



Institut des Sciences  
Vétérinaires- Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du  
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**L'IMPACT D'UTILISATION DES PROBIOTIQUES SUR LA SANTE MAMMAIRE**

Présenté par :

**FERIH HOUCINE**

**ET  
KHEIREDDINE**

**BENAZIZA REDHOUANE**

Devant le jury :

<b>Président(e) :</b>	BERBER.A	PROFESSEUR	ISVB
<b>Examineur :</b>	ADEL.D	MCB	ISVB
<b>Examineur :</b>	YAHIMI.A	MCB	ISVB
<b>Promoteur :</b>	KAIDI. R	PROFESSEUR	ISVB
<b>Copromoteur :</b>	KALEM. A	MCB	ISVB

**Année : 2018/2019**

## **Remerciements**

*Louange à notre seigneur « ALLAH » qui nous a dotés de la merveilleuse faculté de raisonnement. Louange à notre Créateur qui nous a incités à acquérir le savoir, qui nous a donné la patience, la santé et la volonté tout au long de nos études. Ces à lui que nous adressons ses nombreuses gratitudes en premier lieu.*

*Nous tenons à remercier notre promoteur Mr. Kaidi.R et notre copromoteur Mr. Kalem.A pour avoir accepté de nous encadrer, merci pour leurs attention, leurs bienveillance et leurs appui sans faille ont été des encouragements décisifs pour mener à terme cette étude. Leur suggestions et leur soutien nous été très précieux. Nous leur exprimons notre vive et respectueuse gratitude. C'est un réel plaisir de travailler avec vous. Merci.*

*Nous remercions par anticipation les membres du jury Pr BERBER.A pour avoir accepter la présidence du jury de soutenance et les examinateur Dr. ADDEL D et Dr. YAHIMI A C'est vraiment un grand honneur pour nous. Merci*

*Nous souhaiterons également remercier tous nos enseignants de l'institut vétérinaire SAAD DAHLAB – BLIDA pour avoir participé à notre formation.*

*Nous voudrions exprimer notre reconnaissance à Dr . HOUTI.N qui a mit à notre disposition son laboratoire médical, ainsi Mr qui nous a permet de manipuler librement son élevage et qui nous a accueilli a bras ouvert.*

*Enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui ont contribués d'une quelconque manière à l'aboutissement de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Je remercie vivement Dieu et je lui rends grâce de m'avoir tout donné*

*Je dédie ce travail à :*

*Ma très chère mère qui est ma source de courage éternelle celle qui a inondée ma soif de tendresse,  
d'amour, et de compréhension.*

*Mon père qui a su me donner la force qui me manquait parfois pour aller au bout de mes ambitions,  
qui a fait preuve d'un soutien sans faille et qui a su toujours me combler d'amour*

*Merci Maman; Merci Père*

*Sans vous je ne pourrais jamais avancer*

*Que Dieu vous protège pour moi*

*Mon frère très cher à mon cœur et son épouse Faiza*

*Mes chères sœur Kheira, Amina, qu'elles étaient toujours à mes cotés*

*Mon beau frère Djilali*

*Mes sources de joie :*

*Anis, Nouha, Louay, Ouail et Layane*

*Ma grande famille*

*Mes cousins*

*Mes chers amis :*

*A mon adorable binôme Houcin,*

*Mon frère et amis qui était le meilleur compagnon tous le long de notre cursus*

*Merci pour tous les bons moments qu'on a passé ensemble dans les rires et la joie aussi les  
disputes*

*Merci pour ton soutien mais surtout pour ta compréhension*

*Merci à sa famille qui était une deuxième famille pour moi spécialement sa généreuse maman qui  
m'a considéré comme son fils*

*Merci beaucoup sa bonté son accueil, je n'oublierais jamais son encouragement et son soutien*

*Redhouane*

*Au nom d'ALLAH  
Le tout puissant et le très miséricordieux par  
La grâce du quel nous avons pu réaliser ce travail que je dédie :  
A ma chère maman  
Qui n'a jamais arrêté de m'encourager  
Merci pour toute l'énergie dépensée à la réalisation de mes rêves,  
Merci d'avoir toujours cru en moi,  
Merci pour ton amour que j'ai souvent mis à l'épreuve,  
Je t'aime de tout mon cœur.  
A mon oncle Mouhamed  
Au meilleur oncle que l'on puisse rêver avoir,  
Pour avoir toujours été là, dans les bons comme dans les mauvais moments et pour m'avoir  
toujours encouragé.  
Merci d'être toujours là pour moi, je t'aime énormément mon chère « SIDI »  
A mes sœurs et mon frère  
Dalel, Hasnaa, Amel et Hsen  
Merci pour tout les moments qu'on a passé ensemble  
A mes cousins spécialement Sidali  
A toutes mes cousines spécialement Samia, Lila, Fatiha  
A ma belle sœur Dalila  
A mes beaux frères  
A mes nièces Hadil, Malek, Joumanah, Yasmine, Mariya, Ania spécialement Salma  
A mes amis  
A mon binôme et frère Redhouane  
Hommage a ma grande  
mere Rabi Yerhamha*

## **Résumé :**

L'objectif de notre étude est d'explorer l'impact et l'effet de l'utilisation des probiotiques sur la santé mammaire, précisément sur le traitement et la prévention des mammites chez des vaches laitières sur deux périodes différentes du cycle de lactation (plein lactation et le tarissement), afin de les utiliser comme une alternative aux antibiotiques, vu les dangers et les répercussions qui en découlent sur la santé animale et publique ainsi que sur le plan économique.

La présente étude expérimentale a été accomplie dans la région de Tizi-Ouzou au niveau d'une ferme (bovins laitiers) dans laquelle, il a été retenu un effectif de 13 vaches laitières. Le travail a été réalisé du mois de février jusqu'au mois de juillet 2019 dans la région de Tizi-Rached. Deux visites mensuelles ont été effectuées et au cours desquelles nous avons recensé l'état des lieux. En premier lieu nous sommes intéressés aux scores de santé. Durant notre première visite nous avons dépisté les mammites subcliniques avec le CMT et le conductimètre avant la prise per os du Symbiovéba.

Une fois les vaches dépistées 04 protocoles thérapeutiques ont été instaurés. Deux traitements en per os en plein et hors lactation, et deux autres en intramammaires en plein et hors lactation, quoique les deux approches sont différentes. Le premier Protocole thérapeutique a fait appel à un traitement de 04 injections, à raison de 20ml chacune, matin et soir pendant 48 heures. Quant au deuxième a fait appel au principe de prévention des mammites subcliniques au tarissement, et il convient d'injecter le symbiotique dans la mamelle sans la traire pendant deux mois.

Les scores de santé sont jugés médiocres par rapport aux normes relatives aux stades physiologiques des vaches. Il ressort aussi de notre étude que le Symbiovéba en plein lactation n'a aucun effet sur les mammites subcliniques. Les mêmes résultats ont été obtenus avec la prise orale sur des vaches au tarissement. En revanche le moment le plus opportun pour le traitement et la prévention des mammites subcliniques est le tarissement mais par voie intra mammaire.

Mots clefs : probiotiques, prébiotiques, mammites subcliniques, lactation, tarissement, vache laitière.

## ملخص:

الهدف من هذا العمل دراسة تاثير المكمل الغذائي (البروبيوتك) في معالجة و الوقاية من التهاب الضرع .  
تم تنفيذ عملنا التجريبي في مزرعة للأبقار الحلوب الواقعة ببلدية تيزي راشد بولاية تيزي وزو خلال الفترة الممتدة من سبتمبر 2018 الى يونيو 2019.

تم اجراء تحليل العينات على مستوى التحاليل الطبية بخميس مليانة.  
تمت الدراسة على ثماني بقرات وثمانية عجول حديثي الولادة. تلقت كل بقرة جرعة 50مل من المكمل الغذائي (السامبيوتيك) المخففة في 50مل من الماء المعدني في فترة الإنتاج .  
تم تخصيص الجزء الأول لدراسة المكان الذي تتواجد به الأبقار (تحديد الدرجات الصحية) ومراقبة.  
قيمت الدرجات الصحية على أنها سيئة مقارنة بمعايير المراحل الفيزيولوجية للأبقار ..

## **الكلمات المفتاحية:**

، المكمل الغذائي (السامبيوتيك)، الغلوبولين المناعي.

## **Abstract**

The objective of our study is to explore the impact and the effect of probiotic use on breast health, specifically on the treatment and prevention of mastitis in dairy cows during two different periods of the lactation cycle ( full lactation and dry), to use them as an alternative to antibiotics, given the dangers and the resulting repercussions on animal and public health as well as on the economic plan.

This experimental study was carried out in the region of Tizi-Ouzou at the level of a farm (dairy cattle) in which, it was retained a sample of 11 dairy cows. The work was carried out from February until July 2019 in the region of Tizi-Rached. Two monthly visits were made and during which we did the inventory of the place condition. In the first place we were interested in health scores. During our first visit we detected subclinical mastitis with CMT and the conductivity meter before taking the bones of Symbiovéba.

Once the cows are detected, 04 therapeutic protocols have been established. Two oral and non-lactating oral and two intramammary treatments in and out of lactation, although the two approaches are different. The first therapeutic protocol used a treatment of 04 injections, at a rate of 20ml, each morning and evening for 48 hours. As for the second, the principle of prevention of subclinical mastitis has been used as a dry matter, and it is advisable to inject the symbiotic into the udder without milking it for two months.

Health scores are considered poor compared to standards for physiological states of cows. It is also clear from our study that the Symbiovéba in full lactation has no effect on the subclinical mastitis. The same results were obtained with oral intake on dry cows. On the other hand, the most opportune moment for the treatment and prevention of subclinical mastitis is dryness but by intra-mammary route.

## SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des Photos

Listes d'abréviations

Introduction

.....0  
1

### **Partie bibliographique**

Chapitre I : anatomie et physiologie de la mamelle

I. Anatomie de la mamelle .....	03
conformation externe .....	03
conformation interne... ..	03
l' appareil suspenseur .....	03
le parenchyme mammaire.....	04
Les voies d'excrétion du lait.....	04
II. Physiologie de la mamelle.....	05
Physiologie de la mamelle en lactation .....	05
Déclenchement de la lactation après mise bas.....	06
III. Moyens de défenses de la mamelle... ..	07
les défenses anatomiques .....	07
moyens immunitaires .....	07
Immunité innée .....	08
III.2.1 Immunité adaptative.....	09

Chapitre II : Généralités sur les mammites

I. Définition.....	10
II. Etiologie.....	10
III. Pathogénie.....	11
Pénétration des germes dans la mamelle.....	11



Infection de la glande.....	11
Inflammation de la mamelle et cellules du lait .....	12
Evolution.....	12
VI. Cliniques.....	13
Les mammites latentes .....	13
Mammite sub-clinique.....	13
Mammite clinique .....	13
Mammite suraiguë .....	14
VI .3.2 Mammite aiguë .....	14
VI.3.3 Mammite chronique .....	14
V. Diagnostic des mammites .....	15
Anamnèse et commémoratifs.....	15
Examen a distance .....	15
Examen rapproche .....	15
Examen clinique général .....	15
Examen rapproche de la mamelle .....	15
Examen des premiers jets .....	16
Comptage cellulaire somatique individuel (CCSI).....	16
Conductivité électrique du lait .....	17
Le Californian Mastitis Test (CMT) .....	17
Diagnostic bactériologique .....	18
Bactériologie classique .....	18
IV. Traitements .....	19
Chapitre 03 : Potentiel probiotique et mécanismes de défenses des bactéries lactiques	
I. Prébiotiques, probiotiques, symbiotiques .....	20
Les probiotiques .....	20
Les prébiotiques.....	20
Les Symbiotiques .....	21
II. Les bactéries lactiques dans les écosystèmes naturels .....	21
III. Mécanismes de défenses des bactéries lactiques .....	22
Modulation de l'invasion et de la virulence... ..	22
Modulation de l'adhésion des bactéries pathogènes .....	22

Modulation de l'invasion .....	23
Modulation de la virulence .....	24
Stimulation du système immunitaire .....	24
Effets bénéfiques de l'activité immunomodulatrice.....	24
Effets bénéfiques sur l'immunité humorale.....	25
Effets bénéfiques contre les infections bactériennes.....	25
Application des mécanismes de défenses sur la glande mammaire... ..	26

## **Partie expérimentale**

I. Objectif.....	28
II. Matériels et méthodes.....	28
Lieu et période de l'étude .....	28
Matériels .....	29
Biologiques .....	29
non biologique .....	29
Méthode.....	30
Protocol.....	30
a. Etat des lieux .....	32
b. La recherche des cores cétoniques au niveau du lait .....	36
c. Dépistage des mammites.....	36
d. La bactériologie.....	37
e. Les traitements .....	37
III. Resultats et discussion.....	38
Les scores de santé .....	38
a. BCS .....	38
b. Score de remplissage du rumen.....	38
c. Score de propreté .....	38
d. Score de boiterie.....	39
e. Score de trayons .....	39
Recherche des corps cétoniques .....	39
Le dépistage des mammites subcliniques .....	40

Bactériologie.....	41
Les traitements .....	43

#### IV. Conclusion et recommandation

## Liste des tableaux

Tableau01: Répartition des différentes populations cellulaires du lait en l'absence d'infection (Serieys 1985).....	12
Tableau 02 : Palpation de la mamelle et affection correspondante (Durel I. et al.2003).....	16
Tableau 03 : Tableau d'interprétation du test CMT .....	18
Tableau 04 : Spectre d'activité simplifié des principaux antibiotiques utilisés dans le traitement des mammites bovines (Durel L. Et al.,2003).....	19
Tableau 05 : Présentation de la ferme et taille du troupeau .....	29
Tableau 06: Interprétation des scores d'hygiène à l'échelle du troupeau (Cook, 2006).....	34
Tableau 07 : Evaluation des corps cétoniques dans le lait.....	36
Tableau 08 : Résultats des BCS des vaches.....	38
Tableau 09 : Résultats des scores de remplissage du rumen.....	38
Tableau 10 : Résultats des scores de propreté.....	38
Tableau 11 : Les résultats des scores de boiteries.....	39
Tableau 12 : Résultats des scores des trayons .....	39
Tableau 13 : Recherche des corps cétoniques dans le lait.....	39
Tableau 14 : Fréquences des cétooses subcliniques.....	40
Tableau 15 : Résultats des dépistages effectués avec le CMT et le conductimètre.....	40
Tableau 16 : Fréquences des mammites des vaches étudiées.....	41
Tableau 17 : Les résultats de la bactériologie.....	41
Tableau 18 : Résultats des traitements instaurés.....	43

## Liste des figures

Figure 1: Conformation externe de la mamelle : pointage.....	03
Figure 02 : Anatomie de la mamelle de vaches.....	04
Figure03 : Contrôle hormonal de la lactation.....	06
Figure 04: Représentation schématique des différents types de compétition pour une niche écologique entre BL et pathogènes.....	23
Figure 05: Les vaches concernées par l'étude.....	29
Figure 06 : Les traitements effectués en Per os en pleine lactation et au tarissement.....	31
Figure 07 : Les traitements intramammaires en lactation et au tarissement.....	31
Figure 08 : Evolution de la note d'état corporel selon le stade physiologique.....	32
Figure 09 : Evolution du score de remplissage du rumen.....	33
Figure 10 : Grille d'évaluation de la propreté.....	34
Figure11 : Grille d'évaluation de l'hygiène.....	34
Figure 12: Grille d'évaluation des boiteries.....	35
Figure 13 : Dépistage des mammites avec le CMT test.....	36
Figure 14 : Ensemencement (gélose)t et identification (Galerie Api) au Laboratoire.....	37

## Liste d'abréviation

- ✓ ADN : Acide désoxyribonucléique.
- ✓ AMP : peptides antimicrobiens.
- ✓ ARNm : Acide ribonucléique messenger.
- ✓ BL : bactérie lactique .
- ✓ BNBD : bovine Neutrophil beta-defensin.
- ✓ CCS : Comptage cellulaire somatique.
- ✓ CCSI : Comptage cellulaire somatique individuel.
- ✓ CD : cellules dendritiques .
- ✓ CMT : Le Californian Mastitis Test.
- ✓ FAO : Food and Agriculture Organization (Organisation d'alimentation et d'agriculture).
- ✓ GH : growthhormon (hormone de croissance).
- ✓ IFN $\gamma$  : Interféron gamma.
- ✓ IgG2 : Immunoglobuline.
- ✓ IL : Interleukine (1, 6 ou 8).
- ✓ LAP : Lingual Antimicrobial Peptide (Peptide antimicrobien lingual).
- ✓ MEC : cellules épithéliales mammaires.
- ✓ NO :monoxyde d'azote .
- ✓ OMS : organisation mondiale de la santé (WHO).
- ✓ Pamp : PathogenAssociatedMolecularPatterns(Profils moléculaires associés aux agents pathogènes).
- ✓ PNN : les polynucléaires neutrophiles .
- ✓ Prl : prolactine.
- ✓ PRR : Pattern Recognition Receptors(Récepteurs de reconnaissance de modèle).
- ✓ SCN : staphylocoques à coagulase négative.
- ✓ T3 : Hormone thyroïdienne 3.
- ✓ T4 : Hormone thyroïdienne 4.
- ✓ TAP : TrachealAntimicrobial Peptide (Peptide antimicrobien trachéal).
- ✓ TNF $\alpha$  : TumorNecrosis Factor alpha (Facteur de nécrose tumoral alpha).



## Introduction :

Le péripartum représente un moment-clé dans la vie de la vache laitière. C'est une période qui peut se définir comme allant de trois semaines avant à trois semaines après le vêlage. La transition de l'état de gestation et de non lactation à celui de lactation se révèle trop souvent désastreux pour la vache laitière.

L'importance des pertes économiques engendrées, a laissé une mise en place d'un protocole thérapeutique a grand échèle afin de limiter les répercussions drastiques qu'elles engendrent. Pour ces fins, il y avait sur terrain l'utilisation abusive des antibiotiques puisque la majorité des microorganismes sont des bactéries.

Le postpartum est la période au cours de laquelle est observée l'incidence maximale des maladies infectieuses chez la vache. Certaines, comme les métrites, sont directement liées au vêlage, d'autres en revanche n'ont pas de relation directe évidente, comme les mammites. En effet la mammite demeure une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers avec une incidence annuelle oscillant entre 20 et 50% (Pluvinage 1991;Bareille 1998 ). Ces maladies engendrent des pertes économiques élevées, et une atteinte au bien-être animal (Delacroix et al., 2000 ; Fourichon et al., 2001 ; Rushen et al., 2001).

En matière de santé publique, les risques associés à la résistance aux antibiotiques s'aggravent de plus en plus, pour cela, la limitation des risques d'antibiorésistance est devenue une priorité majeure. La Commission européenne estime qu'à l'échelle de l'Union, l'antibiorésistance est responsable annuellement du décès de 25 000 patients et d'une perte économique d'1,5 milliard d'euros (anonyme 1). Vu ces dangers, plusieurs études ont été faites au sein des écosystèmes naturels animales, en particulier celui de la mamelle, afin de bien comprendre la nature de la relation établie entre le microbiote mammaire et le pathogène avec l'hôte pour trouver une alternative a l'utilisation des antibiotiques et résoudre l'antibiorésistance. Cela suggère une amélioration des connaissances du microbiote mammaire qui permettra d'identifier les bactéries bénéfiques ou délétères. Il est probable que, comme dans les écosystèmes vaginaux et intestinaux, certaines composantes de la flore bactérienne du trayon puissent agir comme une flore de compétition contre les bactéries pathogènes et faire partie intégrante des mécanismes de défense au niveau du trayon (Fragkou et al., 2007). Parmi ces souches à effet positif sur l'hôte, certaines pourraient être utilisées comme probiotique mammaire (Espeche et al., 2009 ; Nader-Macias et al., 2008). Cependant, des études *in vivo* sur modèles bovins sont nécessaires pour étudier l'impact réel de la présence et de la composition



de ce microbiote sur la réponse immunitaire et son rôle barrière. Des études pareilles, nécessitent des protocoles expérimentaux qui visent à établir avec précision la relation entre probiotique, microbiote mammaire et enfin le microbe afin de savoir comment et quand est ce que le probiotique doit être administré.

Pour cela notre travail qui se compose de deux parties l'une est bibliographique, qui traite elle-même trois chapitres, le premier est consacré à des rappels anatomo-physiologiques de la mamelle ainsi que les mécanismes de défense naturels, le second détaille les affections mammaires, et enfin le dernier représente l'alternative proposée ayant pour objectif d'éclaircir la notion du symbiotique ainsi sa relation avec le microbiote mammaire et son rôle barrière. La deuxième partie concerne l'expérimentation. Cette dernière vise à démontrer l'impact réel des probiotiques sur le plan curatif ainsi que préventif vis-à-vis des mammites en procédant par deux périodes qui sont distinctes, l'une en plein lactation qui a pour objectif surtout de mettre en évidence l'effet curatif des probiotiques, bien que l'autre c'est pendant la période sèche de la vache afin de pouvoir attester le rôle préventif de ces derniers.

## Chapitre 01

### Anatomie et physiologie de la mamelle

#### I. Anatomie de la mamelle :

##### I.1 conformation externe :

La vache possède deux paires de mamelles inguinales soit quatre quartiers formant le pis. Les mamelles droites et gauches sont séparées dans le plan médian par un sillon inter-mammaire profond et bien marqué. Les mamelles ipsilatérales sont séparées par un sillon transverse large et peu profond. Chaque mamelle est composée d'un corps prolongé ventralement par le trayon percé par un seul ostium papillaire. La conformation externe de la mamelle a une importance particulière car celle-ci peut prédisposer au développement de mammites. Ainsi, la conformation de la mamelle rentre dans le choix des critères de sélection et fait l'objet d'un pointage (Figure 1) permettant d'établir les index génétiques (Bischoff et al., 2016).

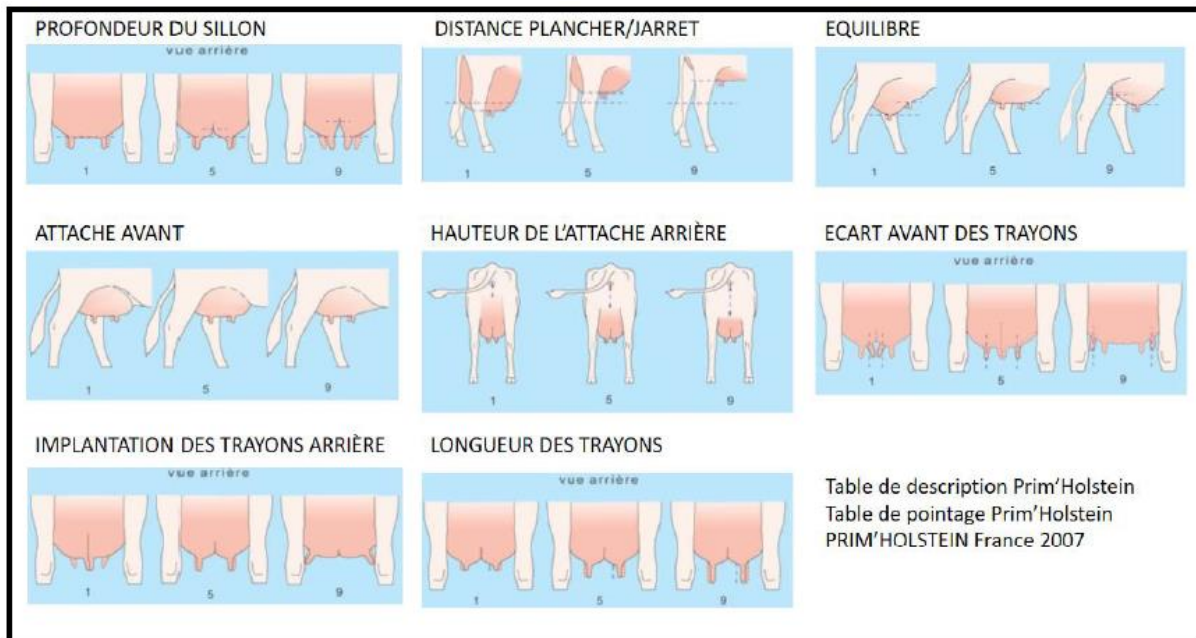


Figure 1: Conformation externe de la mamelle : pointage ( anonyme 2)

##### I.2 Conformation interne

###### I.2.1 L'appareil suspenseur

Il s'agit d'un sac fibro-élastique qui entoure le parenchyme mammaire et l'attache à la tunique abdominale. Il est composé de deux parties. Sa partie latérale, en position superficielle, est formée de lamelles latérales qui attachent le quartier à la tunique abdominale et se porte loin en arrière jusqu'à la région périnéale. Sa partie médiale, plus profonde, est constituée de lamelles médiales qui forment un septum et s'attachent à la ligne blanche. Très développé chez la vache, ce septum forme le ligament suspenseur du pis. Ce ligament peut se rompre et

provoque alors le décrochage de la mamelle, entraînant bien souvent des mammites et la réforme précoce de l'animal (Dernis Clémence.,2015).

### 1.2.2 Le parenchyme mammaire :

Le parenchyme mammaire possède deux lobes, eux-mêmes divisés en lobules formés d'acini ou d'alvéoles glandulaires. Chaque alvéole est constituée principalement d'une couche monocellulaire (lactocytes) qui est le lieu de synthèse du lait. Les lactocytes entourent la lumière alvéolaire et reposent sur un réseau de cellules myoépithéliales. Chaque alvéole irrigue la citerne de la glande via des canaux galactophores. La masse glandulaire épithéliale est une structure transitoire, elle ne se forme qu'au cours de la gestation, elle produit le lait pendant la période de lactation et elle disparaît après le sevrage ou le tarissement (Bouchard Damien., 2013).

### 1.2.3 Les voies d'excrétion du lait :

Le lait sécrété dans la lumière des alvéoles mammaires est collecté par différents degrés de conduits qui aboutissent aux conduits lactifères débouchant dans un très vaste et unique sinus lactifère. C'est dans cette cavité que s'accumule une partie du lait avant son éjection (Barone R., 2001).

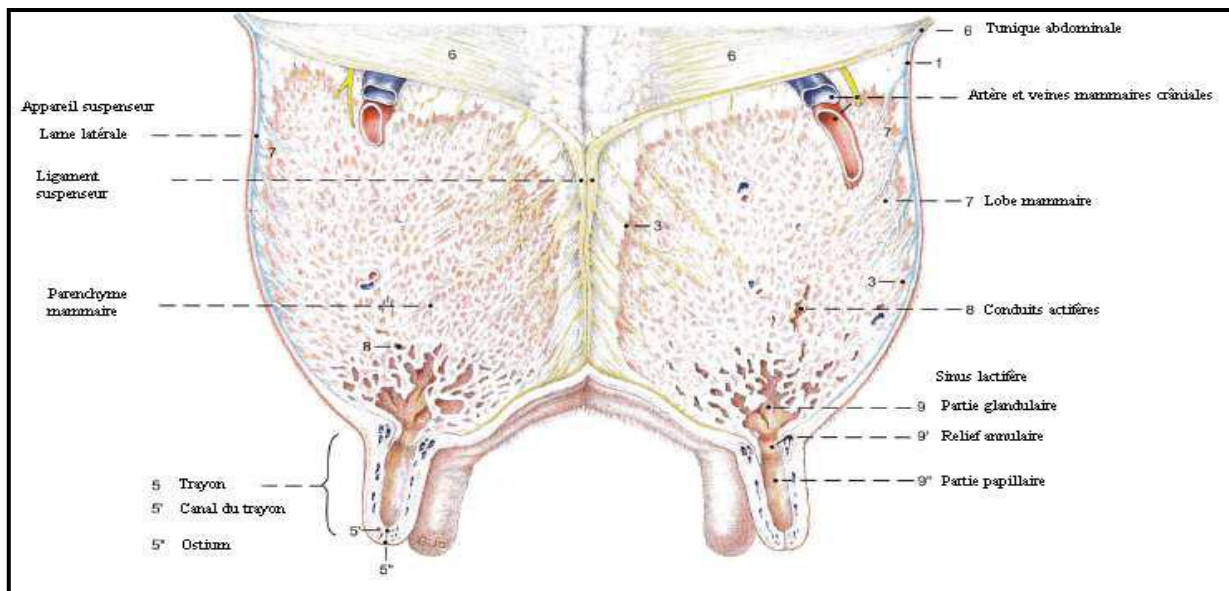


Figure 02 : Anatomie de la mamelle de vache (Pavaux., 1992).

## II. Physiologie de la mamelle :

### II.1 Physiologie de la mamelle en lactation

Dans la mamelle, la production de lait est répartie entre les différentes parties de la glande. 60% du lait avant la traite se trouve dans le parenchyme mammaire et au sein des alvéoles, 20% dans les canaux galactophores et 20% dans la citerne (Bruckmaier et Blum, 1998). L'épithélium sécrétoire des acini est composé par les lactocytes et délimite une lumière où est sécrété le lait. Un lactocyte est capable de sécréter son poids en protéines, en lactose et en lipides chaque jour. L'éjection du lait alvéolaire dans les canaux galactophores se fait sous l'action de la contraction des cellules myoépithéliales, sous la stimulation de l'ocytocine. Sans l'action de l'ocytocine, seuls les 20% de lait situé dans la citerne seraient donc collectés. Lors d'un contact (stimulation lors de la tétée du veau ou par la main du trayeur), les corpuscules sensibles au contact, à la pression et à la température libèrent un influx nerveux vers le système nerveux central. L'hypophyse ainsi stimulée sécrète de l'ocytocine qui va conduire à la contraction des cellules myoépithéliales des acini et ainsi stimuler l'excrétion du lait. L'ocytocine stimule également la contraction des cellules myoépithéliales le long des canaux lactifères, ce qui facilite l'écoulement du lait (des alvéoles vers la citerne).

Au niveau du sphincter, les muscles se relâchent, après stimulation, non pas sous l'effet de l'ocytocine, mais sous contrôle sympathique. Entre les traites, l'activité sympathique augmente, ce qui conduit à une augmentation du tonus du sphincter. Lors de la traite, le tonus diminue et le diamètre de l'ostium augmente, passant de 0,4 mm à 0,8 mm, puis sous l'effet de la poussée du lait, le diamètre atteint 1 à 2 mm (Gourreau, 1995 ; Bruckmaier et Blum, 1998).

Le système adrénérgique a non seulement un effet sur la dilatation du sphincter, mais aussi sur la rétention du lait. En situation de stress, le système nerveux sympathique, qui innerve la médullosurrénale, conduit à la production excessive d'adrénaline. L'adrénaline, une fois sécrétée, stimule les récepteur alpha des cellules myoépithéliales le long des canaux lactifères et s'oppose à l'effet de l'ocytocine. Cela conduit à une rétention du lait originaire du parenchyme, sans action sur le lait déjà présent dans la citerne, seule une fraction du lait est récolté (la fraction contenue dans la citerne). Du lait reste alors dans la mamelle, conduisant à une production inférieure et par conséquent à une diminution des revenus de l'éleveur mais aussi favorisant l'infection de la glande, en offrant aux bactéries un milieu riche dans lequel vont se développer.

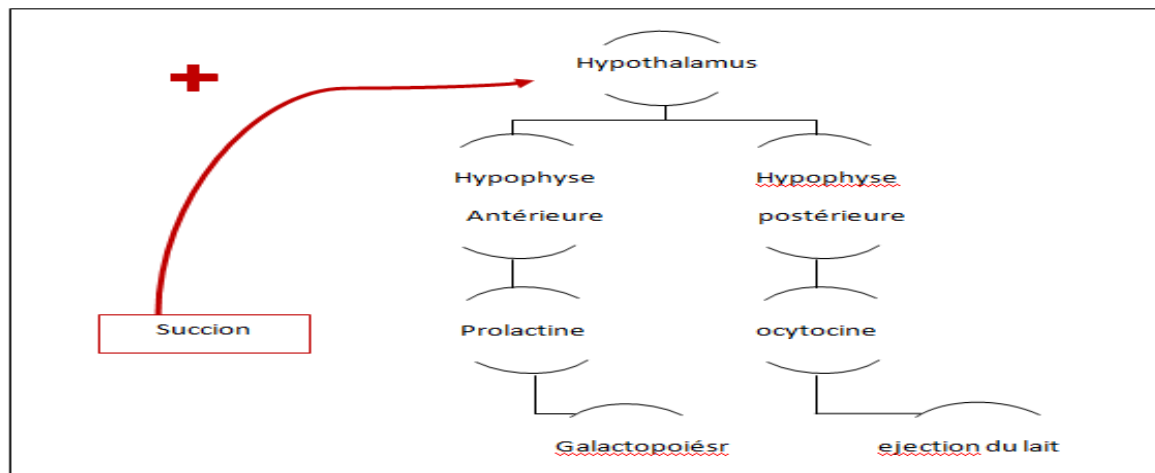


Figure03 : Contrôle hormonal de la lactation (Mathilde Bourachot ., 2017)

## II.2 Déclenchement de la lactation après mise bas

Le déclenchement de la sécrétion lactée est en lien avec la parturition. Les variations hormonales quelques jours à quelques heures avant la parturition sont à l'origine du début de la sécrétion lactée.

Chez la vache, trois semaines avant la parturition, la concentration en progestérone (sécrétion par le corps jaune et le placenta) commence à décliner puis elle chute brutalement 1 à 2 jours avant le vêlage. La progestérone exerce un double effet inhibiteur sur la lactation. Le premier agit sur les cellules épithéliales mammaires, où elle empêche le signal prolactinique de stimuler l'expression des gènes des protéines du lait. Le second correspond au freinage de la sécrétion de prolactine (Prl) au niveau hypophysaire. Cet effet inhibiteur est donc levé autour du vêlage. Ce mécanisme est indispensable à l'induction de la lactogenèse par la prolactine.

Parallèlement, la concentration en œstradiol augmente au cours de la gestation et chute brutalement après le vêlage. La forte concentration en œstradiol initie la lactation en stimulant directement les cellules lactotropes et somatotropes de l'hypophyse, et donc la synthèse et la sécrétion de prolactine et de GH (hormone de croissance). De plus, l'œstradiol permet l'augmentation du nombre de récepteurs à la prolactine sur les cellules épithéliales mammaires. Ainsi plus la concentration en œstrogènes est élevée plus les pics de prolactine sont importants. Cette synergie permet l'intensification de la montée laiteuse ou lactogenèse.

D'autres hormones interviennent également. La sécrétion de glucocorticoïdes, lors du vêlage, participe à la différenciation des cellules épithéliales mammaires, à la synthèse des acides gras, du lactose et des caséines. Ces hormones potentialisent les effets de la prolactine. Cette dernière participe au maintien de l'activité de synthèse des protéines et du lactose pendant la lactation chez la vache. On peut également citer la GH, qui permet de maintenir la

population de cellules épithéliales mammaires en augmentant leur prolifération et en évitant leur apoptose, et les hormones thyroïdiennes (T3, T4) qui par leur action entretiennent la lactation par augmentation du métabolisme de base (Martinet J. et Houdebine L-M., (1993) ; Chastant-Maillard et Akers R.M., 2002 ; Martinet J. et S. et Saint-Dizier M. dir., 2014).

Il est à noter l'action inhibitrice de certaines hormones comme la somatostatine (Inhibition de la sécrétion de GH), la dopamine (Inhibition de la sécrétion de Prl) et l'adrénaline (inhibition du réflexe d'éjection du lait) sur la production laitière (AKERS R.M. 2002).

### III. Moyens de défenses de la mamelle

#### III.1 les défenses anatomiques

La glande mammaire est protégée par une variété de mécanismes de défense (Nickerson, 1987). Parmi eux, il existe une protection physique assurée par un sphincter musculaire qui assure l'étanchéité de l'entrée du canal du trayon. L'anatomie même du canal contribue à la protection : l'épithélium kératinisé permet de limiter l'attachement des bactéries pathogènes réduisant leur implantation et leur progression (Paulrud, 2005 ; Krömker et Friedrich, 2009 ). De plus, à la base de la glande entre la citerne du trayon et la citerne de la glande, la Rosette de Furstenberg est un repliement muqueux enrichi en leucocytes qui participe grandement à la protection vis-à-vis du pathogène présent. Le trayon est le seul orifice entre le système interne de sécrétion et l'environnement et constitue donc la seule voie d'accès naturel possible pour les agents pathogènes (outre une lésion cutanée au niveau de la glande). Plusieurs défenses ou barrières existent pour limiter la pénétration des agents pathogènes. En dehors des barrières physiques, de nombreuses substances bactériostatiques (acides myristique, palmitoléique et linoléique) et de nombreux facteurs solubles (lactoferrine, lysozyme, lactoperoxydase) assurent la première ligne de défense antibactérienne.

#### III.2 moyens immunitaires

Le système immunitaire se décompose en deux types d'immunité : l'immunité innée et l'immunité adaptative. Pour lutter contre les infections intramammaires, le lait doit tendre à ressembler aux exsudats inflammatoires des autres tissus. Ceci est compliqué du fait de son volume et de sa composition. L'effet de dilution et le blocage des facteurs immuns limitent la capacité de la mamelle à réagir à une infection. Il faut donc un nombre plus important de cellules de l'immunité et de facteurs humoraux (Francoz et al., 2014).

### III.2.1 Immunité innée

L'immunité innée est un système sans mémoire et la réponse engendrée contre les agents pathogènes est non spécifique. Plusieurs molécules et cellules interviennent (Royster E., Wagner S. 2015). Cette dernière est la première ligne de défense de la mamelle avant l'activation de l'immunité adaptative.

Parmi les molécules on peut citer :

➤ Le lysozyme : une des premières molécules découvertes, qui limite la croissance des micro-organismes pouvant hydrolyser le lactose (Royster E., Wagner S. (2015)), et qui lyse la paroi bactérienne des Gram positive et la membrane externe des Gram négative (Bradley A.J., 2002).

➤ lactoferrine : Ses propriétés sont nombreuses : antibactérienne, immunomodulante, anti-adhésive et chélatrice du fer (Weisen J-P., 1974). Ainsi, elle limite la croissance des bactéries aérobies. Son action est faible sur les streptocoques et les bactéries anaérobies (Bradley A.J. (2002) Or, récemment, il a été montré qu'elle limite l'invasion des cellules mammaires par *Str. dysgalactiae* en se liant à sa surface et en empêchant son adhésion aux cellules mammaires (O'halloran F. et al., 2016). Elle peut aussi désorganiser les membranes bactériennes et peut se complexer avec les immunoglobulines (Mestecky et al., 2015).

➤ Le monoxyde d'azote (NO) est une petite molécule lipophile. Il est sécrété par les macrophages et les polynucléaires neutrophiles (PNN). Il participe à l'explosion oxydative. Sa toxicité varie selon sa concentration, à de faibles concentrations, c'est une molécule de signalement et à de fortes concentrations, c'est un agent toxique puissant se liant aux biomolécules de l'agent pathogène comme son ADN, ses protéines et ses lipides. Récemment, il a été observé que le NO a une activité antibactérienne contre les *S. aureus* multi-résistants responsables de mammites bovines (Cardozo V.F. et al.,2014).

➤ Systèmes enzymatiques : Des systèmes enzymatiques comme les lacto-péroxydases permettent d'inhiber l'adhésion des agents pathogènes, d'amorcer la phagocytose et la destruction des agents pathogènes, et enfin de moduler la production de cytokines durant l'infection (Mestecky.J et al., 2015).L'association des lacto-péroxydases avec le thiocyanate et le peroxyde d'hydrogène a une action bactériostatique contre les bactéries Gram positive et une action bactéricide contre les bactéries Gram négative (PyÖrÄIÄ S.,2002).

Parmi les cellules de l'immunité innée on retrouve :

➤ Les cellules épithéliales :

Qui, en desquamant, évitent l'adhésion des bactéries (Mestecky et al., 2015).

➤ Les macrophages :

Phagocytent les pathogènes et présentent leurs antigènes aux lymphocytes activant le système immunitaire adaptatif (Mestecky et al., 2015).

➤ Les PNN :

Dont cinq fonctions sont nécessaires à la défense de la mamelle : La margination, la migration, la phagocytose, l'explosion oxydative et la dégranulation. Lorsque les PNN sont marginés, ils peuvent détecter les signes d'inflammation du tissu sous-jacent (Mestecky et al., 2015). Il est à noter que l'action des PNN dans le lait est plus faible que dans le sang. Ceci est dû à la présence de caséine et de matière grasse (Mestecky et al., 2015). Les PNN peuvent représenter plus de 90% des cellules somatiques du lait (Benjamin a.L. et al., 2015 ; Bertrand C., 2015 ).

### III.2.2 Immunité adaptative :

L'immunité adaptative est un système avec mémoire et la réponse engendrée contre les agents pathogènes est spécifique. Elle est possible grâce à la présence de cellules présentatrices d'antigènes et des cellules T effectrices. Selon les cytokines sécrétées, ces cellules T effectrices vont se différencier. Ainsi, deux réponses immunitaires sont possibles ; la réponse immunitaire Th1 de type cellulaire et la réponse immunitaire Th2 de type humorale (Burton J.L., Erskine R.J., 2003). Classiquement, la réponse immunitaire attendue et efficace pour lutter contre un agent pathogène responsable de mammite, est la réponse de type Th1.

La réponse immunitaire de type Th1 correspond à une inflammation aiguë avec IFN- $\gamma$ . Elle facilite la production d'IgG2 par les lymphocytes B et l'activation de la phagocytose par les PNN recrutés dans le sang. La sécrétion d'immunoglobulines dans la mamelle, et plus particulièrement les IgG2, est corrélée significativement à la présence de mammites cliniques. Elles augmentent 4 à 12 heures après le début de l'infection (Burton et al., 2003). A l'opposé, la réponse de type Th2 est caractéristique des vaches en période péripartum. Cette période est à risque pour le développement de mammites cliniques plus ou moins sévères.



## Chapitre 02

### Généralités sur les mammites

#### I. Définition

Une mammite est l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle. C'est la réaction de défense contre une agression locale, la plupart du temps d'origine infectieuse. Elle peut aussi être due à une infection d'origine virale, ou fongique ou encore résulter de changements physiologiques, d'un traumatisme ou d'une lésion (Oviedo-boyso et al., 2007).

#### II. Etiologie

La grande majorité des mammites sont d'origine infectieuse. Cependant on note l'existence de mammites d'origine traumatique, physique ou chimique.

➤ Les espèces pathogènes majeures : Au sein de la famille des pathogènes majeurs impliqués dans les mammites bovines, on distingue les mammites contagieuses (réservoir mammaire) des mammites environnementales (réservoir environnemental : litière, sol). Les pathogènes contagieux sont essentiellement des bactéries capables de survivre et proliférer au niveau de la peau, des trayons et des pis. Ces pathogènes peuvent se transmettre à d'autres quartiers et d'autres animaux, les principaux représentants de cette catégorie sont *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae* et *Streptococcus uberis* (Oviedo-Boyso et al., 2007, Bidaud et al., 2007, Bradley et al., 2007). Les pathogènes environnementaux sont présents dans l'environnement de l'animal (*S. uberis* est à la fois un pathogène avec un réservoir environnemental et mammaire) (Oviedo-Boyso et al., 2007). Ces pathogènes sont considérés comme opportunistes. Ils pénètrent la glande via le canal du trayon et induisent une inflammation mais sont souvent vite éliminés. De nombreux microorganismes peuvent être considérés comme pathogènes environnementaux mais les principaux représentants sont *Streptococcus uberis* et *Escherichia coli* (Bradley et al., 2002).

➤ Les espèces pathogènes mineures : Sont exceptionnellement responsables de mammites cliniques, mais plutôt de mammites sub-cliniques. Ce sont essentiellement les staphylocoques à coagulase négative (CNS) (*S. xylosus*, *S. chromogenes*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*).

➤ Les pathogènes occasionnels : La majorité des cas de mammites résultent d'une infection bactérienne impliquant les espèces citées ci-dessus. Cependant de nombreux autres microorganismes peuvent pénétrer la glande mammaire et déclencher une inflammation et donc une mammite. Parmi ces pathogènes occasionnels se retrouvent des bactéries mais aussi des virus et certaines levures. Les pathogènes occasionnels les mieux identifiés sont les mycoplasmes, qui peuvent engendrer des mammites cliniques ou subcliniques (González et Wilson, 2003 ; Fox L.K., 2009 ; 2012).

### III. Pathogénie :

#### III.1 Pénétration des germes dans la mamelle :

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

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

#### III.2 Infection de la glande :

Normalement la traite par son effet de vidange concourt à l'élimination des germes qui ont pu pénétrer dans le sinus lactifère. Les germes qui provoquent l'infection ont donc des propriétés d'adhésion à l'épithélium du sinus lactifère. On a réussi à montrer in vivo que *S.aureus* et *Str. agalactiae* adhèrent aux cellules épithéliales de la glande mammaire.

Ensuite les germes se multiplient rapidement et envahissent le tissu mammaire. La prolifération des germes s'accompagne de la production d'enzymes et de toxines qui vont léser le tissu sécrétoire et provoquer une modification qualitative du lait produit. Les bactéries se multiplient d'autant plus facilement que la réaction de défense cellulaire de la glande est longue à se mettre en place. En effet la glande mammaire saine renferme normalement peu de cellules. Les cellules les plus nombreuses alors sont les macrophages, mais leur aptitude à phagocyter les

germes pathogènes est diminuée par rapport aux monocytes sanguins, à cause de la phagocytose des débris cellulaires et des globules de gras du lait.

### III.3 Inflammation de la mamelle et cellules du lait :

La mamelle saine contient peu de cellules, ce sont principalement des macrophages (66-88%) ainsi que des lymphocytes, des cellules épithéliales desquamées, et quelques Polynucléaires (Serieys 1985) :

Tableau 01: Répartition des différentes populations cellulaires du lait en l'absence d'infection (Serieys 1985)

Type cellulaire	Pourcentage
<b>Macrophage</b>	66-88
<b>Polynucléaires neutrophiles</b>	0-11
<b>Lymphocytes</b>	10-27
<b>Cellules épithéliales</b>	0-7

Lors d'infection, les lésions du tissu sécrétoire provoquent l'afflux massif de polynucléaires neutrophiles sanguins dans la glande par diapédèse. Ces derniers deviennent alors le type de cellule majoritaire dans le lait. Ils représentent de 50% des cellules lors d'une infection modérée, à 90% lors de mammite aiguë. La numération de l'ensemble des cellules somatiques du lait constitue une bonne estimation du nombre de polynucléaires neutrophiles et donc de l'état inflammatoire de la glande mammaire. Les polynucléaires, de par leur capacité de phagocytose, constituent la principale défense de la mamelle contre les infections. Cependant comme pour les macrophages leur capacité à phagocyter les germes est réduite par rapport aux polynucléaires sanguins.

### III.4 Evolution :

Suivant le pouvoir pathogène du micro-organisme et l'efficacité des réactions de défense de la glande, l'évolution se fait :

- Vers la guérison spontanée, lorsque la réponse cellulaire est de bonne qualité.
- Vers l'extension de l'inflammation et de l'infection, lorsque le micro-organisme est très pathogène. On observe alors des manifestations cliniques de mammite.

➤ Vers la persistance de l'infection dans la glande, on parle de mammite subclinique, un équilibre s'installe entre l'infection et la réponse inflammatoire de la glande. Lorsque l'équilibre se rompt l'expression clinique reprend.

## VI. Clinique

### VI.1. Les mammites latentes :

Lors d'une mammite latente, la vache n'exprime pas de signe clinique et son lait n'est pas modifié. En effet, malgré la présence du pathogène la mamelle ne réagit pas. Ces mammites sont pourtant extrêmement dangereuses puisqu'elles peuvent entraîner rapidement une contamination de tout le troupeau laitier sans que l'éleveur ne s'en aperçoive (Remy, 2010).

### VI.2 Mammite subclinique :

Elle est par définition asymptomatique : la sécrétion paraît macroscopiquement normale même en début de traite, les signes locaux et généraux sont absents. Seul l'examen du lait au laboratoire permet de mettre en évidence des modifications chimiques (baisse du taux de caséines et de lactose, augmentation du taux de chlorures), bactériologiques (présence de germes) et surtout cellulaire du lait, en l'occurrence augmentation des cellules somatiques du lait (surtout les polynucléaires neutrophiles). Les germes en causes sont essentiellement à Gram positif (staphylocoques et streptocoques). Les mammites subcliniques, beaucoup plus fréquentes que les mammites cliniques, sont insidieuses et responsables de pertes économiques importantes par une baisse de la production laitière et une augmentation des comptages cellulaires du troupeau (Remy, 2010).

### VI.3 Mammite clinique :

La définition d'une mammite clinique est la présence de symptômes fonctionnels, c'est-à-dire une modification de la sécrétion de la glande. La quantité et l'aspect du lait changent, reflétant une perturbation des fonctions de sécrétion et filtration. En plus de ces symptômes fonctionnels, on peut observer des symptômes locaux classiques de l'inflammation : rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur de la mamelle ou du quartier atteint. On parle alors de mammite aiguë. Lors de mammite chronique, le quartier s'atrophie et se sclérose.

Enfin parfois on observe des symptômes généraux liés à une intoxication. Ils se traduisent par une altération de l'état général (abattement, anorexie, hyperthermie, arumination, déshydratation, troubles locomoteur). On parle alors de mammite suraiguë.

Une mammite clinique peut devenir subclinique si le traitement administré ne parvient pas à éliminer la totalité des pathogènes impliqués (Remy, 2010).

#### VI.3.1 Mammite suraiguë :

D'apparition brutale et d'évolution rapide, elle se caractérise par une sécrétion lactée très modifiée (aspect séreux, aqueux, hémorragique, sanieux ou purulent) voire interrompue par la douleur. Les signes locaux sont très violents, la mamelle très congestionnée. L'état général est fortement altéré et l'évolution vers la mort est fréquente en l'absence de traitement précoce.

On distingue deux formes caractéristiques :

- La mammite paraplégique : la vache est en décubitus, en syndrome fébrile (tachycardie, tachypnée, hyperthermie), parfois en diarrhée. Les symptômes locaux peuvent être frustrés, il convient alors de faire le diagnostic différentiel avec une fièvre vitulaire en observant la sécrétion qui est rare et séreuse. Des entérobactéries sont le plus souvent associées à ce type de mammite.
- La mammite gangreneuse : l'inflammation du quartier atteint est très violente, puis suivie d'une nécrose avec apparition d'un sillon disjoncteur séparant les tissus sains des tissus nécrosés qui devient : froids, noirâtres à gris plombé. La sécrétion est rare et nauséabonde. L'évolution est rapide, conduit à la mort en l'absence de traitement. Le germe mis en cause est *S. aureus*, parfois associé à des anaérobies (Remy, 2010).

#### VI.3.2 Mammite aiguë :

Le quartier est enflammé, la sécrétion est modifiée avec des grumeaux. Les symptômes généraux sont peu marqués. L'évolution est plus lente et ne se solde pas par la mort de l'animal. En l'absence de traitement l'évolution vers la chronicité est fréquente. Tous les germes potentiellement responsables de mammite peuvent être isolés (Remy, 2010).

#### VI.3.3 Mammite chronique :

Elle est le plus souvent secondaire à une mammite aiguë. Les symptômes locaux sont discrets, lentement le quartier évolue vers l'atrophie du fait de l'installation de zones de fibrose cicatricielle. La mamelle devient noueuse à la palpation. La sécrétion n'est souvent modifiée qu'en début de traite. L'évolution est lente vers le tarissement de la sécrétion au bout de plusieurs mois. Tous les germes donnant des mammites peuvent être isolés (Remy, 2010).

## V. Diagnostic des mammites

### V.1 Anamnèse et commémoratifs :

Le recueil de l'anamnèse et des commémoratifs est une partie toute aussi importante que l'examen clinique en tant que tel. Par exemple connaître la parité et le stade de lactation de l'animal permet de formuler des hypothèses. Si l'animal est une génisse, la probabilité que sa mammité soit due à des SCN est plus grande. Alors que si nous avons à faire à une vache, la probabilité que sa mammité soit due à *S. aureus* est plus grande. Et il en est de même pour le stade de lactation. Un animal en début de lactation sera plus sujet à une infection issue du tarissement avec *E. coli* et *Str. uberis*. Alors que plus la lactation est avancée, plus on s'attend à retrouver du *S. aureus*. De plus, la description des signes cliniques observés dès le début de la mammité peut déjà orienter le diagnostic étiologique (Bourachot Mathilde., 2017)

### V.2 Examen a distance

L'examen à distance permet d'apprécier l'attitude de l'animal. Sa posture, le fait qu'il rumine ou non. Sont de bons indices pour savoir s'il y a atteinte ou non de son état général. De plus, une mammité peut se voir à distance par l'observation d'une déformation de la mamelle ou d'un changement de coloration (Fogsgaard k.k. et al., 2012; Fogsgaard k.k., Bennedsgaard t.w. et Herskin m.s.,2015).

### V.3 Examen rapproché :

#### V.3.1 Examen clinique général

L'examen clinique général est l'étape nécessaire et essentielle à l'évaluation complète de l'animal. Tous les appareils doivent être examinés (appareil cardio-respiratoire, appareil digestif, appareil urinaire et appareil reproducteur). Il permet de faire l'état des lieux et de détecter une possible maladie concomitante à la mammité. Il permet aussi d'établir un pronostic lors d'atteinte générale de l'animal.

#### V.3.2 Examen rapproche de la mamelle

Cette observation permet d'évaluer les caractéristiques physiques de la mamelle. L'examen visuel peut mettre en évidence (Durel I. et al.2003) des asymétries de quartiers, des couleurs anormales, des excroissances cutanées ou tissulaires au niveau du canal du trayon.

La palpation de la mamelle est préférablement effectuée sur une mamelle vide (Durel I. et al.2003). Les affections varient selon la consistance de cette dernière qui permet d’orienter le diagnostic et d’établir un pronostic (Tableau 02).

Tableau 02 : Palpation de la mamelle et affection correspondante (Durel I. et al.2003).

Signes cliniques	Affection
Mobilité de la peau diminuée	Œ dème, mammite aiguë, tissu cicatriciel
Empreinte persistante sur la peau	Œ dème, mammite aiguë
Canal du trayon épaissi, dur	Hyperkératose, tissu cicatriciel, inflammation du trayon
Excroissance tissulaire dans le trayon ou dans la citerne	inflammation du trayon, hyperplasie, inflammation chronique
Asymétrie des quartiers	Atrophie, mammite aiguë, hématomes
Nodules dans le tissu glandulaire	Anciens processus inflammatoires, abcès, hématomes
Indurations, cordes dans le tissu glandulaire	Mammite chronique
Adénomégalie	Mammite grave, abcès d’enkystement, leucose, tuberculose

### V.3.3 Examen des premiers jets

Lors de cet examen, on évalue l’aspect du lait. Il faut donc prendre en compte (Durel I. et al.2003) : sa couleur, son odeur, sa consistance et sa viscosité ainsi que son homogénéité.

### V.4 Comptage cellulaire somatique individuel (CCSI) :

Le comptage cellulaire somatique individuel (CCSI) correspond au nombre de cellules somatiques (cellules épithéliales mammaires, macrophages, PNN et lymphocytes) présentes dans le lait de mélange des quatre quartiers. Ces données sont disponibles suite au contrôle laitier et permettent un suivi mensuel des CCSI de chaque vache d’un troupeau. Ce type de mesure a un inconvénient majeur : la dilution des cellules somatiques. En effet, le comptage s’effectue sur un lait de mélange des quatre quartiers. Ainsi, la présence d’un comptage élevé sur un quartier peut être masquée si les trois autres quartiers ont un comptage bas. Donc un CCSI élevé permet de conclure à une probable infection mais un CCSI bas ne permet pas

d'exclure une infection (Serieys F.,1985 ; Durel I. et al.2003). Il faut tout de même noter que, malgré la guérison bactériologique, le comptage cellulaire peut rester élevé. Il est donc recommandé d'utiliser les CCSI sur plusieurs mois pour pouvoir apprécier le statut réel de l'animal (Durel I. et al.2003).

Actuellement le contrôle laitier classe les animaux en trois catégories (Serieys F., 1985) :

- Les vaches saines : tous les contrôles sont inférieurs à 300 000 cellules/mL
- Les vaches infectées : au moins deux des cinq derniers contrôles sont supérieurs à 800000 cellules/mL.
- Les vaches douteuses : tous les autres cas.

#### V.5 Conductivité électrique du lait

Dans le cas d'une infection et d'une inflammation du quartier, l'épithélium sécrétoire est altéré. L'activité de certaines enzymes impliquées dans la production du lait est alors diminuée, l'épithélium alvéolaire est endommagé, les jonctions intercellulaires sont plus lâches et la perméabilité capillaire est augmentée. Ces phénomènes sont à l'origine de l'augmentation des concentrations en ions Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> et une diminution de la concentration en ions K<sup>+</sup> dans le lait. Ceci a pour effet d'augmenter la conductivité du lait. Le changement de conductivité apparaît quelques heures avant l'apparition des signes cliniques. La mesure de la variation de conductivité reste peu performante pour le diagnostic des mammites subcliniques. En effet, utilisée seule, la conductivité a une sensibilité et une spécificité insuffisantes pour un dépistage fiable de mammites (Lopez s. et al.,2015 ; Guiouillier I.,2016 ).

#### V.6 Le Californian Mastitis Test (CMT) :

Le CMT est un test réalisable au chevet de l'animal, il permet d'évaluer semi-quantitativement les cellules somatiques présentes dans le lait.

Pour le réaliser, il faut d'abord éliminer les premiers jets. Dans un plateau possédant quatre coupelles, il faut recueillir environ 2 mL de lait de chaque quartier puis ajouter l'équivalent du réactif. Ce réactif est composé d'un détergent (solution de Teepol à 10%) et d'un colorant (le pourpre de bromocrésol). Il va réagir avec l'ADN contenu dans les cellules somatiques. Après agitation du mélange pendant quelques secondes, la lecture du résultat est effectuée en observant l'aspect du précipité (augmentation de la viscosité) (Serieys.F., 1985 ; Durel.L et al., 2003).



L'interprétation des résultats est facilitée par le tableau (Tableau 03) disponible sur le flacon de réactif.

Tableau 03 : Tableau d'interprétation du test CMT :

Lecture Aspect	Interprétation	
	Infection	Comptage cellulaire moyen (x10 <sup>3</sup> /ml)
Consistance normale couleur gris	Absente	100
Léger gel disparaissant après agitation couleur gris violacé	Risque d'infection par un pathogène mineur	300
Léger gel persistant, filaments grumeleux couleur gris violet	Mammite Subclinique	900
Epaississement immédiat, amas visqueux au fond de la coupelle	Mammite subclinique	2700
Gel épais, consistance du blanc d'œuf couleur violet foncé	Mammite subclinique à la limite de l'expression clinique	8100

## V.7. Diagnostic bactériologique

### V.7.1 Bactériologie classique

Le grand intérêt de la bactériologie est de permettre la confirmation ou l'infirmité du diagnostic de suspicion, ou autres diagnostics indirects précédemment établis ; car, dans l'absolu, c'est bien l'examen complémentaire de choix pour connaître avec un très haut degré de certitude l'étiologie d'une mammite. Toutefois, les résultats obtenus ne sont pas définitifs car la situation peut évoluer en quelques semaines. Les analyses bactériologiques ne sont donc qu'un élément de diagnostic complémentaire et ne dispensent pas de l'analyse des facteurs de risque présents dans l'élevage (conditions de logement, de traite et d'hygiène générale et des comptages cellulaires individuels) (FAROULT et *al.*, 2003). En général, les résultats bactériologiques sont suffisants pour permettre la mise en place des moyens thérapeutiques adaptés.

## VI. Traitements

### ❖ Raisonnement du traitement

Ayant connaissance des particularités des différents germes responsables de mammites, il faut se poser certaines questions avant de commencer un traitement antibiotique :

- Est-ce un nouveau cas ou une rechute ?
- Est-ce un cas sévère ?
- Combien de quartiers sont affectés ?
- Quel est le stade de lactation de l'animal ?
- D'autres maladies intercurrentes sont-elles présentes ?

Le choix de mettre un traitement en place ou non peut être facilité en prenant en compte plusieurs facteurs. L'âge ou la parité, le stade de lactation, le CCS, l'historique de mammites, la sensibilité des antibiotiques sont les critères de choix majoritaires. Ils permettent de décider si le cas est éligible à un traitement et si les bénéfices sont supérieurs aux pertes (Royster E., Wagner S., 2015).

Tableau 04 : Spectre d'activité simplifié des principaux antibiotiques utilisés dans le traitement des mammites bovines (Durel L. Et al., 2003).

Germes responsables de mammites	S. aureus $\beta$ -lactamases+	S. aureus $\beta$ -lactamases-	Str. uberis	Gram -
Pénicillines G	+	+	+	-
Pénicillines M	-	+	+	-
Pénicillines A	+	+	+	+
Céphalosporines	+/-	+	+	+/-
Tétracyclines	+	+	+/-	+
Aminosides	+	+	-	+
Macrolides/ Lincosamides	+	+	+	-
Fluoroquinolones	+	+	-	+
Colistine	-	-	-	+
Sulfamides	+/-	+/-	+/-	+/-

Chapitre 03 :  
Probiotique Prébiotiques, Symbiotiques

I. Notions de Probiotiques, Prébiotiques, Symbiotiques :

I.1 Les probiotiques :

Le terme «probiotique» vient de deux mots grecs («pro» et «bios») et signifie «à vie». Le premier concept de probiotiques a probablement été suggéré en 1907 par Mechnikov (Leslie KE, Petersson-Wolfe CS2012), qui a noté que les bactéries pouvaient avoir une influence bénéfique sur la microflore intestinale naturelle. Avec le temps, la définition de probiotique a été largement modifiée. La définition actuelle formulée en 2002 par les experts des groupes de travail de la FAO et de l'OMS indique que les probiotiques sont «des souches vivantes de microorganismes rigoureusement sélectionnés qui, lorsqu'elles sont administrées en quantités suffisantes, confèrent un avantage pour la santé à l'hôte» (Frola ID, Pellegrino MS et *al.*, 2012).

Les probiotiques sont des ingrédients alimentaires non digestibles qui stimulent de manière sélective au niveau du colon la multiplication ou l'activité d'un nombre limité de groupes bactériens susceptibles d'améliorer la physiologie. Les probiotiques sont des cultures microbiennes vivantes qui ingérées, améliorent l'état de santé général de l'hôte au-delà des propriétés nutritionnelles de base (FAO/WHO 2002). Ils sont utilisés dans l'élevage pour la première fois en 1925 (Beach et al). Il s'agit principalement des bactéries et des levures présentes ou réintroduites dans la flore intestinale résidente. Les microorganismes les plus utilisés sont les bactéries appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium* mais également aux genres *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Bacillus* et *Escherichia*. Des levures comme *Saccharomyces boulardii* sont également des probiotiques (Gaggia et al., 2010 ; hayek et Ibrahim, 2013).

I.2 Les prébiotiques :

Le terme de prébiotiques a été introduit par Gibson et Roberfroid en 1995. Il désigne un ingrédient alimentaire non digestible par l'hôte mais stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité de certaines bactéries du côlon comme par exemple les bifidobactéries.

Pour qu'un ingrédient alimentaire soit classer comme prébiotiques, il doit :

1. Ni être hydrolysé, ni être absorbé dans la partie haute du tube digestif

2. Etre un substrat sélectif d'une ou plusieurs bactéries bénéfiques, commensales du côlon, dont la croissance est alors stimulée et / ou le métabolisme activé
3. en conséquence, induire une composition plus saine de la flore colique. Les prébiotiques peuvent être des sucres non digestibles, des peptides ou des protéines et même des lipides qui, en raison de leur structure ne sont pas absorbés dans l'intestin grêle (Dacosta, 2001).

### I.3 Les symbiotiques

Un probiotique peut être associé à un substrat, qui lui est spécifique, appartenant à la classe des prébiotiques. Le mélange ainsi constitué est alors appelé symbiotique : un fructo-oligosaccharide peut être associé de cette manière à une souche de bifidobactéries ou bien du lactitol à un lactobacille (Gibson, 1995).

## II. Les bactéries lactiques dans les écosystèmes naturels :

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène de bactéries (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*) qui ont pour principal trait commun, la capacité de produire de l'acide lactique comme produit final de fermentation des sucres. En plus de l'effet santé, chez l'animal, la supplémentation en probiotique a aussi pour but d'améliorer la croissance (efficacité alimentaire, gain de poids, production de lait). Au sein des bactéries lactiques, les lactobacilles sont de loin les plus utilisés en tant que probiotiques. Les bactéries lactiques sont retrouvées dans différents écosystèmes, dans des proportions variables. On les retrouve ainsi dans les écosystèmes intestinaux (en faible concentration) et vaginaux (en flore dominante).

Les micro-organismes majoritaires du tractus vaginal bovin sont *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., les entérocoques et les entérobactéries (Rodríguez et al., 2011). Un travail a été mené sur la présence du genre *Lactobacillus* montrant l'importance de cette espèce dans la croissance et la santé des animaux (Otero et al., 2000) .Elles y jouent un rôle bénéfique et peuvent être réintroduites sous forme de probiotiques dans les écosystèmes concernés.

De nombreux agents pathogènes sont capables d'envahir les tissus de l'hôte. Cette capacité, appelée invasion, s'appuie sur les mécanismes de colonisation (adhérence et multiplication), la production de substances extracellulaires, l'internalisation (invasion des tissus) et sa capacité à surmonter ou contourner les défenses de l'hôte. Il a été montré que les bactéries lactiques peuvent moduler à la fois l'expression des gènes de l'hôte (par exemple, la

réponse immunitaire, la synthèse de mucus (Jonsson et al., 2001 ; Lebeer et al., 2012) mais aussi l'expression des gènes des bactéries pathogènes (Even et al., 2009). Les bactéries lactiques peuvent également interférer avec l'invasion du pathogène en modulant et ou en compromettant la colonisation et l'invasion des tissus de l'hôte, dans les écosystèmes vaginal et intestinal (Nader-Macias et al., 2008 ; Reid G., 2002 ; Ouwehand., 2002). Les différents modes de compétition comprennent l'interaction directe avec l'agent pathogène avant qu'il n'interagisse avec les cellules de l'hôte (co-agrégation) et la compétition pour un site d'attachement cellulaire (exclusion, concurrence, déplacement). L'utilisation de BL pour lutter contre les bactéries pathogènes ne repose pas seulement sur leurs propriétés bactériostatiques ou bactériolytiques ou bien leurs capacités à concourir pour des niches y compris les tissus de l'hôte mais également sur la capacité à moduler la virulence en inhibant l'expression des facteurs de virulence ou en titrant des toxines. Ces différentes propriétés ne sont pas exclusives les unes des autres et il peut y avoir une synergie dans ces modes d'action qui assure l'effet bénéfique de la souche probiotique sélectionnée.

### III. Mécanismes de défenses des bactéries lactiques

Les probiotiques ont des effets sur les performances des animaux et leur santé notamment par une action antidiarrhéique, par l'inhibition des bactéries indésirables, la neutralisation des produits toxiques, l'amélioration de la digestibilité et la stimulation des mécanismes immunitaires. Les mammites, les métrites et les diarrhées sont les maladies les plus communes aux animaux d'élevages. Elles peuvent affecter la productivité mais aussi la fertilité des animaux. La majorité des études sur les probiotiques portent sur l'écosystème intestinal ou vaginal chez l'Homme. Très peu d'études mettent en évidence les mécanismes impliqués dans le potentiel inhibiteur des bactéries lactiques probiotiques chez l'animal. Leur usage est, pour l'heure, essentiellement ciblé sur le tube digestif de l'hôte. Cependant depuis quelques années l'usage de probiotiques dans d'autres écosystèmes (vaginal, mammaire) est évalué ouvrant de nouvelles possibilités thérapeutiques (contre les métrites ou les mammites) (Bouchard., 2013).

#### III.1 Modulation de l'invasion et de la virulence

##### III.1.1 Modulation de l'adhésion des bactéries pathogènes

L'adhésion aux tissus épithéliaux est une étape primordiale lors de la colonisation de l'hôte pour la plupart des pathogènes. Les BL probiotiques présentent un réel intérêt dans leur propriété à réduire l'adhésion de microorganismes aux différentes muqueuses, notamment les

muqueuses intestinales et vaginales (figure 06). Ces dernières peuvent agir sur les muqueuses en :

- Stimulant la production de mucus
- Entrant en compétition pour les sites d'adhésion des pathogènes
- Agissant directement sur le pathogène lui-même en bloquant son interaction avec l'épithélium, notamment par leur capacité d'auto- et de co-agrégation (figure06).

Il est en effet prouvé que les espèces de *Lactobacillus* comme *L. acidophilus* peuvent inhiber l'adhésion de souches de *E. coli* uropathogènes à diverses surfaces (Velraeds et al., 1998). Ils peuvent même, comme montré pour une souche de *L. rhamnosus*, déplacer un biofilm d'*E. coli* uropathogène (McMillan et al. 2011).

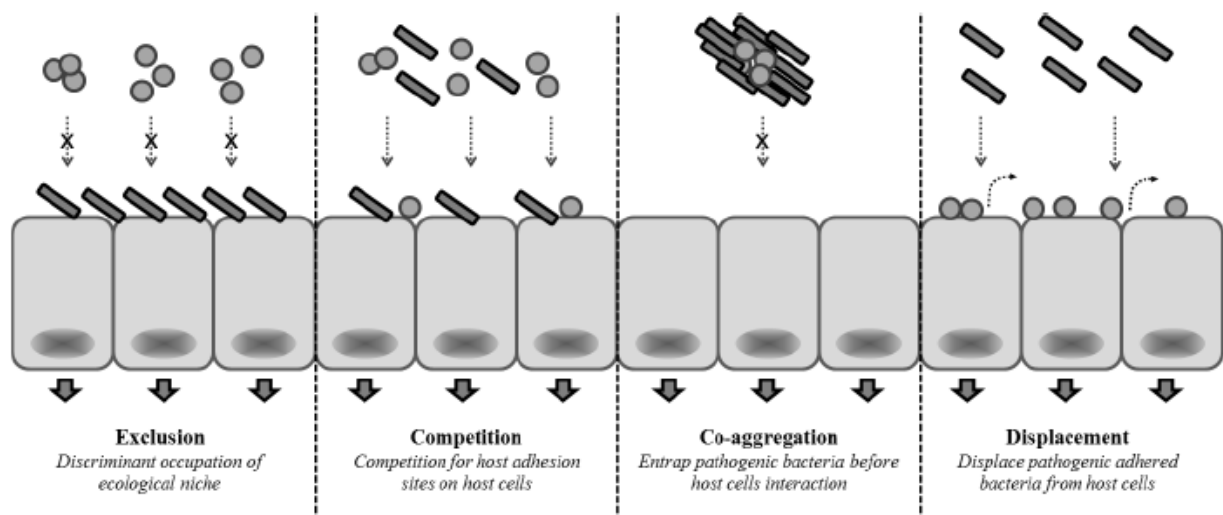


Figure :04 : Représentation schématique des différents types de compétition pour une niche écologique entre BL et pathogènes (Bouchard.D., 2013).

### III.1.2. Modulation de l'invasion

L'invasion des tissus de l'hôte repose majoritairement sur l'interaction entre des substances extracellulaires de la bactérie avec des molécules complémentaires présentes à la surface de l'épithélium. La capacité des BL à empêcher l'invasion de pathogènes est donc souvent testée, en particulier contre les agents pathogènes intestinaux (figure 06).

Plusieurs tests effectués (exclusion, compétition, déplacement) ont montré que *L. acidophilus* ATCC4356 réduit l'adhésion et l'invasion de *C. Jejuni* aux cellules Caco-2, mettant en jeu des mécanismes de déplacement et d'exclusion (Campana et al., 2012). Les lignées cellulaires productrices de mucus, telles que HT29MTXE12 (E12), fournissent un modèle plus réaliste *in vitro* pour les infections à *C. jejuni*.

Des bactéries lactiques probiotiques ont pu atténuer l'adhésion et l'invasion de *C. jejuni* aux cellules E12. Les conditions requises pour l'inhibition semblent être la viabilité et la précolonisation cellulaire des bactéries lactiques probiotiques (Alemka et al. 2010).

### III.1.3. Modulation de la virulence

Outre la capacité à bloquer l'adhésion et l'internalisation, les bactéries lactiques ont la capacité de moduler la virulence des souches pathogènes en réprimant l'expression de facteurs de virulences (Toxines, enzymes) (figure 06).

En 2002, Gan et al. décrivent l'utilisation d'un probiotique, *L. reuteri* RC-14 pour inhiber les infections causées par *S. aureus* lors d'implants chirurgicaux (Gan et al., 2002). La capacité d'inhibition de *L. reuteri* RC-14 semble liée à sa capacité à sécréter un biosurfactant qui inhibe significativement l'adhésion de *S. aureus* à l'implant.

Une co-culture de bactéries lactobacilles avec *S. aureus* sur une matrice fromagère modèle ou en conditions de laboratoire (culture liquide sur milieu chimiquement défini), *L. lactis* est capable de modifier l'expression de plusieurs facteurs de virulence staphylococciques et certaines entérotoxines, qui sont responsables d'intoxications alimentaires (Cretenet et al., 2011 ; Even et al., 2009).

### III.2. Stimulation du système immunitaire :

Parmi les allégations santé conférées aux souches probiotiques les propriétés d'immunomodulation des BL sont souvent mises en avant. Ces allégations suscitent de grands intérêts suite au lien établi entre l'altération de la microflore de l'hôte, les maladies autoimmunes et l'émergence des allergies. De nombreuses études relatent le rôle crucial du microbiote dans le maintien de l'homéostasie chez l'adulte et la maturation du système immunitaire chez l'enfant (Reid G., 1999 ; Ouwehand et al., 2002 ; Martin et al., 2004).

#### III .2.1. Effets bénéfiques de l'activité immunomodulatrice :

L'immunité innée constitue non seulement la première ligne de défense de l'organisme mais elle joue aussi un rôle crucial dans le développement de la réponse adaptative. Dans un modèle murin, plusieurs souches de *Lactobacillus* améliorent l'immunité innée et adaptative par l'activation de la maturation des cellules dendritiques (Christensen et al., 2002). Les lactobacilles peuvent aussi stimuler la synthèse de cytokines proinflammatoires par les cellules professionnelles notamment le « tumor necrosis factor alpha » (TNF $\alpha$ ), l'interféron gamma

(IFN $\gamma$ ) et l'interleukine 12 (IL12) assurant un maintien de l'homéostasie immunitaire (Nagafuchi et al., 1999 ; Perdigon et al., 1999 ; 2002 ; Maassen et al., 2000 ; Cross et al., 2002 ) (Fig. 07).

### III.2.2. Effets bénéfiques sur l'immunité humorale :

La première ligne de défense adaptative au niveau des muqueuses est la présence de tissus lymphoïdes associés à l'intestin. Ces tissus forment des « plaques de Peyers » où les microorganismes pathogènes interagissent avec les cellules spécialisées du système immunitaire et induisent une réponse mucoale (Mac Donal et al., 2003). Les lactobacilles peuvent induire une réponse locale ou systémique par l'activation des cellules dendritiques qui stimulent le relargage de cytokines proinflammatoires et la synthèse d'Immunoglobuline A dans la lumière intestinale (Mohamadzadeh et al., 2005; Vinderola et al., 2006). Il a ainsi été montré que les lactobacilles modulent l'immunité de la muqueuse intestinale, l'expression de cytokines, la maturation des cellules immunitaires et la prolifération lymphocytaire (Drakes et al., 2004).

### III.2.3. Effets bénéfiques contre les infections bactériennes :

Les probiotiques affectent positivement l'hôte en améliorant la balance de la flore intestinale (Fuller et al., 1989). Les probiotiques permettent de créer des conditions défavorables pour le développement des flores pathogènes (Mauntzairis et al., 2007) et à l'inverse favorisent les microorganismes bénéfiques, qui améliorent à leur tour la santé de l'hôte. De nombreuses souches de lactobacilles présentent un effet protecteur pour l'organisme hôte contre une variété d'entéropathogènes incluant *Salmonella* (Gill et al., 2001), *C. difficile* (Billes et al., 1995), *L. monocytogenes* (deWaard et al., 2002) et *E. coli* (Medellin-Pena et Griffith, 2009). Ces effets protecteurs sont conférés par la maturation des cellules du système immunitaire permettant une élimination plus efficace du pathogène. Un autre système de défense est la production de peptides antimicrobiens. Les peptides antimicrobiens sont majoritairement produits par les granulocytes, les monocytes, les macrophages, les plaquettes et cellules épithéliales. Chez les bovins, des dizaines de ces peptides ont été décrits comme les  $\beta$ -défensines (BNBD), le « Lingual Antimicrobial Peptide » (LAP) ou le « Tracheal Antimicrobial Peptide » (TAP) (Selsted et al., 1993 ; Stolzenberg et al., 1997 ; Yount et al., 1999 ; Rainard et Riollot, 2006 ; Alva-Murillo et al., 2012). Plusieurs  $\beta$ - défensines sont produites dans la glande mammaire saine (LAP, TAP et BNBD3). Les défensines ont une activité antibactérienne puissante contre *S. aureus* et *E. coli in vitro* (Selsted et al., 1993). Lors de mammites



staphylococciques, il a été montré une augmentation de l'expression de l'ARNm de la  $\beta$ -defensin 5 de la glande mammaire. Dans la glande mammaire, le rôle de protection de ces peptides reste cependant à documenter. Quelques études *in vitro* ont ainsi identifié que des acides gras à courte chaîne ont la capacité de stimuler la production de peptides antimicrobiens dans la glande mammaire et d'induire une diminution de l'internalisation de *S. aureus* dans les tissus de l'hôte (Ochoa-Zarzosa et al., 2009 ; Alva-Murillo et al., 2012).

#### III.2.4. Effets bénéfiques sur l'intégrité de l'épithélium :

Une barrière épithéliale intacte est essentielle afin d'empêcher la pénétration d'antigènes dans la lumière intestinale ou mammaire par exemple (Mac Cormick et al., 2003). La barrière épithéliale est composée de la membrane cellulaire apicale et des jonctions serrées intercellulaires. La perturbation de la barrière épithéliale mène à une augmentation de la perméabilité et permet la pénétration des antigènes qui induisent une inflammation. Plusieurs bactéries pathogènes peuvent envahir les cellules épithéliales et détruire les jonctions cellulaires (Pizarro-Cerda et Cossart, 2006). Les probiotiques ont démontré leurs capacités à protéger la fonction de barrière épithéliale mais les mécanismes impliqués ne sont pas bien compris. Le prétraitement de cellules épithéliales par des souches de *Lactobacillus* empêche notamment la perte d'intégrité de la barrière induite par les pathogènes notamment en augmentant l'expression des protéines (Parassol, et al., 2005 ; Sherman et al., 2005 ; Johnson-Henry et al., 2008 ).

#### III.3 Application des mécanismes de défenses sur la glande mammaire :

Il existe plusieurs catégories de mécanismes possibles sous-tendant les effets des probiotiques (Sanders ME et al ; Lebeer.S et al 2018).

- La modulation de la composition et de l'activité du microbiote indigène, qui peut résulter d'un antagonisme direct par la production de métabolites ou de bactériocines, ou d'une exclusion compétitive par la concurrence pour les nutriments.
- L'amélioration de la fonction de barrière épithéliale, impliquant soit l'amélioration de l'efficacité de la jonction étroite, soit le renouvellement des cellules épithéliales, et l'induction de peptides antimicrobiens (AMP).
- La modulation du système immunitaire en général. Par le biais d'interactions avec les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques et l'apprentissage de l'immunité innée, les probiotiques peuvent également moduler l'équilibre des cellules T

auxiliaires et avoir ainsi un impact sur les réponses immunitaires adaptatives. Les interactions avec le système immunitaire sont très diverses et souvent spécifiques à une souche (Lebeer.S 2010).

- La modulation des réponses systémiques, par exemple via des modulations endocriniennes ou du système nerveux central via des médiateurs de signalisation. Comment ces mécanismes pourraient s'appliquer au contrôle de la mammité ? C'est-à-dire à la modulation bénéfique de la réponse de la MG à l'infection par des bactéries pathogènes, à l'exception de la modulation des réponses systémiques, pour laquelle aucune donnée n'est disponible.

Dans la glande mammaire, ces modes d'action sont limités par l'absence d'une couche de mucus tapissant l'épithélium. L'épithélium de la glande mammaire n'héberge pas de cellules spécialisées homologues des cellules caliciformes ou de Paneth. En conséquence, les bactéries sont potentiellement en contact direct avec l'épithélium et peuvent interagir avec les cellules constituant la muqueuse de l'épithélium, c'est-à-dire les cellules épithéliales mammaires (MEC) et les leucocytes intra épithéliaux associés. Tous les probiotiques peuvent interagir avec les récepteurs de reconnaissance de formes (PRR) du système immunitaire inné. Les bactéries probiotiques, les commensaux et les agents pathogènes partagent la plupart de leurs MAMP. Les attributs qui distinguent ces différentes classes de bactéries sont les variations subtiles dans la composition et la structure de leurs MAMP, la présentation de ces composés à la surface bactérienne et la présence de facteurs de virulence (Lebeer.S., 2010). L'interaction entre les probiotiques et les épithéliums dépend à la fois de la combinaison de MAMP et de l'expression des PRR par les cellules épithéliales et les leucocytes intra épithéliaux tels que les cellules dendritiques (CD) ou d'autres cellules présentant l'antigène

## Partie Expérimentale

La maîtrise des mammites en élevage reste un enjeu sanitaire majeur. Malgré le nombre important d'études dédiées à cette maladie, aucune stratégie de lutte efficace n'a été mise au point. L'antibiothérapie reste la solution principalement utilisée, mais son efficacité est toutefois limitée. La recherche scientifique développe de nouvelles stratégies de lutte, préventive ou curative, dans le but de réduire la consommation d'antibiotiques, consommation associée à des problèmes de sécurité sanitaire et surtout à l'émergence de germes résistants.

L'une des alternatives émergentes est la lutte biologique et en particulier l'utilisation de bactéries issues de l'écosystème mammaire pour empêcher l'implantation ou le développement du pathogène. L'amélioration des connaissances sur les interactions entre le pathogène, les tissus de la glande mammaire et le microbiote endogène permettra d'envisager de nouvelles approches thérapeutiques.

### I. Objectif :

- ✚ Etudier l'impact des probiotiques sur la santé mammaire chez les vaches laitières.
- ✚ Etudier leurs effets sur les mammites subcliniques durant la lactation ainsi qu'au tarissement.
- ✚ Choisir le moment opportun pour le traitement des mammites par les probiotiques en substitution aux antibiotique.

### II. Matériels et méthodes :

#### II.1. Lieu et période de l'étude :

Notre étude a été réalisée au niveau d'une exploitation privée contenant un effectif de 28 têtes dont 13 vaches laitières (11 de race Montbéliard et 2 Flechvieh) (tableau 05). Les vaches en stabulation semi entravée recevant une ration alimentaire de base contenant du foin ordinaire et du trèfle, complémentée par du concentré a raison de 8kg/vache/jour sans tenir compte du stade physiologique. L'eau est rationnée à raison de 2 fois par jour. Durant la traite l'éleveur utilise, pour le nettoyage de la mamelle, de l'eau froide, et pour l'essuyage une seule serviette appliquée pour toutes les vaches. Le cheptel est dépisté contre la brucellose et la tuberculose, il est déparasité vacciné contre la rage et la fièvre aphteuse.

L'exploitation est située dans la région de Timezguida ; localité sise à Tizi-Rached, Wilaya de Tizi-Ouzou sur une période allant de février à juillet 2019.

Les analyses bactériologiques sont effectuées dans un Laboratoire d'analyse microbiologique privé situé à KHEMIS MILIANA.

## II.2 Matériels :

### II.2.1 Biologiques

Onze (11) vaches parmi les treize (13) ont fait l'objet de l'étude. Deux ont été exclut de l'expérimentation puisqu'elles sont orientées à l'engraissement. Le lait prélevé a servi pour le dépistage des mammites et des cétooses subcliniques.

Tableau 05 : Présentation de la ferme et taille du troupeau :

Vaches	Effectifs n = 28			
	Génisses	Taurillons	Veaux	Velles
13	01	04	08	02



Figure 05 : Les vaches concernées par l'étude.

### II.2.2 Non biologique :

✚ Le symbiotique utilisé :

Il s'agit d'un additif purement biologique a usage vétérinaire dénommé SYMBIOVEBA. Il est composé de plantes médicinales (TARAXACUM OFFICINALIS, ZINGIBER OFFICINALIS), de Probiotiques (Lactobacillus & de Saccharomyces Cervicie), d'enzymes, d'extraits végétaux et de l'eau. Le SYMBIOVEBA est une solution liquide, à administrer par voie orale une fois par mois. Il est important de le diluer dans de l'eau minérale à raison de 50 ml dans 50 ml d'eau pour chaque vache. Il a un effet énergisant, il augmente l'appétit, la production laitière et les gains

de poids. Il renforce la flore intestinale par les bons microorganismes afin d'améliorer la digestion des aliments et augmenter les apports nutritifs, pour une production de lait de qualité. Il est utilisé dans la prévention des troubles digestifs chez l'animal (constipation, diarrhée, météorisation, acidose, alcalose) en rééquilibrant le PH du rumen.

- ✚ Pour les prélèvements : flacons stériles
- ✚ Pour le dépistage des mammites subcliniques : CMT, coupelles, conductimètre, papier PH
- ✚ Pour le dépistage des cétooses subcliniques : Ketotest (évaluer le taux des corps cétoniques dans le lait).
- ✚ Pour les analyses bactériologiques : Boites de pétri, géloses, Galeries api, étuve, bec benzène.

### II.3 Méthodes :

#### II.3.1 Protocole :

Notre travail est résumé dans l'organigramme suivant et les figures 06 et 07 . Pour ce faire, il était nécessaire, en premier lieu, d'évaluer l'état des lieux et sanitaire des vaches.

PARTIE EXPERIMENTALE				
LES SCORES DE SANTE	DEPISTAGE DE MAMMITES			
BCS	TRT 01		TRT 02	TRT 03
SCORE DE REMPLISSAGE DU RMEN	PLEINE LACTATION		HORS LACTATION	HORS LACTATION
SCORE DE PROPETE	SYMIOVEBA	SYMBIOVEBA	SYMBIOVEBA	SYMBIOVEBA
SCORE DE BOITERIE	PER OS	INTRA MAMMAIRE	PER OS	INTRA MAMMAIRE
SCORE DES TRAYONS	50 ml par vache	20 ml par quartier	50 ml par vache	20 ml par quartier

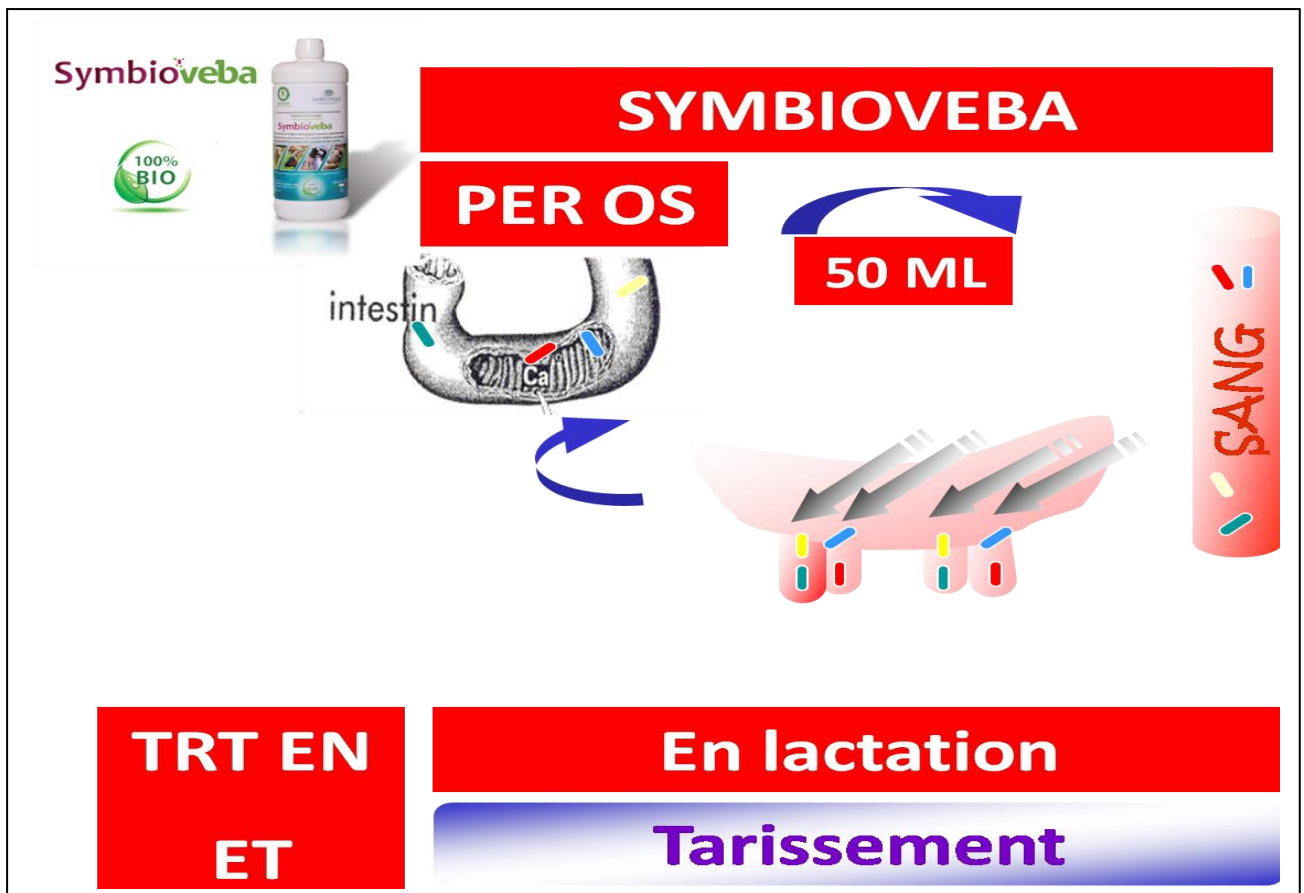


Figure 06 : Les traitements effectués en Per os en pleine lactation et au tarissement.

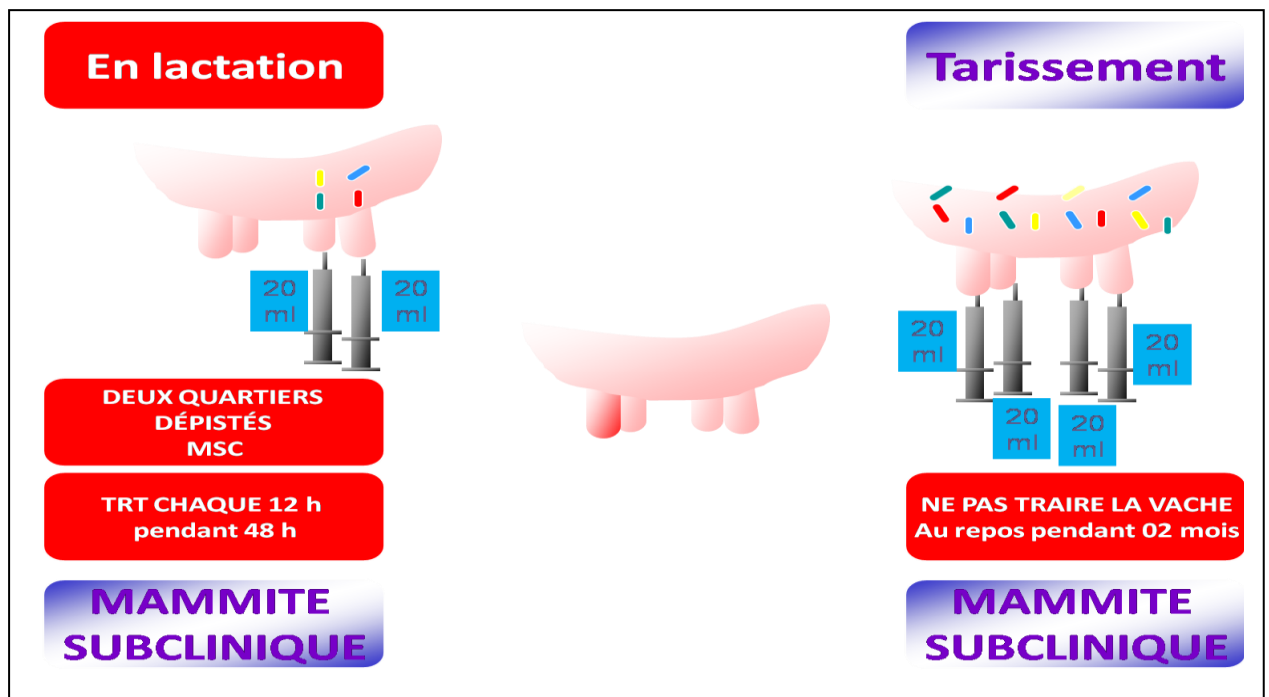


Figure 07: Les traitements intramammaires en lactation et au tarissement

a. Etat des lieux :

Pour cela, nous avons évalué les différents scores de santé ; à savoir la note d'état corporelle, le remplissage du rumen, la propreté et l'hygiène, le score des boîtes ainsi que ceux relatifs aux trayons.

🚦 Appréciation de l'état corporel :

L'appréciation de l'état corporel est une technique subjective qui permet d'estimer la balance énergétique en évaluant les graisses sous cutanée dans des régions anatomiques bien distinctes qui sont les apophyses épineuses et transverses, des vertèbres lombaires, tubérosité iliaque et ischiatique, la base de la queue et la ligne du dos. La couverture tissulaire peut être estimée par palpation et/ou l'inspection. L'évaluation est faite sur une échelle allant de 1 (cachectique) à 5 (trop grasse) (Bazin, 1984).

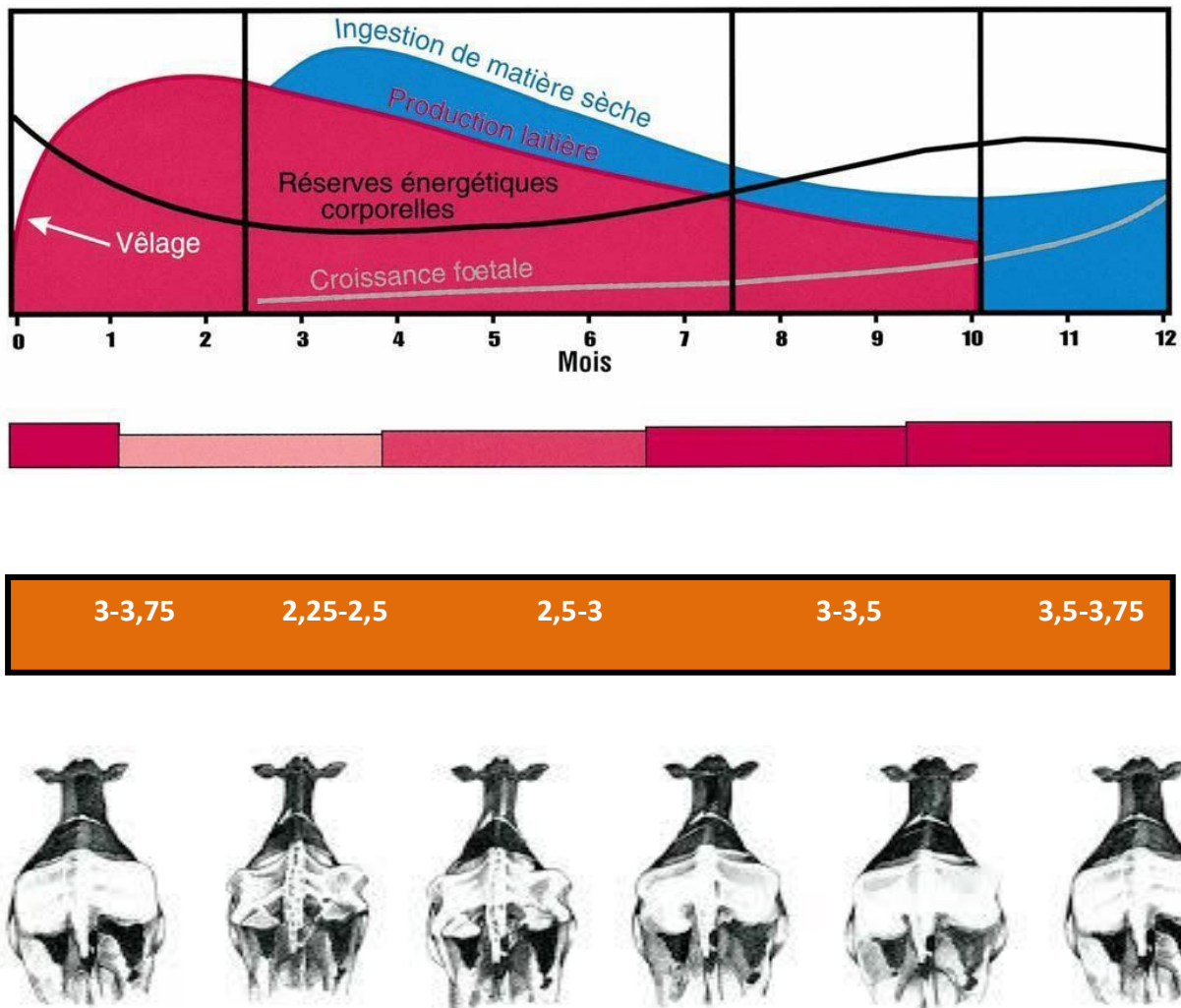


Figure 08 : Evolution de la note d'état corporel selon le stade physiologique (agridea.ch, 2006)

## Le remplissage du rumen :

La note de remplissage du rumen s'obtient en observant la vache debout, en ayant comme point de repère le creux du flanc du côté gauche de l'animal. Ce creux du flanc va faire apparaître sur la vache un triangle plus ou moins prononcé. L'amplitude du triangle va déterminer la note de rumen. [Une grille de notation a été réalisée de 1 à 5](#). Une vache qui a une note de rumen de 1 présente un triangle très prononcé qui tend même vers un rectangle. A partir de 3, la vache en vue arrière présente une forme de pomme à gauche et de poire droite. Ainsi, un rumen à 4 est un rumen où le triangle est à peine perceptible.

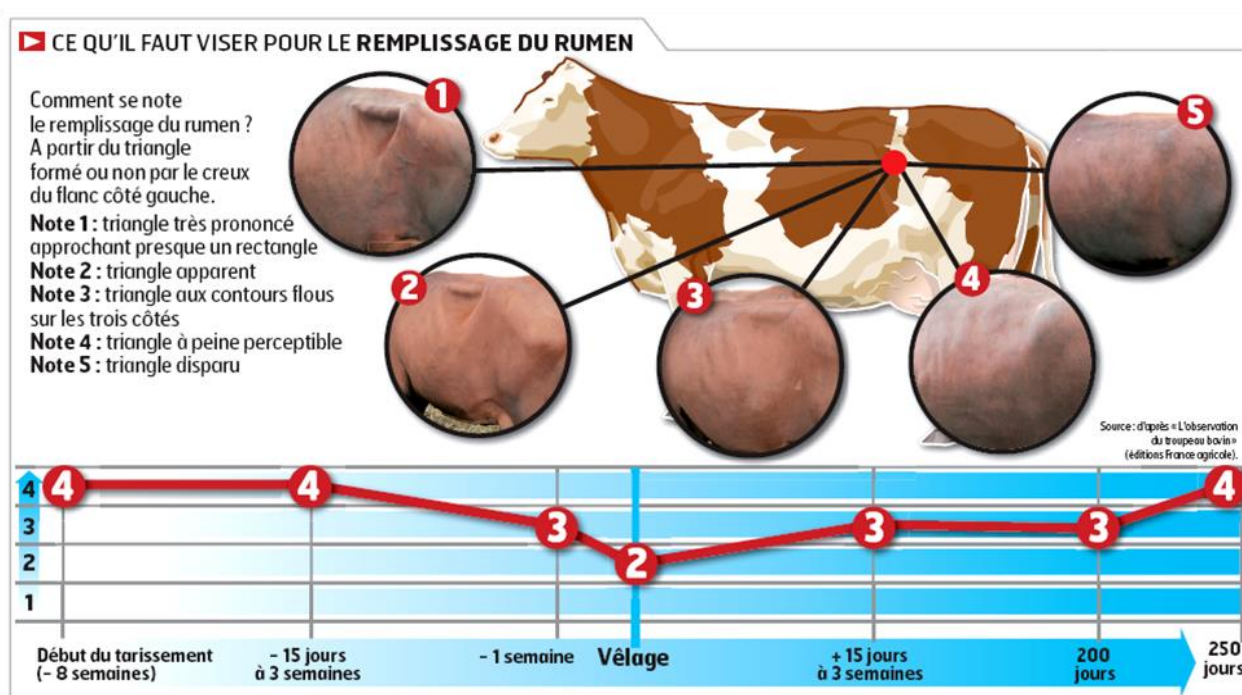


Figure 09 : Evolution du score de remplissage du rumen (Anonyme 3).

## Score de propreté des vaches et d'hygiène :

Le score de propreté reflète l'état d'hygiène des animaux, Cette mesure est réalisée sur l'ensemble des vaches laitières (en lactation ou tarées). Observer l'animal sur un côté (choisi de façon aléatoire) et de derrière. Les zones observées sont: La partie inférieure des membres postérieurs à partir des jarrets, la partie supérieure des membres postérieurs, les flancs, la base de la queue et la mamelle.

La grille du score d'hygiène est basée sur les notations définies par Cook (2006), Schreiner et Ruegg (2002) (figure : 10 et 11, tableau 06 ). Son interprétation à l'échelle du troupeau a été définie par Cook (2006).











Notation des postérieurs des vaches en lactation				
Note	Note 1 Propre	Note 2 Peu sale	Note 3 Sale	Note 4 Très sale
Vue profil				
% zone couverte <sup>1</sup>	Très peu ou pas	< 50%	> 50%	> 50%
Aspect	Eclaboussures	Eclaboussures	Plaques distinctes	Plaques confluentes
Vue arrière				

Figure 10: Grille d'évaluation de la propreté (Cook., 2006).






Evaluation de l'hygiène				
Score 1 : objectif à atteindre	Score 2 : acceptable	Score 3 : danger	Score 4 : trop sale	Score 5 : inacceptable
				
Source (adapté de) : Chiappini et al. J.K Reneau, Univ. de Minnesota, in J Hulsen, 'Signes des vaches'.				






Figure 11: Grille d'évaluation de l'hygiène (Chiappini et al., 1994).

Tableau 06 : Interprétation des scores d'hygiène à l'échelle troupeau (Cook, 2006).

INTERPRETATION A L'ECHELLE DU TROUPEAU			
% d'animaux notés 3 à 4	< 25%	25-50%	> 50%
Qualification du troupeau	Propre	Moyennement propre	sale

✚ Score de boiterie :

C'est une méthode d'évaluation visuelle notée de 1 indiquant une vache marchant normalement La note 5 indique une vache boiteuse marchant sur trois pattes (figure 12).

1.0		<b>Normale avec un dos plat</b> La vache se tient debout et marche avec un dos plat. La démarche est normale.
2.0		<b>Légèrement boiteuse</b> La vache se tient debout avec un dos plat, mais elle marche avec le dos courbé. La démarche est normale.
3.0		<b>Modérément boiteuse</b> La vache se tient debout et marche le dos courbé. La vache effectue des enjambées courtes avec une ou plusieurs pattes.
4.0		<b>Boiteuse</b> La vache se tient debout et marche le dos courbé. La vache s'arrête après chaque enjambée. Elle favorise une ou plusieurs pattes.
5.0		<b>Gravement boiteuse</b> La vache se déplace sur trois pattes, elle est incapable ou refuse de porter le poids sur une ou plusieurs pattes.

Source (adapté de) : Steven L. Berry, DVM, MPVM; Univ. of Davis, CA, et Zinpro® Corporation 1997, dans J Hulsen, *Signes des vaches*.

Figure 12 : Grille d'évaluation des boiteries (Steven.L et al., 1997).

✚ Le score des trayons :

Le score des trayons est évalué selon l'état du sphincter, et de l'extrémité qui peut être souple ou rugueuse et avec la formation de kératine ou pas. Les évaluations de l'extrémité du trayon peuvent révéler les qualités d'une bonne gestion, le choix adapté du système de traite, de même que l'existence de conditions environnementales inacceptables et des maladies infectieuses existantes affectant le système immunitaire de la vache. L'existence de germes environnementaux et contagieux engendre des mammites sub clinique.

L'évaluation se fait par rapport à l'apparition d'un anneau qui peut être souple ou rugueux, la souplesse du sphincter et selon l'épaisseur de la kératine par rapport au sphincter. On peut avoir quatre stades : N (extrémités des trayons très souple), S (anneau légèrement rugueux), R (anneau rugueux) et VR (anneau très rugueux).

b. La recherche des corps cétonique au niveau du lait :

Les corps cétoniques quand ils sont en excès, sont néfastes pour l'organisme, entre autre la glande mammaire. Ils sont témoins d'un bilan énergétique négatif. Le seuil de positivité retenu dans le lait est à partir de 0,2 mmol/l (2mg/dl). Pour rappel dans le sang le seuil est de 1.2 mmol/l.






Tableau 07 : Evaluation des corps cétoniques dans le lait

KETO TEST					
1	2	3	4	5	6
0 (-) mg/dl	0,5 (-) mg/dl	1 (±) mg/dl	2 (+) mg/dl	5 (++) mg/dl	10 (++) mg/dl

c. Dépistage des mammites :

✚ Le CMT :

Mélanger 02 ml de lait de chaque quartier avec 02 ml de lait par coupelle. Faire des mouvements circulaires dans les deux sens. La lecture est faite en 10 secondes (figures ).

GRADE	SIGNIFICATION	DESCRIPTION DE LA REACTION
	N Négatif	Le mélange demeure liquide, le godet se vide goutte à goutte
	T Trace	Le mélange devient légèrement visqueux. La réaction est réversible, la viscosité tend à disparaître
	1 Faiblement positif	Le mélange devient visqueux sans formation de gel au centre et la viscosité tend à persister. Le mélange quoique épais, se vide graduellement
	2 Clairement positif	Formation d'un gel au centre du godet. Si on verse le mélange, la masse gélatineuse tombe et peut laisser du liquide dans le godet.
	3 Fortement positif	Formation d'un gel au centre du godet. Si on verse le mélange, la masse gélatineuse tombe sans laisser du liquide dans le godet.
+	Alcalin	On ajoute ce symbole si la réaction est distinctement alcaline indiquée par la coloration mauve intense
A	Acide	On ajoute ce symbole si la réaction devient jaune (PH< 5.2)

**CMT TEST**

Figure 13 : Dépistage des mammites avec le CMT test (Anonyme 4).

#### ✚ La conductivité :

C'est une technique qui dépiste à la fois les mammites cliniques et subcliniques, en évaluant les équilibres électrolytiques et osmotiques des ions dans le lait. En effet les valeurs de sensibilité et de spécificité varient en fonction du système de mesure.

#### d. La bactériologie :

À chaque visite, des prélèvements de lait ont été effectués dans des tubes stériles, étiquetés puis acheminés dans une glacière vers un laboratoire privé en vue d'une analyse cyto bactériologique. Après enrichissement sur milieux MH, l'ensemencement se fait sur gélose au sang. La lecture peut se faire après une incubation de 18 à 24 heures dans une étuve à 37°C. L'identification se fait grâce à des galeries Api.



Figure 14: Ensemencement (gélose) et identification (Galerie Api) au Laboratoire.

#### e. Les traitements :

Les vaches atteintes de mammites subcliniques ont été séparées en lots selon leurs stades physiologiques. Des traitements sont ainsi instaurés à base de SYMBIOVEBA :

- ✚ Traitement en per os pour les vaches en pleine lactation : A raison de 50 ml mélangé à 50 ml d'eau minérale en une seule prise avec un rappel mensuel.
- ✚ Traitement en intramammaire pour les vaches en pleine lactation : Injection d'un volume de 20 ml de la solution mère (pure) dans chaque quartier chaque 12 heures et pendant 48 heures.
- ✚ Traitement en per os pour les vaches au tarissement : A raison de 50 ml mélangé à 50 ml d'eau minérale en une seule prise avec un rappel mensuel.
- ✚ Traitement en intra mammaire pour les vaches au tarissement : Injection d'un volume de 20 ml de la solution mère (pure) dans chaque quartier, et laisser agir jusqu'au part.

### III. Resultats et discussion :

#### III .1 Les scores de santé :

##### a. BCS :

Les résultats des BCS de chaque vache a été illustré par le tableau 08. Nous constatons certaines améliorations de la note chez certaines vaches (V4, V10). Les meilleurs scores sont enregistrés pour les vaches V 10 et V11 puisqu'elles sont en fin de lactation. Les scores du BCS des autres vaches sont aussi corrects puisqu'elles sont en plein lactation.

Tableau 08 : Résultats des BCS des vaches.

Numéro de vache	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11
Score 1	2,5	2,5	2,75	2	2,75	2,75	3	2,5	2,5	2,5	3
Score 2	2,5	2,5	2,75	2,5	2,75	2,75	3	2,5	2,75	3	3

##### b. score de remplissage du rumen :

Les résultats du remplissage du rumen sont subjectifs du fait que la ration distribuée est la même pour toutes les vaches. L'objectif est d'avoir une note la plus élevée possible pendant la période de tarissement, c'est-à-dire supérieure ou égale à quatre. Si cet objectif est atteint, cela signifie que la capacité d'ingestion de la vache est bien stimulée. Dans ces conditions on ne peut en aucun cas dire s'il y a effet du symbiotique ou pas.

Tableau 09 : Résultats des scores de remplissage du rumen

Numéro de vache	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11
Score 1	2,5	3	3,5	2,5	3	3	2,5	3	2,5	3	3
Score 2	2	2	3	3	2	2	3	3	2	3	2

##### c. Score de propreté :

Les scores sont médiocres dans la majorité des cas aux cous des deux visites. En effet la grille d'évaluation de la propreté des animaux permet au vétérinaire de juger de l'environnement dans lequel les vaches évoluent. La litière, la ventilation du bâtiment et l'alimentation influent sur la propreté des animaux.

Tableau 10 : Résultats des scores de propreté.

Numéro de vache	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11
Score 1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2
Score 2	4	4	4	3	4	4	2	4	3	3	3

d. Score de boiterie :

Pour ce score, nous n'avons enregistré aucun cas apparent de boiteries chez presque toutes les vaches, à part la V4 qui présentait des fourbures avec déviation de l'onglon. Un parage a été envisagé avec une correction de la ration.

Tableau 11 : Les résultats des scores de boiteries

Numéro de vache	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11
Score 1	1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1
Score 2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

e. Score de trayons :

Tableau 12 : résultats des scores des trayons.

Numéro de vache	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11
Score 1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Score 2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Les trayons de toutes les vaches contiennent des anneaux rugueux proéminent. On observe des traces de kératine qui dépassent largement le sphincter (Tableau 12). Grâce à l'observation de l'aspect des trayons des vaches en lactation, la grille d'évaluation de la callosité des trayons permet de mettre en évidence des problèmes liés à la traite : mauvais réglage de la machine à traire, sur-traite, manchon de traite inadapté ou abimé. Ceci peut engendrer des mammites.

III.2 Recherche des corps cétoniques :

Les résultats sont illustrés par les tableaux 13 et 14.

Tableau 13 : Recherche des corps cétonique dans le lait.

Numéro de vache	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11
Score 1	2	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3
Score 2	2	3	3	4	4	3	3	4	3	3	3

Le taux des vaches présentant des corps cétonique dans le lait passe de 9,09% lors de la première visite à 27,28% à l'occasion de la deuxième visite. La présence des corps cétoniques est témoin d'une balance énergétique négatif, qui a contribué à l'augmentation des mammites suite à l'immunodépression engendrée.

Tableau 14: Fréquence des cétozes subcliniques.

Catégories de vaches	VISITE 01		VISITE 02	
	Fréquence	Pourcentage	Fréquence	Pourcentage
VACHES INDEMNES	1	9,09%	1	9,09%
VACHES A RISQUES	9	81,82%	7	63,63%
VACHES MALADES	1	9,09%	3	27,28%

### III.3 Le dépistage des mammites subcliniques:

Parmi les vaches dépistés lors de notre premier passage, huit (08) soit 72,72% sont atteintes de mammites sub clinique. Les 03 autres par contre, soit (27,27%), ont montré des résultats douteux ; la raison pour laquelle elles sont exclut de l'étude (tableau 15 et 16).

Tableau 15 : Résultats des dépistages effectués avec le CMT et le conductimètre.

NUMERO DE VACHE	STADE DE LACTATION	CONDUCTIVITE 1				CMT 1
V1	PL (01 mois PP)	440	440	440	440	T
V2	PL (02 mois PP)	500	500	500	500	T
V3	PL (02 mois PP)	500	500	500	500	T
V4	PL (02 mois PP)	350	350	350	350	2
V5	PL (03 mois PP)	350	350	350	350	2
V6	PL (04 mois PP)	340	340	340	340	2
V7	PL (05 mois PP)	360	360	360	360	2
V8	FL (06 mois PP)	330	330	330	330	2
V9	FL (06 mois PP)	350	350	360	360	2
V10	FL (06 mois PP)	330	330	330	330	3
V11	FL (06 mois PP)	230	230	230	230	3

Ces taux sont le reflet d'une mauvaise hygiène et une gestion catastrophique de la traite et l'entretien des trayons.

Tableau 16 : Fréquences des mammites des vaches étudiées.

EFFECTIFS (n = 11)	CAS DOUTEUX	VRAI POSITIF
FREQUENCE	3	8
POURCENTAGE	27,27%	72,72%

### III.4 La bactériologie :

Tableau 17: Les résultats de la bactériologie

Numéro vache			V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11
<b>E. Coli</b>	Visite	01	+	+	+	+	+	+	+	+
	Visite	02	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>S. aureus</b>	Visite	01	-	-	-	-	-	-	-	-
	Visite	02	-	-	-	-	-	-	-	-

Plusieurs germes sont responsables des mammites subcliniques. Certains sont environnementaux comme E.coli, et d'autres sont contagieux à l'instar du S. aureus qui est responsables de la majorité des mammites subcliniques. La cause peut être due à une seule bactérie mais parfois plusieurs souches peuvent vivre en communauté.

A partir du tableau 17 nous remarquons absence d'infection à S. aureus sur les deux prélèvements effectués durant nos deux passages. Cependant nous avons pu mettre en évidence des infections à E.Coli dans le premier prélèvement, alors que pour le deuxième il y a absence. Un effet néfaste des probiotiques envers les entérobactéries suite au milieu acide procuré par les lactobacilles. Quoique ceci n'exclut pas l'existence d'autres germes pathogènes, d'ailleurs le CMT a démontré la persistance toujours de l'infection chez les vaches dont la culture était négative lors de la deuxième visite.

La croyance largement répandue selon laquelle la lumière de la glande mammaire en bonne santé est stérile a récemment été remise en question. Bien qu'elle ait été considérée comme un organe stérile, l'application de méthodes moléculaires à la quantification et au séquençage de l'ADN bactérien a donné des résultats suggérant l'existence de communautés microbiennes commensales au sein de la mamelle (Briyne.N et al 2014 ; Francoz.D et al., 2017) . La mammite n'est pas due uniquement à l'interaction hôte-pathogène mais plutôt à une manifestation de la dysbiose. C'est-à-dire un déséquilibre du microbiote mammaire (De Briyne N,et al., 2014 ; Martin.P., 2018).

Chaque cas de mammite est généralement considéré comme causé par un seul agent pathogène primaire, car une seule espèce bactérienne est généralement identifiée dans les échantillons de lait provenant de glandes malades (Conlon.M, Bird.A.,2017). Néanmoins, les infections simultanées par deux espèces différentes d'agents pathogènes ne sont pas rares et



trois agents pathogènes peuvent être détectés dans une faible proportion des cas. En général, les échantillons contenant trois ou plus de trois espèces bactériennes sont suspectés d'être contaminés. C'est le cas dans notre étude, sinon comment expliquer la persistance de l'infection. En effet, il faut être prudent dans l'interprétation des résultats des analyses bactériologiques. L'idéal est de passer par une étude cyto-bactériologique et le comptage cellulaire. Parfois la culture est négative alors que les cellules leucocytaires sont très nombreuses, en raison d'un traitement préalablement instauré, ou il s'agirait de bactéries anaérobies non identifiées.

La collecte manuelle du lait contamine presque inévitablement l'échantillon avec des bactéries qui colonisent la partie distale du canal du trayon. Une procédure moins sujette à la contamination est l'utilisation d'un sac de prélèvement à usage unique muni d'une canule émoussée (Martin.R et al., 2016). Après avoir soigneusement désinfecté le sommet des trayons, la canule est introduite par le canal du trayon et le lait est aspiré. Un autre avantage de cette technique est qu'elle permet la culture de bactéries anaérobies. Un autre moyen d'obtenir du lait de citerne en contournant le canal du trayon est la voie transpariétale, à l'aide d'une seringue et d'une aiguille. Un grand nombre de précautions doivent également être prises sur le terrain, telles que le rasage et la désinfection complète de la peau du pis pour éviter de contaminer les échantillons. Si ces précautions ne sont pas prises, il est difficile d'obtenir des échantillons de non contaminés.

Outre la contamination lors de la collecte, la présence de bactéries mortes ou de fragments bactériens pourrait révéler la présence d'ADN bactérien dans des échantillons de lait. Cet ADN bactérien pourrait être libre dans le lait ou transféré dans la lumière de la glande mammaire par des leucocytes en migration. Ceci pourrait être à l'origine la controverse entre les résultats des CMT et la bactériologie puisque le principe du CMT est en rapport direct avec l'ADN.

Il est important de noter qu'au-delà de la controverse sur la contamination des échantillons, il est nécessaire de prendre en compte toutes les conséquences et implications liées à l'existence d'un microbiote intramammaire, en termes de pathogenèse de la mammite, d'immunobiologie de la glande mammaire, de la conduite d'élevage en relation avec l'alimentation et la gestion de la traite, y compris les bonnes pratiques d'hygiène.

III.5 Les traitements :

Après avoir eu dépisté les vaches atteintes de mammites subcliniques, le traitement per os à base des symbiotiques a été instauré le jour même pour toutes les vaches. Les résultats sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 18 : Résultats des traitements instaurés.

Numéro des vaches		CMT 2	CONDUCTIVITE	Conclusion
TRT 01 (PL) PER OS	V 4	2	++	MSC
	V 5	2	++	MSC
TRT 02 (PL) I. Mammaire	V 6	2	++	MSC
	V 7	2	++	MSC
TRT 03 (HL) PER OS	V 8	2	++	MSC
	V 9	2	++	MSC
TRT 04 (HL) I. Mammaire	V 10	N	-	PAS DE MAMMITE
	V 11	N	-	PAS DE MAMMITE

Les vaches traitées en per os, que ce soit en plein ou en hors lactation ainsi que celle traitée par voie intramammaire, ont présenté toujours des mammites sub clinique stationnaire non évolutive. Par ailleurs nous avons constaté une nette guérison de celles qui ont été traitées en hors lactation par voie intra mammaire.

Les probiotiques oraux sont vivants et Bactéries métaboliquement actives qui exercent leurs effets bénéfiques en interagissant en partie avec le microbiote intestinal, en rétablissant l'homéostasie microbienne ou en corrigeant la dysbiose (Lebeer.S et al., 2008). Pour fonctionner dans la glande mammaire, ce mode d'action suppose l'existence d'un microbiote mammaire.

Des expériences ont menées en médecine humaine sur des femmes, pour voir l'effet des probiotiques sur la glande mammaire. Des souches particulières de Lactobacillus isolées à partir de lait maternel ont été utilisées comme probiotiques par voie orale pour traiter la mastite à staphylocoques (Jimenez.E et al., 2008). Les bactéries des deux souches utilisées ont été retrouvées dans le lait de 6 femmes traitées sur 10 et les symptômes de la mastite n'étaient pas visibles 30 jours après le traitement, alors qu'ils étaient observés dans le groupe témoin. Les auteurs ont conclu que le traitement était efficace, mais cette conclusion a été mise en doute sur la base de plusieurs problèmes méthodologiques liés à la définition de la mammite et aux critères de guérison (Amir.H et al., 2016). Il est à noter que l'excrétion de S. aureus a été réduite de  $10^4$ - $10^5$  à  $10^2$ - $10^3$  cfu / mL dans le lait du groupe traité, critère de guérison insuffisant pour

une infection à staphylocoques ou pour une mammite bovine. Sur la base de plusieurs études reposant sur la caractérisation des gènes, il est proposé que la mammite bovine résulte d'une dysbiose, c'est-à-dire d'un déséquilibre entre le microbiote «sain» de la glande et une bactérie responsable de la mammite (Oikonomou.G et al., 2012). En conséquence, une correction de cette dysbiose avec des probiotiques est proposée comme alternative à l'utilisation d'antimicrobiens. Jusqu'à présent, il n'y avait aucune preuve publiée que l'administration de probiotiques à des vaches ait modifié le microbiote mammaire.

En fait, un certain nombre d'observations jettent un doute sur la simple existence d'un microbiote intramammaire ; l'épithélium du pis n'est pas protégé par un mucus qui concentre les anticorps IgA ou AMP sécréteurs ; il n'y a pas de formations lymphoïdes sous-épithéliales révélant des interactions constantes avec un microbiote ; le lait est un milieu de culture riche pour les lactobacilles, avec une capacité limitée à entraver la croissance de nombreuses espèces bactériennes; l'épithélium de la glande mammaire est peu tolérant aux modèles moléculaires associés aux microbes (MAMP) ; et l'administration intramammaire systématique d'antibiotiques en période sèche, qui devrait être préjudiciable au microbiote mammaire, est très efficace pour contrôler les infections.

Si nous excluons la correction de la dysbiose du microbiote mammaire, d'autres modes d'action peuvent être envisagés, tels que les interactions directes probiotiques-pathogènes. Ce mode d'action est valable pour expliquer les résultats obtenus lorsqu'on administre le probiotique en intramammaire et en période sèche. En fait ils produisent divers composés antimicrobiens, tels que l'acide lactique, les acides gras à chaîne courte, le peroxyde d'hydrogène, l'oxyde nitrique et les bactériocines, susceptibles d'inhiber potentiellement les bactéries pathogènes (Lebeer.S et al., 2017). Les bactériocines sont des peptides produits par des bactéries. Ils sont actifs contre d'autres bactéries contre lesquelles les producteurs disposent d'un système immunitaire spécifique et ont des mécanismes d'action distincts, différents de ceux des antibiotiques (Cotter.P et all., 2013).

La réponse inflammatoire de la mamelle dépend du type de bactérie introduite: les bactéries coliformes induisent des réponses plus fortes et plus rapides que les staphylocoques et les streptocoques (Bannerman.D et al., 2004 ; BannermanD., 2004). L'épithélium qui sépare la citerne de l'espace interstitiel est imperméable durant la lactation, grâce aux jonctions serrées entre les cellules épithéliales, et constitue une véritable barrière entre le lait et le liquide interstitiel. Toutefois

cette barrière est moins étanche hors lactation. Lors de mammite, la perméabilité est fortement augmentée.

L'interaction des probiotiques avec l'épithélium a été particulièrement étudiée dans l'intestin et il a été démontré que les probiotiques sont d'importants médiateurs de la fonction et de l'intégrité de la barrière intestinale (Ohland.C et al., 2010 ; Lebeer.S et al., 2010). Les probiotiques peuvent exercer des effets bénéfiques sur l'épithélium intestinal en améliorant l'épaisseur de la couche de mucus par la stimulation des cellules caliciformes sécrétant de la mucine. Dans la glande mammaire, ce mode d'action est limité par l'absence d'une couche de mucus tapissant l'épithélium. L'épithélium n'héberge pas de cellules spécialisées homologues des cellules caliciformes. En conséquence, les bactéries sont potentiellement en contact direct avec l'épithélium et peuvent interagir avec les cellules constituant la muqueuse de l'épithélium, c'est-à-dire les cellules épithéliales mammaires (MEC) et les leucocytes intra-épithéliales associés.

Nos résultats contredisent toutefois ceux obtenus dans une étude conduite par Rainard et Foucras en 2018, qui d'après lui, il semble que les lactobacilles et autres probiotiques potentiels soient très susceptibles de provoquer des formes cliniques de mammite lorsqu'ils sont introduits dans la glande mammaire. Quoi qu'il peut y avoir des exceptions, parce que les lactobacilles présentent des variations marquées de la capacité pro-inflammatoire liées aux espèces et aux souches. En règle générale, la réactivité de la mamelle aux motifs moléculaire associé aux pathogène exclurait l'utilisation des lactobacilles comme probiotiques préventifs, mais laisse ouverte la possibilité d'une utilisation thérapeutique.

A l'heure actuelle, la prévention (vaccinale) ou le traitement (antibiothérapie) se montrent peu efficaces à l'encontre de la majorité des pathogènes (échappement face au système immunitaire et l'antibiorésistance). L'utilisation d'une approche probiotiques pour la prévention ou le traitement des mammites semble une alternative pertinente suite aux risques d'émergence et de propagation de souches résistantes aux antibiotiques. D'ailleurs, les premières études sur modèle bovin réalisées en Irlande et en Argentine ont montré des résultats très prometteurs (Gilbert., 1992).

## Conclusion et recommandations :

Au terme de notre travail, nous pouvons déduire que les objectifs ainsi que les résultats escomptés nous ne les avons pas tous réalisés. Nous avons utilisé les symbiotiques pour substituer aux antibiotiques, qui représentent un danger sur la santé animale et humaine, dans les traitements des mammites. A partir du protocole expérimental et à la base des stratégies thérapeutiques envisagées en plein et hors lactation, par voie générale ou locale, nous voulions définir le moment opportun et la voie d'administration du symbiotique, la plus appropriée pour traiter, voir prévenir les mammites subcliniques.

Nous avons constaté une amélioration de certains scores de santé comme le BCS et le score des boiteries. Cependant plusieurs facteurs sont responsables de la dégradation de l'état des trayons en relation avec la gestion et la conduite de la traite mécanique ; d'autres comme la mauvaise gestion, l'absence d'un rationnement adaptés aux stades physiologiques de chaque vache sont des facteurs qui augmentent l'incidence des mammites dans un élevage. Le symbiotique n'a pas démontré, dans nos conditions expérimentale, un effet préventif contre le bilan énergétique négatif. Nous avons démontré la présence des corps cétoniques chez toutes les vaches. Par ailleurs le traitement per os contre les mammites sub cliniques en plein ou hors lactation n'a donnée aucune amélioration des cas dépistés, mais aussi aucune complication. Par contre nous avons enregistré une nette guérison des cas confirmés positif peu avant le tarissement, et qui sont traités par voie locale. Ce qui nous a poussé à émettre un constat sur l'effet très bénéfique des symbiotiques en intra mammaire pour le traitement des mammites subcliniques au tarissement.

Cette observation demande à être validée sur un plus grand échantillonnage, le nombre des vaches étant très limité. Nos travaux ne permettent donc pas de faire ressortir, à l'heure actuelle, l'effet curatif ou préventif des symbiotiques sur les mammites. Toutefois, il est important de noter ici que les bactéries lactiques sont efficaces contre les E. Coli qui ont été identifiées après enrichissement sur milieux sélectifs. La contribution des autres constituants du symbiotique n'est peut-être pas confirmée. Il conviendrait, peut être, d'étudier l'apport de chaque constituant par séparation, pour passer enfin à l'étude de l'effet synergique de tout l'ensemble.

On recommande :

- Assurer une bonne hygiène au sein du bâtiment d'élevage ainsi celle du troupeau
- Utiliser pour l'essuyage des mamelles des serviettes individuelles avec trempage des trayons dans une solution désinfectante
- Respecter la stabilité de la ration
- Déstresser les animaux
- Appliquer les différentes grilles de scoring
- Envisager l'utilisation des symbiotiques en tant qu'alternative des antibiotiques pour le traitement voir la prévention des mammites subcliniques en préconisant la voie intramammaire en période sèche
- Etablir un protocole de dépistage régulier des mammites subcliniques en sein de l'élevage.

## Références

1. Akers R.M. (2002). Lactation and the mammary gland. Wiley-Blackwell, 278 p
2. Alemka, A., M. Clyne, F. Shanahan, T. Tompkins, N. Corcionivoschi, and B. Bourke. 2010. Probiotic colonization of the adherent mucus layer of HT29MTXE12 cells attenuates *Campylobacter jejuni* virulence properties. *Infect. Immun.* 78(6):2812-2822.
3. Alva-Murillo, N., A. Ochoa-Zarzosa, and J. E. Lopez-Meza. 2012a. Short chain fatty acids (propionic and hexanoic) decrease *Staphylococcus aureus* internalization into bovine mammary epithelial cells and modulate antimicrobial peptide expression. *Vet. Microbiol.* 155(2-4):324-331.
4. Amir LH, Griffin L, Cullinane M, Garland SM. Probiotics and mastitis: evidence-based marketing? *Int Breastfeeding J.* (2016) 11:19. 10.1186/s13006-016-0078-5 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
5. Anonyme 1 : <http://www.journees3r.fr/spip.php?article3409>.
6. Anonyme 2 :Prim'Holstein France. *Table de description Prim'Holstein* [en ligne]. URL : [http://primholstein.com/wpcontent/uploads/2012/joomla/stories/documents/2009/description\\_2007.pdf](http://primholstein.com/wpcontent/uploads/2012/joomla/stories/documents/2009/description_2007.pdf) [consulté le 05 juin 2017].
7. Anonyme 3 : <http://www.fidocl.fr/content/le-remplissage-du-rumen-rr-une-nouvelle-notion>.
8. Anonyme 4 : [www.reseaumammite.org](http://www.reseaumammite.org)
9. Bannerman DD, Paape MJ, Goff JP, Kimura K, Lippolis JD, Hope JC. Innate immune response to intramammary infection with *Serratia marcescens* and *Streptococcus uberis*. *Vet Res.* (2004) 35:681–700. 10.1051/vetres:2004040 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
10. Bannerman DD, Paape MJ, Lee JW, Zhao X, Hope JC, Rainard P. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clin Diagn Lab Immunol.* (2004) 11:463–72. 10.1128/CDLI.11.3.463-472.2004 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
11. Bareille N., Seegers H., Fourichon C., Beaudou F., Malher X., "Survenue et expression des mammites cliniques et subcliniques en troupeaux bovins laitiers: facteurs de risque

liés à la conception et à l'utilisation du bâtiment", 5èmeRen. Rech. Ruminants, 3-4 décembre (1998), pp. 297-300.

12. Barone R., (2001). Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4, Splanchnologie II. Paris : Vigot, 896 p.
13. Bazin S., Grille de notation de l'état d'engraissement des vaches pies-noires. Itebrned. 1984, Paris (France). 31 p.
14. Bernier L. 2010. Les probiotiques en 2010: une revue de la littérature scientifique Angers: Thèse doctorat en Pharmacie.
15. Bischoff et al. (2016). Plant and natural product based homemade remedies manufactured and used by farmers of six central Swiss cantons to treat livestock. *Livestock Science*, 189, pp. 110-125.
16. Bouchard, D., 2013. Potentiel probiotique des bactéries lactiques de l'écosystème mammaire bovin contre les mammites à *Staphylococcus aureus*. Thèse de Doctorat : Biologie, Université de Rennes 1, 326p.
17. Bourachot M., 2017. Traitement des mammites chez la vache laitière : l'aromathérapie, état des lieux et perspectives. Thèse présentée à l'université Claude-Bernard - Lyon 1 (médecine - pharmacie) , 116p.
18. Bradley, A. 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.* 164(2):116-128.
19. Bruckmaier Rm., Blum jw. Oxytocin release and milk removal in ruminants,. 1998.
20. Burton J.L., Erskine R.J. (2003). Immunity and mastitis, some new ideas for an old disease. *The veterinary clinics food animal practice*, 19, pp. 1-45.
21. Butler J.E. et al. The mammary gland in mucosal and regional immunity. In: Mestecky J. et al. (dir.) (2015). *Mucosal immunology 4th Edition*. Boston : Academic Press, pp. 2269-2306.
22. Campana, R., S. Federici, E. Ciandrini, and W. Baffone. 2012. Antagonistic Activity of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 on the Growth and Adhesion/Invasion Characteristics of Human *Campylobacter jejuni*. *Curr. Microbiol.* 64(4):371-378.
23. Cardozo V.F. et al. (2014). Evaluation of antimicrobial activity of nitric oxide-releasing polymeric particles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* from bovine mastitis. *International Journal of Pharmaceutics*, 473(1-2), pp. 20-29.
24. Chastant-Maillard s. et Saint-Dizier m. (Dir.) (2014). *La reproduction animale et humaine*. Editions quae, 752 p.
25. Chiappini et al., 1994 .J.K Reneau. Unive. de minnesota. In J Hulsen. Signes des vaches.



26. Christensen HR, Frøkiaer H, Pestka JJ. 2002. Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. *J Immunol.* 168(1):171-8.
27. Conlon MA, Bird AR. The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health. *Nutrients* (2015) 7:17–44.
28. Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocins - a viable alternative to antibiotics? *Nat Rev Microbiol.* (2013) 11:95–105. 10.1038/nrmicro2937 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
29. Cretenet M, Laroute V, Ulve V, Jeanson S, Nouaille S, Even S, Piot M, Girbal L, Le Loir Y, Loubiere P, Lortal S, Coccagn-Bousquet M. 2010. Dynamic analysis of *Lactococcus lactis* transcriptome in UF-cheeses reveals multiple strategies of adaptation to stresses. *Appl. Environ. Microbiol.* 77:247-257.
30. Cross, M. L. 2002. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 34(4):245-253.
31. De Briyne N, Atkinson J, Pokludova L, Borriello SP. Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. *Vet Rec.* (2014) 175:325 10.1136/vr.102462 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
32. De Waard. R., J. Garssen, J. G. Vos, and E. Claassen. 2002. Modulation of delayed-type hypersensitivity and acquired cellular resistance by orally administered viable indigenous lactobacilli in *Listeria monocytogenes* infected Wistar rats. *Lett. Appl. Microbiol.* 35(3):256-260.
33. Delacroix et al., 2000 ; Fourichon et al., 2001 ; Rushen et al., 2001)> thèse bouchard.
34. Dernis Clémence., 2015. Impact du fonctionnement de la machine a traire sur la qualité du lait utilisation du système Vadia comme aide a la résolution d'un problème de mammites et/ou de cellules. Présentée à l'université Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie).
35. Drakes M, Blanchard T, Czinn S. 2004. Bacterial probiotic modulation of dendritic cells. *Infect Immun.* 72(6):3299-309.
36. Durel L. et al. (2003). Mammites des bovins (cliniques et subcliniques) : démarches diagnostiques et thérapeutiques. *La dépêche technique*, 87, pp. 39.
37. ErskinE R.J., Wagner S. et Degraives F.J. (2003). Mastitis therapy and pharmacology. *The Veterinary Clinics Food Animal Practice*, 19(1), pp. 109–138.

38. Espeche, M. C., M. C. Otero, F. Sesma, and M. E. Nader-Macias. 2009. Screening of surface properties and antagonistic substances production by lactic acid bacteria
39. Even, S., C. Charlier, S. Nouaille, N. L. Ben Zakour, M. Cretenet, F. J. Cousin, M. Gautier, M. Coccain-Bousquet, P. Loubiere, and Le Loir. Y. 2009. *Staphylococcus aureus* virulence expression is impaired by *Lactococcus lactis* in mixed cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 75(13):4459-4472.
40. Fogsgaard K.K. et al. (2012). Sickness behavior in dairy cows during escherichia coli mastitis. *journal of dairy science*, 95(2), pp. 630-638.
41. Fogsgaard K.K., Bennedsgaard t.W. et herskin m.s. (2015). Behavioral changes in freestall-housed dairy cows with naturally occurring clinical mastitis. *Journal of dairy science*, 98(3), pp. 1730-1738.
42. Fragkou IA, Skoufos J, Cripps PJ, Kyriazakis I, Papaioannou N, Boscós CM, Tzora A, Fthenakis GC. 2007. Differences in susceptibility to Mannheimia haemolytica-associated mastitis between two breeds of dairy sheep. *J Dairy Res.* 74(3):349-55.
43. Francoz D, Wellemans V, Dupre JP, Roy JP, Labelle F, Lacasse P, et al. . Invited review: a systematic review and qualitative analysis of treatments other than conventional antimicrobials for clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* (2017) 100:7751–70. 10.3168/jds.2016-12512 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
44. Frola ID, Pellegrino MS, Espeche MC, Giraudo JA, Nader-Macias ME, Bogni CI. Effects of intramammary inoculation of *Lactobacillus perolens* CRL1724 in lactating cows' udders. *J Dairy Res.* (2012) 79:84–92. 10.1017/S0022029911000835 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
45. Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66(5):365-378.
46. Gan, B. S., J. Kim, G. Reid, P. Cadieux, and J. C. Howard. 2002. *Lactobacillus fermentum* RC-14 inhibits *Staphylococcus aureus* infection of surgical implants in rats. *J. Infect. Dis.* 185(9):1369-1372.
47. Gilbert, R.O., Schwark, « Pharmacologic consideration consideration in the management of peripartum conditions in the cow », *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, 8, (1992), 29-58.
48. Gill JJ, Sabour PM, Gong J, Yu H, Leslie KE, Griffiths MW. 2006. Characterization of bacterial populations recovered from the teat canals of lactating dairy and beef cattle by 16S rRNA gene sequence analysis. *FEMS Microbiol Ecol.* 56(3):471-481.
49. González RN and D.J. Wilson. 2003. Mycoplasmal mastitis in dairy herds. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 19(1):199-221.
50. Gourreau jm. Anatomie, structure et conformation du trayon, *in: accidents et maladies du trayon.* 1995,. France agricole editions, p. 13-18.

51. Hayek, SA., Ibrahim, SA.,2013. Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: A review. *Food and Nutrition Sciences*. 4(11),73.
52. Huijps K, Lam TJ, Hogeveen H. Costs of mastitis: facts and perception. *J Dairy*
53. Jimenez E, Fernandez L, Maldonado A, Martin R, Olivares M, Xaus J, et al. . Oral administration of *Lactobacillus* strains isolated from breast milk as an alternative for the treatment of infectious mastitis during lactation. *Appl Environ Microbiol*. (2008) 74:4650–5. 10.1128/AEM.02599-07 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
54. Jonsson, H., E. Strom, and S. Roos. 2001. Addition of mucin to the growth medium triggers mucus-binding activity in different strains of *Lactobacillus reuteri* *in vitro*. *FEMS Microbiol. Lett*. 204(1):19-22.
55. Kromker, V., and J. Friedrich. 2009. Teat canal closure in non-lactating heifers and its association with udder health in the consecutive lactation. *Vet. Microbiol*. 134(1-2):100-105.
56. Lebeer S, Bron PA, Marco ML, Van Pijkeren JP, O'Connell Motherway M, Hill C, et al. . Identification of probiotic effector molecules: present state and future perspectives. *Curr Opin Biotechnol*. (2018) 49:217–23. 10.1016/j.copbio.2017.10.007 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
57. Lebeer S, Bron PA, Marco ML, Van Pijkeren JP, O'Connell Motherway M, Hill C, et al. . Identification of probiotic effector molecules: present state and future perspectives. *Curr Opin Biotechnol*. (2018) 49:217–23. 10.1016/j.copbio.2017.10.007 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
58. Lebeer S, Bron PA, Marco ML, Van Pijkeren JP, O'Connell Motherway M, Hill C, et al. . Identification of probiotic effector molecules: present state and future perspectives. *Curr Opin Biotechnol*. (2018) 49:217–23. 10.1016/j.copbio.2017.10.007 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
59. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiol Mol Biol Rev*. (2008) 72:728–64. 10.1128/MMBR.00017-08 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
60. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. *Nat Rev Microbiol*. (2010) 8:171–84. 10.1038/nrmicro2297 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

61. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. *Nat Rev Microbiol.* (2010) 8:171–84. 10.1038/nrmicro2297 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
62. Lebeer, S., I. Claes, H. L. Tytgat, T. L. Verhoeven, E. Marien, O. von, I, J. Reunanen, A. Palva, W. M. Vos, S. C. Keersmaecker, and J. Vanderleyden. 2012. Functional analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG pili in relation to adhesion and immunomodulatory interactions with intestinal epithelial cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 78(1):185-193.
63. Leslie KE, Petersson-Wolfe CS. Assessment and management of pain in dairy cows with clinical mastitis. *Vet Clin N Am Food Anim Pract.* (2012) 28:289–305. 10.1016/j.cvfa.2012.04.002 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
64. Martin P, Barkema HW, Brito LF, Narayana SG, Miglior F. Symposium review: novel strategies to genetically improve mastitis resistance in dairy cattle. *J Dairy Sci.* (2018) 101:2724–36. 10.3168/jds.2017-13554 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
65. Martin R, Heilig HG, Zoetendal EG, Jimenez E, Fernandez L, Smidt H, et al. . Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk among healthy women. *Res Microbiol.* (2007) 158:31–7. 10.1016/j.resmic.2006.11.004 [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)] 10.3390/nu7010017 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
66. Martinet J. et Houdebine L-M. (1993). *Biologie de la lactation*. INRA/INSERM, 608 p.
67. McMillan, A., M. Dell, M. P. Zellar, S. Cribby, S. Martz, E. Hong, J. Fu, A. Abbas, T. Dang, W. Miller, and G. Reid. 2011. Disruption of urogenital biofilms by lactobacilli. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 86(1):58-64.
68. Medellin-Pena, M. J., H. Wang, R. Johnson, S. Anand, and M. W. Griffiths. 2007. Probiotics affect virulence-related gene expression in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Environ. Microbiol.* 73(13):4259-4267.
69. Nader-Macias, M. E., M. C. Otero, M. C. Espeche, and N. C. Maldonado. 2008. Advances in the design of probiotic products for the prevention of major diseases in dairy cattle. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 35(11):1387-1395.
70. Nickerson, S. C. 2009. Control of heifer mastitis: antimicrobial treatment-an overview. *Vet. Microbiol.* 134(1-2):128-135.
71. Noireterre,P.,2006. Suivis de comptages cellulaires et d’examens bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. Etude expérimentale au centre d’élevage Lucienbizet de pois. Thèse : Présentée à l’université Claude-Bernard - Lyon 1 (médecine - pharmacie), 98 p.

72. O'Halloran F. et al. (2016). Lactoferrin affects the adherence and invasion of *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *dysgalactiae* in mammary epithelial cells. *Journal of Dairy Science*, 99(6), pp. 4619-4628.
73. Ochoa-Zarzosa, A., E. Villarreal-Fernandez, H. Cano-Camacho, and J. E. Lopez-Meza. 2009. Sodium butyrate inhibits *Staphylococcus aureus* internalization in bovine mammary epithelial cells and induces the expression of antimicrobial peptide genes. *Microb. Pathog.* 47(1):1-7.
74. Ohland CL, MacNaughton WK. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am J Physiol Gastroint Liver Physiol.* (2010) 298:G807–19. 10.1152/ajpgi.00243.2009 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
75. Oikonomou G, Machado VS, Santisteban C, Schukken YH, Bicalho RC. Microbial diversity of bovine mastitic milk as described by pyrosequencing of metagenomic 16s rDNA. *PLoS ONE* (2012) 7:e47671. 10.1371/journal.pone.0047671 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
76. Otero, M. C., L. Morelli, and M. E. Nader-Macias. 2006a. Probiotic properties of vaginal lactic acid bacteria to prevent metritis in cattle. *Lett. Appl. Microbiol.* 43(1):91-97.
77. Otero, M. C., L. Morelli, and M. E. Nader-Macias. 2006a. Probiotic properties of vaginal lactic acid bacteria to prevent metritis in cattle. *Lett. Appl. Microbiol.* 43(1):91-97.
78. Ouwehand AC, S. Salminen, E. Isolauri. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 82(1-4):279-89.
79. Ouwehand AC, S. Salminen, E. Isolauri. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 82(1-4):279-89.
80. Oviedo-Boyso J, JJ. Valdez-Alarcón, M. Cajero-Juárez, A. Ochoa-Zarzosa, JE. López-Meza, A. Bravo-Patiño, VM. Baizabal-Aguirre. 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infect.* 54(4):399-409.
81. Oviedo-Boyso J, JJ. Valdez-Alarcón, M. Cajero-Juárez, A. Ochoa-Zarzosa, JE. López-Meza, A. Bravo-Patiño, VM. Baizabal-Aguirre. 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infect.* 54(4):399-409.
82. Parassol, N., M. Freitas, K. Thoreux, G. Dalmaso, R. Bourdet-Sicard, and P. Rampal. 2005. *Lactobacillus casei* DN-114 001 inhibits the increase in paracellular permeability of enteropathogenic *Escherichia coli*-infected T84 cells. *Res. Microbiol.* 156:256–262.
83. Pascal R, Gilles F.,2018. A Critical Appraisal of Probiotics for Mastitis Control. *Frentiers in veterinary science*, 1-26p.
84. Paulrud, C. O. 2005. Basic concepts of the bovine teat canal. *Vet. Res. Commun.* 29(3):215-245.

85. Pavaux C. A colour atlas of bovine anatomy [En ligne]. 1992, [<http://bibliotheque.vetalfort.fr/Record.htm?idlist=1&record=19101200124919294829>] (consulté le 03/07/19).
86. Perdigon, G., S. Alvarez, M. Rachid, G. Agüero, and N. Gobbato. 1995. Immune system stimulation by probiotics. *J. Dairy Sci.* 78(7):1597-1606.
87. Pizarro-Cerda, J., and P. Cossart. 2006. Bacterial adhesion and entry into host cells. *Cell* 124:715–727.
88. Pluvinage P, Ducue T., Josse J., Monicat F., "Facteurs de risque des mammites des vaches laitières. Résultats d'enquête", *Rec. Med. Vet.*, 161, (1991), pp. 105-112
89. PYÖRÄLÄ S. (2002). New strategies to prevent mastitis. *Reproduction Domestic Animal*, 37(4), pp. 211–216.
90. Reid, G. 1999. The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(9):3763-3766.
91. Reid, G., M. E. Sanders, H. R. Gaskins, G. R. Gibson, A. Mercenier, R. Rastall, M. Roberfroid, I. Rowland, C. Cherbut, and T. R. Klaenhammer. 2003. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. *J. Clin. Gastroenterol.* 37(2):105-118.
92. Remy D. Les mammites. Guides FranceAgricole, 2010.
- a. rentabilité du troupeau. 1997,. France Agricole Editions, p. 31-37.
  - b. Res. (2008) 75:113–20. 10.1017/S0022029907002932 [PubMed] [CrossRef]
93. Rodriguez, C., J. V. Cofre, M. Sanchez, P. Fernandez, G. Boggiano, and E. Castro. 2011. Lactobacilli isolated from vaginal vault of dairy and meat cows during progesteronic stage of estrous cycle. *Anaerobe.* 17(1):15-18.
94. Sanders ME, Benson A, Lebeer S, Merenstein DJ, Klaenhammer TR. Shared mechanisms among probiotic taxa: implications for general probiotic claims. *Curr Opin Biotechnol.* (2018) 49:207–16. 10.1016/j.copbio.2017.09.007 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
95. Sébastien G., 2016. Contribution à l'élaboration d'un logiciel facilitant la réalisation d'audit « qualité du lait » en partenariat avec le laboratoire Vétérinaire thèse pour le doctorat vétérinaire, la faculté de médecine de Créteil, 179 p.
96. Selsted ME, Tang YQ, Morris WL, McGuire PA, Novotny MJ, Smith W, Henschen AH, Cullor JS. 1993. Purification, primary structures, and antibacterial activities of beta-defensins, a new family of antimicrobial peptides from bovine neutrophils. *J. Biol. Chem.* 25;268(9):6641-6648.
97. Serieys F. (1985). La numération des cellules du lait : interprétation pour le diagnostic et le suivi des infections mammaires. *Recueil de médecine vétérinaire : Les mammites bovines*, 161, (6-7), pp. 553-566.

98. Sérieys F. Modification de la morphologie et de la physiologie de la mamelle, in: Le  
a. tarissement des vaches laitières: une période-clé pour la santé .
99. Velraeds, M. M., van de Belt-Gritter B, H. C. van der Mei, G. Reid, and H. J. Busscher.  
1998. Interference in initial adhesion of uropathogenic bacteria and yeasts to silicone  
rubber by a *Lactobacillus acidophilus* biosurfactant. J. Med. Microbiol. 47(12):1081-  
1085.
100. Wagner S. et Erskine R. Antimicrobials drug use in mastitis. In: Giguere S., Prescott J.F. et  
Dowling P.M. (dir.) (2013). Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 5th Edition. Wiley-  
Blackwell, pp. 519-334.