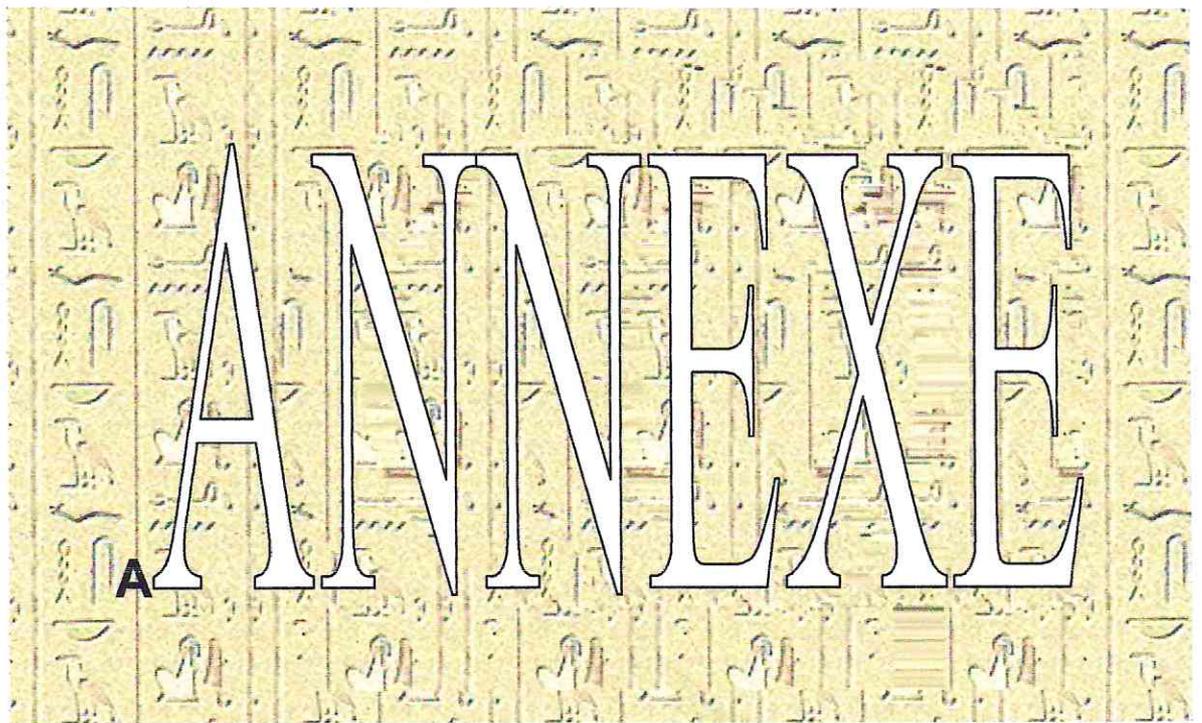


Tableau 14 : Fiche d'identification et résultat du tipool test (CMT) réalisé entre le 19/03/07 et le 02/04/07.

Numéro d'identification	Race	Robe	Numéro de lactation	Age (ans)	Nombre de quartiers fonctionnels	CMT	Quartiers atteints
0545	Holstein	Pie rouge	2	5	3	+	AG, PG, PD
2662	Brune de alpes		1	3	4	-	
8672	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	4	-	
0883	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	3	-	
30094	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4	+	AG, PG
4246	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	PD
85209	Holstein	Pie rouge	2	5	4	+	AD
4963	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	3	-	
96019	Holstein	Pie rouge	2	5	4	+	PG
9881	Holstein	Pie rouge	2	4	4	-	
0906	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
19114	Holstein	Pie rouge	2	4	4	-	
8769	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
6919	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
3876	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
59694	Holstein	Pie rouge	2	5	4	+	PG
4888	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	3	-	
1402	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
46772	Holstein	Pie rouge	2	4	4	-	
91229	Holstein	Pie rouge	2	5	4	+	AG
2637	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
93072	Holstein	Pie rouge	2	4	4	+	PD
8333	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
5591	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
8484	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
0284	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	AD
4059	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	3	-	
90075	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	4	-	
8753	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	AD
5942	Brune des alpes		1	3	4	-	

Numéro d'identification	Race	Robe	Numéro de lactation	Age (ans)	Nombre de quartiers fonctionnels	CMT	Quartiers atteints
9693	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	3	-	
1697	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
04037	Holstein	Pie rouge	1	4	4	+	PD
9654	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
5467	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	3	-	
38703	Holstein	Pie rouge	1	4	4	+	AG, PG, AD
7759	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	AD
3931	Fleckvieh	Pie rouge	2	4	4	-	
5481	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	PG
1534	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	PG
13324	Holstein	Pie rouge	2	4	4	+	AD, AG
4092	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
6463	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
5717	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
04003	Holstein	Pie noire	1	4	4	+	AG, AD, PG, PD
52684	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
72489	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	PD
5543	Holstein	Pie noire	1	4	4	-	
34655	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
61928	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	AG
0760	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	AD, AG, PG
7391	Holstein	Pie noire	2	6	4	-	
8106	Holstein	Pie noire	2	6	4	+	PD
3903	Holstein	Pie noire	2	4	4	+	AG
6876	Holstein	Pie noire	3	6	4	+	PG
0034	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
9593	Holstein	Pie noire	2	5	3	+	PD
58775	Holstein	Pie noire	2	6	4	-	
04004	Holstein	Pie noire	1	4	4	-	
0393	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
49054	Holstein	Pie noire	2	6	4	+	AG, PG
5334	Holstein	Pie noire	2	6	3	-	
2733	Holstein	Pie noire	3	6	3	-	
9310	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	PD
49329	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	PD, PG
04006	Holstein	Pie noire	1	4	3	-	

Numéro d'identification	Race	Robe	Numéro de lactation	Age (ans)	Nombre de quartiers fonctionnels	CMT	Quartiers atteints
60907	Holstein	Pie noire	1	5	4	-	
6170	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
3540	Holstein	Pie noire	2	6	4	+	AG, PG
1080	Holstein	Pie noire	3	6	4	-	
06006	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
4623	Holstein	Pie noire	2	6	4	+	PG
0757	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
01028	Holstein	Pie noire	3	7	3	+	PD
3704	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	AD
0074	Holstein	Pie noire	3	6	4	-	
1427	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	AG, AD, PD
67141	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
3446	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
04001	Holstein	Pie noire	1	3	4	-	
6879	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
04028	Holstein	Pie noire	1	3	4	+	AD

Tableau 15 : Fiche d'identification et résultat du tipool test (CMT) réalisé entre le 17/06/07 et le 03/07/07.

Numéro d'identification	Race	Robe	Numéro de lactation	Age (ans)	Nombre de quartiers fonctionnels	CMT	Quartiers atteints
7759	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
0545	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	3	+	AG, PG, PD
0284	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	AD
6463	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
3876	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4	+	PD, AG
0883	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
040029	Fleckvieh	Pie rouge	2	4	3	-	
5481	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	PD
2530	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4	+	PD
4888	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4	-	

Numéro d'identification	Race	Robe	Numéro de lactation	Age (ans)	Nombre de quartiers fonctionnels	CMT	Quartiers atteints
9693	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
1629	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	PG
3668	Holstein	Pie noire	1	4	4	-	
0034	Holstein	Pie noire	3	6	4	+	PD
0074	Holstein	Pie noire	3	6	4	-	
61928	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	AD
3540	Holstein	Pie noire	3	6	4	-	
371	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	AD, AG, PD
60907	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
6876	Holstein	Pie noire	3	6	4	+	PG
3903	Holstein	Pie noire	3	6	4	+	AG
04003	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
0673	Holstein	Pie noire	3	6	3	-	
0393	Holstein	Pie noire	2	5	4	+	AG
1080	Holstein	Pie noire	3	6	4	-	
6170	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
8303	Holstein	Pie noire	1	3	4	-	
4623	Holstein	Pie noire	2	5	4	-	
6919	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4	+	PG
1697	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4	-	
91229	Fleckvieh	Pie rouge	3	6	4	-	
5717	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	4	-	
5591	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
5467	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4	-	
46772	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	4	+	AD
85209	Fleckvieh	Pie rouge	3	6	4	-	
4963	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	3	-	
30094	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	4	+	AG, PD
3931	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
3753	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4		
59694	Fleckvieh	Pie rouge	3	6	4	+	PD
8672	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	4	-	
2173	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	4	-	
6327	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
96019	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	4	+	AG, PG, PD
0960	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4	-	

Numéro d'identification	Race	Robe	Numéro de lactation	Age (ans)	Nombre de quartiers fonctionnels	CMT	Quartiers atteints
9793	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
9654	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
4246	Fleckvieh	Pie rouge	1	4	4	-	
39541	Fleckvieh	Pie rouge	2	5	4	-	
4059	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	+	AD
8263	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
9804	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	
8333	Fleckvieh	Pie rouge	1	3	4	-	

AD : Antérieur droit.

AG : Antérieur gauche.

PD : Postérieur droit.

PG : Postérieur gauche.

Fiche signalétique de vache laitière

Numéro d'oreille

Race

Robe

Exploitation : Commune :

Statut de l'exploitation :

Date de naissance : Malformations congénitales :

Age à la première saillie..... Numéro de lactation :

Nombre de quartiers fonctionnels.. Signes particuliers :

Antécédents pathologiques :

Hygiène du logement – Propreté des vaches

Observations

Risque de contamination
Conditions plutôt
Favorables → Défavorable
(F) (D)

*Ambiance du bâtiment

	oui (F)	non (D)
Odeur d'ammoniac	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Humidité et/ou moisissures sur les parois ou au plafond	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Traces de condensation (bois noirâtre, poutres rouillées..)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Poil des animaux humide	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Zones non occupées par les vaches	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

*Appréciation de la propreté des vaches

	Bon 0 à 2		Moyen 3 à 5		Mauvais 6 à 8	
	(F)	(D)	(F)	(D)	(F)	(D)
Type d'étable	Entravée		Stabulation libre pailée		Stabulation libre à logettes	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Le couchage			>6m ² <6m ²			
Surface de couchage réelle par VL			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
La quantité de paille/VL/jour est suffisante	oui	non	oui	non	oui	non
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La sortie de salle de traite est sur béton			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
L'accès aux abreuvoirs est sur béton			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
La fréquence de curage de la stabulation est satisfaisante			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Les vaches en chaleur sont séparées			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
La fréquentation des logettes est bonne					<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Type d'étable

(F) (D)
Entravé

(F) (D)
Stabulation
libre paillé

(F) (D)
Stabulation
libre à logettes

Les dimensions des logettes est bonne

Les dimensions des stalles sont satisfaisantes

Le curage des stalles a lieu avant la traite

La distribution des fourrages a lieu après la traite

Les litières sont changées au moins 1 fois/jour

Informations générales sur le type d'élevage et sa gestion globale

		Exploitation
Nombre d'animaux	Vaches laitières	
	Vaches en tarissement	
	Veau	
	Total	
Nombre d'employés travaillant dans la gestion de l'élevage		
Nature de l'aire d'exercice		
Type de stabulation		
Mode de traite		
Nombre de traite		
Gestion de la distribution alimentaire (type d'aliments distribué et quantité)	Vaches en lactation	
	Vaches en gestation	
	Vaches en tarissement	
	Veaux	
Déparasitage (produit utilisé et fréquence de traitement)	Vaches en lactation	
	Vaches en tarissement	
	Vaches en gestation	
	Veaux	
Hygiène (produit utilisé et fréquence)	Etable	
	Mamelle	
	Chariot trayeur	

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANONYME , 1981 . Larousse Agricole.Paris. pp663-666
- ANONYME, 1995. Le point sur les mammites des vaches laitières-Institut de l'Elevage-Paris. 64p.
- ANONYME, 2003. Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale, selon les recommandations de l'OMS. Minist. Santé, popul. et Réf. Hospitalière. Alger. pp. 59-62.
- ANONYME, 2004. Instruction for use TitanIII serum protein electrophoresis Helena-Biosciences. Europe-Sunderland.
- BADINAND F. ,1994 . Maîtrise du taux cellulaire du lait. Recueil de Médecine vétérinaire : qualité du lait.
- BAREILLE N., LEMARCHAND F., 2004. La désinfection des trayons avant et après la traite : comment choisir les méthodes et les produits ? Dossier spécial : hygiène de la mamelle et traitement des mammites .Bulletin des GTV n° 24 Mars /Avril.
- BAREILLE N., SEEGER H., 2004. Les facteurs de risque des mammites. Dossier spécial : hygiène de la mamelle et traitement des mammites. Bulletin des GTV n°24.Mars/Avril.
- BARONER ,1990. Anatomie comparée des mammifères domestiques tome 4 . splanch nologie II ed.Vigot, PARIS.
- BAUDY B. ,2005 . Biologie de la lactation/lactogènes.
- BILLON P., MENARD J.L., BERNY F., GAVDIN V., 2001. La détection des mammites par mesure de conductivité électrique du lait. Bulletin de GTV « Sep/Nov ».
- BLOOD D.C., HANDERSON J.A., 1976. Médecine vétérinaire, 2eme édition française d'après la 4eme édition anglaise édition Vigot frères. Paris.
- BODDIE RL.,OWENSWE, RAYCH NIKKERSON, BODDIE SC., 2002. Germicidal activities of representatives of five different teat dip classes against three bovine.
- BORNOT BABOILLAR ,1994 . Contribution a l'étude des plans d'amélioration des taux cellulaires en élevage bovin laitier .Etude du plan qualité dans l'YONNE. Thèse Doctorat Vétérinaire.
- BOUCHOT M.C., CATEL J., CHIROL C., GARNIÈRE J., LEMENEC M., 1985. Diagnostic bactériologique des infections mammaires bovines Rec .Med .Vet.

- BOURBOUZE A., 2003. Mammite bovine. Conférence. Alger.
- BOURGEOS LEVEAA ,2006. Profil électrophorétique des laits issus des vaches laitières atteintes des mammites sub-cliniques.
- CAYOT P., LORIENT D., 1998. Structures et techno fonction des protéines du lait
- CHAFFAUX S., STEFFAN J., 1985. Prophylaxie des infections mammaires : place de l'hygiène de la traite et du traitement Rec.Méd.Vét.
- CHARRON E, 1989 : Contribution à l'étude de la prophylaxie des mammites bovines, Approche critique de l'action du groupement de défense sanitaire du nord. Thèse Doctorat vétérinaire, Ecole Nationale vétérinaire d'Alfort.
- CRAPLET C., THIBIER M., ,1973 . La vache laitière. Édition Vigot frères .Paris.
- DEDERT A., 2001. Traitement des mammites cliniques en élevage biologique.
- DERIVAUX J., ECTOR F., 1980. Physiologie de la gestation et obstétrique vétérinaire .Edition Vigot.
- DOSOGNE H., AREND J., GABRIAL A., BURVINICH, 2000. Aspect physiologique de la sécrétion laitière par la mamelle bovine.Inn,Med ,Vet.
- FAROUL B., SERIEYS F., 2001. Plan de traitement des infections mammaires et stratégie thérapeutique bulletin GTV « Sep/Nov ».
- FISCHER J.M., 1991. Conséquence des mammites sub-cliniques bovines sur la quantité et la qualité du lait dans un grand troupeau. Thèse Doctorat Vétérinaire .ENV Alfort
- FRENEY J., RENAND F., HANZEN, BALLETT C., 1994. Manuel de la bactériologie clinique .2^{ème} .Edition .El sevier.pris.
- GERLAND G.A., 1997. Technique de traite correcte ONTARIO, services de génie agricole /MAAO.
- GHOURI I., 2005. Etude des mammites sub-cliniques avec suivi des vaches pendant le tarissement. Mémoire de magister, Blida
- GIRODON S., 2001. Maîtrise des infections intra mammaires dans les troupeaux bovins laitiers : méthodes pour l'élaboration d'un plan de lutte. Thèse pour diplôme d'état vétérinaire .Nantes.
- GUILLAUME, 2004. Les milieux de culture en boîte.Univ.Lyon-www2.ac-lyon.fr.
- GUIRAND J.P., 1998. Microbiologie alimentaire .Ed .Dunod.
- HANZEN CH., 1999. Pathologies glande mammaire de la vache laitière. Aspect individuel et d'élevage 4^{ème} édition.

- HANZEN CH., 2000. Propédeutique et pathologie de la reproduction mâle et femelle, biotechnologie de la reproduction, pathologie de la glande mammaire .3^{eme} et 4^{eme} édition. Liège.
- HANZEN CH., LOUP CASTEIGNE, 2002. Pathologie infectieuse de la glande mammaire. Cours de la faculté de Médecine Vétérinaire de liège.
- HANZEN CH., 2005. Lait et production laitière. Cours de la faculté de médecine vétérinaire de liège.
- HOVE, VAARSTM, ENEVOLDSENS , 2002. Clinical parameters for assessment of udder heath in Danish Dairy Herds Acta. Vet .Scand.
- KELLY W.R., 1971. Diagnostic clinique vétérinaire maloine sa. Editeur.
- KLOB, 1975. Physiologie des animaux domestiques. Edition Vigot frères.
- LE FOLP, 1990. Inflammation mammaire et production lactée ; Enquête dans un grand troupeau laitier de la région parisienne.
- LE RAY O., 1999. Méthodes de comptage des cellules du lait et contrôle de qualité. Journées Nationales des GTV.INRA session : cellules somatiques du lait.
- LE ROUXY, 1999. Les mammites chez la vache laitière.
- MANNER Y., 2001. Méthodes de bactériologie des mammites cliniques bibliographie .Etude expérimentale d'un test bactériologique rapide. Thèse Doctorat Vétérinaire. ENV
- MEISSONIER L.E., DAVID C., CHAMSOUR A., 1992. Nutrition, maladies métaboliques et mammites chez les vaches laitières. Colloque de la société française de la laiterie. Paris.
- MEKADEMI K., 2006. Contribution à l'étude des mammites cliniques et sub cliniques dans la région de la Mitidja. Mémoire de magister, Départ. Vétérinaire, Blida
- NAUCIEL C., 2000. Bactériologie bactérienne. Ed.Masson. Paris.
- NIELEN L., FERTIER, 1992. Influence du stade de lactation sur le nombre de cellules par millilitre .Dairy sci.
- OGIER J.C., LE CORVAISIER L., DELACROIX-BUCHET A., LARROUQUE H., 2004. Actualité de la recherche agronomique. Conférence du 15 septembre.
- RAINARD P., POUTREL B., 1991. Ummnization against mastitis : a partical goal.
- RISCH L., 1978. Prophylaxie des mammites de la vache laitière par antisepsie mammaire en période sèche. Thèse Doctorat Vétérinaire .Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

- RODENBURG J., 2001. Prévention de la mammite. Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation Ontario- Canada.
- ROSENBERG J., 1979. Examen clinique des bovins.
- SAIDOUN C., SADAOUI M.A, 2006. Profil électrophorétique des laits issus de vaches atteintes de mammites sub cliniques. Mémoire Docteur Veterinaire-fac.sciences Agro-vétérinaire et biologie-Blida
- SANDHOLM M., 2005. Etude des mammites sub-cliniques avec suivi des vaches en tarissement .Thèse de Magistère.
- SARRADIN P., 1991. Les méthodes non bactériologiques de diagnostic spécifiques des mammites bovines : Actualités et perspectives. *Mammites des vaches laitières*.
- SCHALM O.W., NOOLANDER, 1957. Journal de la médecine vétérinaire American.
- SERIEYS F., 1991. Maladies des bovins .1^{er} édition France agricole.
- SERIEYS F., 1997. Le tarissement des vaches laitières .Edition France Agricole.
- SOLTNER D., 2001. La reproduction des animaux d'élevage. Zootechnie générale. Tome 1. Collection de sciences et techniques agricoles. Paris
- WATTIAUX M.A., 1999. Reproduction et sélection génétique. Institut Babcock pour la recherche et le développement international du secteur laitier. University Wisconsin Madison.