

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD – DAHLAB
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master 2 en
sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences alimentaires

Option : Sciences alimentaires

**Dépistage des mammites subcliniques chez la vache
laitière par la méthode de C.M.T. et la Conductivité
électrique dans la région de
Ksar El Boukhari.**

Présenté par :

FERGANI Mohamed amine.

Date de soutenance :

Le 17 /06/2013.

Devant le jury :

Mr HADJ SADDOK T.	MCB	USDB	Président
Mme DOUMANDJI A.	MCA	USDB	Promotrice
Mme ABDELLAOUI Z	MAA	USDB	Examinatrice
Mme OUTALEB T.	MAB	USDB	Examinatrice

Année Universitaire : 2012-2013

REMERCIEMENTS

Je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et patience durant toutes mes années d'étude pour arriver à ce stade de formation et d'achever ce modeste travail.

A mes chers parents, pour tous ce qu'il fait pour moi et surtout pour mes études, ainsi qu'il trouvent ce modeste travail le fruit de ces longues années de leurs sacrifices.

A Madame Dr. DOUMANDJI A., ma promotrice, qui m'a fait l'honneur d'encadrer mon travail, pour son sérieux, sa disponibilité, ses précieux conseils et ses efforts exceptionnels.

Je remercie les membres de jury, Messieurs : Dr. HADJ SADDOK T; Mme ABDELLAOUI Z et Mme OUTALEB T .pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

A tous les enseignants qui ont contribué a ma formation, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

A Monsieur BOUKHALFA M le chef laboratoire de la laiterie de Kssar el Boukharie .

A Monsieur TAHAR M, pour m'avoir permet de travaillé dans leur élevage .Merci pour votre accueil chaleureux et votre aide exceptionnelle.

A mes amis : MIMOUNI H, MOULOUD A, OUNNAR D .pour leur aide précieuse dans la rédaction de ce mémoire, Merci pour tout les bons moments passés ensemble.

On tien aussi à remercier le personnel de la bibliothèque de notre faculté, pour leur aide et leur compréhension, Merci.

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail que je n'ai pas pu les citer. Merci infiniment.

DEDICACE

«Louange à Dieu le tout puissant»

Je dédie ce modeste travail :

*-Aux personnes les plus chères à moi dans cette vie.aux ceux qui m'a permet de voire ce monde, à ceux qui ont sacrifié tout leur vie pour le bien de leurs enfants, à ceux qui ont toujours à nos cotés dans les bons moments difficiles, ceux qui nous ont été la source du courage, de la patience et de sagesse et ont partagé toutes nos peines en nous montrant les chemins pour les surmonter afin de nous avoir arriver à de tels niveaux....quoi que je dise , je se saurer exprimer mes sentiments envers vous mes parents..**MAHMOUD ET FARIDA**, que dieu tes garde pour nous et les années à venir nous réservent que du bonheur nchallah .*

*-A mon frère **MOUNIR** et mes sœurs **SARAH ET HADJER**, Merci pour tous que vous avez fait pour moi, que l'avenir soit meilleur avec vous.*

-A toute ma grande famille.

*-A tous mes chers amis **MI MOUNIR HAMID, OUNNAR DJABER, MOULOUD ABD EL HAMID, BOUMADJEN ABD RAHMAN** .et tous mes amies de la promotion 2012-2013*

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

TABLE DES MATIÈRES

RESUME

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION.....1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Rappels anatomo-histologique de la mamelle et la Physiologie de la lactation

1. Anatomie de la mamelle	3
2. Histologie de la mamelle	3
2.1. Structure tissulaire.....	3
2.1.1. Le tissu tubulo-alvéolaire ou parenchyme sécrétoire	3
2.1.2. Le stroma	4
3. Fonctionnement	4
4. Anatomie et conformation du trayon	5
5. Le lait	6
5.1. Définition du lait	6
5.2. Composition du lait.....	6
5.2.1. Eau	8

5.2.2. Matières azotées et protéines	8
5.2.3. Les glucides	9
5.2.4. Les lipides.....	9
5.2.5. Lesminéraux.....	9
5.2.6. Les vitamines	10
5.2.7. Les enzymes	10
5.3. Physiologie de la lactation.....	10
5.3.1. Définition	10
3.3.2. Les étapes de la lactation.....	10
3.3.2.1. Lalactogène.....	10
3.3.2.2. La galactopoïèse.....	11
3.3.2.3. Le tarissement.....	11

CHAPITRE II : Les infections mammaires chez la vache

1. Définition.....	12
2. Classification des mammites.....	12
2.1. En fonction de l'évolution de l'affection.	12
2.1.1. Mammites sub-cliniques	12
2.1.2. Mammites clinique	13
2.1.2.1. Mammites suraigüe	13
2.1.2..2. Mammites aigüe.....	14
2.1.2..3. Mammites subaigüe.....	15
2.1.2..4. Mammites chronique.....	15
2.1.3. Infection latente.....	15
2.1.4. Mammites non spécifique.....	16
2.2. En fonction de l'agent pathogène.....	16
2.2.1. Mammites d'environnement	16
2.2.2. Mammites de tarissement.....	16
2.2.3. Mammites contagieuses.....	17

3. Étiologie	17
3.1. Facteurs favorisants.....	17
3.1.1. Facteurs liés à l'animal.....	17
3.1.1.1. L'âge ou le numéro de lactation... ..	17
3.1.1.2. Conformation de la mamelle.....	17
3.1.1.3. Trayons.....	17
3.1.1.4. Perte de lait.....	17
3.1.1.5. Antécédents infectieux.....	17
3.1.1.6. Stade de lactation.....	18
3.1.2. Facteurs liés à l'élevage.....	18
3.1.2.1. Machine à traire.....	18
3.1.2.2. Hygiène et condition d'élevage.....	18
3.1.2.3. La saison.....	19
3.1.2.4. Stabulation.....	19
3.1.2.5. Facteurs nutritionnels.....	19
3.2. Facteur déterminant : le germe.....	19
3.2.1. Mammites provoqués par <i>Staphylococcus aureus</i>	20
3.2.2. Mammites provoqués par les Streptocoques	21
3.2.3. Mammites provoqués par les bactéries Coliformes	21
3.2.4. Mammites provoqués par les Mycoplasmes.....	22
4. Symptomatologie.....	22
4.1. Symptômes fonctionnels.....	22
4.2. Symptômes locaux.....	22
4.3. Symptômes généraux.....	23
5. Importance économique et sanitaire.....	23
5.1. Pour le producteur.....	23
5.2. Pour le transformateur.....	24
5.3. Pour le consommateur.....	24

CHAPITRE III : Diagnostic des mammites sub-cliniques

1. Diagnostic cellulaires.....	25
1.1. Mesure direct du taux cellulaire (Méthodes directes).....	25
1.1.1. Comptage direct (CCSi).....	25
1.1.2. Numération par compteur Coulter(Coulter conter®).....	25
1.1.3. Numération par fluoro-opto-electronique(fossomatique®)....	26
1.2. Mesure indirect du taux cellulaire (Méthodes indirectes).....	27
1.2.1. Le Californien Mastitis test.....	28
1.2.2. Test de l'activité NA Gasiq.....	29
1.3. Facteurs d'interprétation des résultats.....	29
1.3.1. L'infection.....	29
1.3.2. Les facteurs génétiqu.....	30
1.3.3. L'âge de l'animal.....	30
1.3.4. Le stade de lactation... ..	30
1.3.5. Environnement.....	31
1.3.6. Les hormones	31
1.3.7. Les conditions de prélèvement des échantillons d'analys....	32
1.3.8. Les conditions de conservation des échantillons de lait.....	32
2. Diagnostic chimique.....	32
2.1. Mesure de pH.....	32
2.2. Test de Whiteside.....	33
2.3. La conductivité électrique.....	33
2.3.1. Définition.....	33
2.3.2. Mécanisme d'augmentation de la conductivité du lait.....	33
2.3.3. Les principaux appareils de mesure de la conductivité.....	34

2.3.3.1. Le 4Q Mast®.....	34
2.3.3.2. Le MAS-D-TEC®.....	35
2.3.1.3. Le MMS 3010®.....	37
3. Diagnostic biochimique.....	38
3.1. Les proteines.....	38
3.2. Les enzymes	39
3.3. Le lactose.....	39
3.4. Les ions.....	39
4. Diagnostic Microbiologique.....	39
4.1. Protocole de réalisation.....	39
4.1.1Préevement en fin de traite.....	39
4.1.2. Réfrigération du lait.....	40
4.1.3. Isolements et identification de germe	40
5. Prophylaxie.....	41
 PARTIE EXPERIMENTALE	
MATERIEL ET METHODES	42
1. Matériel pour le test de C.M.T.et C.E.	42
1.1.Effectifs de l'étude.....	42
1.2.Prélèvement.....	42
1.3.Dépistage des mammites subcliniques.....	42
1.3.1. Test de la conductivité électrique.....	42
1.3.2. Test du C.M.T.....	43
2. Méthodologie de réalisation de test C.M.T te C.E.....	44
2.1. La réalisation de test de la conductivité électrique.....	44
2.2. La réalisation de test de C.M.T.....	44
2.3. Interprétation des résultats de C.M.T.....	46
3. Étude des critères d'appréciation des tests utilisés.....	46

4. Examen bactériologique.....	48
4.1. Méthodologie de réalisation	48
4.1.1. Matériel	48
4.1.2. Méthodologie.....	48
4.1.3. Conservation.....	49
4.2. Analyses bactériologique.....	49
4.2.1. Matériel et réactifs utilisés	49
4.2.2. Recherche des Entérobactéries.....	50
4.2.3. Recherche des Staphylocoques	52
4.2.4. Recherche des Streptocoques.....	54
5. Analyses biochimiques	56
5.1. Extraction de la caséine de lait.....	56
5.1.1. Matériel et réactifs.....	56
5.1.2. Méthode de travail.....	56
5.2. Électrophorèse de la caséine de lait.....	57
5.2.1. Définition	57
5.2.2. Matériel et réactifs	57
5.2.3. Méthodologie	58

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Étude de la fréquence des mammites subcliniques en fonction des facteurs de risques.....	60
1.1. Fréquence des mammites subclinique dépistées par C.M.T. et par le test de la C.E.....	60
1.2. Fréquence des mammites subcliniques en fonction de l'âge... ..	61
1.3. Fréquence des mammites subcliniques en fonction de race... ..	63
1.4. Fréquence des mammites subcliniques en fonction de numéro de lactation.....	64
1.5. Fréquence des mammites subcliniques en fonction de stade de lactation.....	65

1.6. Fréquence des mammites subcliniques en fonction de la distance et l'extrémité des trayons – jarrets.....	66
2. Interprétation des résultats des critères d'appréciation des tests utilisés...	67
3. Résultats des analyses bactériologiques	68
4. Résultats des analyses biochimiques	
4.1. Electrophorèse sur acétate de cellulose du lait mammitéux sub-clinique.....	71
4.2. Discussion.....	72

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A.D. : Antérieur Droit.

ADN. : Acide Désoxyribonucléique.

A.G. : Antérieur Gauche.

C.C.S. : Comptage des Cellules Somatiques.

C.E. : Conductivité électrique.

C.M.T. : Californian Mastitis Test.

F.N. : Faux Négatif.

F.P. : Faux Positif.

M.R. : Méthode de Référence.

M.T. : Méthode Testée.

P.D : Postérieur Droit.

P.G. : Postérieur Gauche.

pH. : Potentiel Hydrogène.

V.P. : Vrais Positif.

V.N. : Vrais Négatif.

Gram⁺ : Gram Positif.

Gram⁻ : Gram Négatif.

Str : Streptocoque.

S : Staphylocoque.

C.C.I. : Contage des Cellules Individuelle.

B.S.A. : Bovins Sérum Albumine.

mL : Millilitre.

Kg : Kilogramme.

SDS PAGE :sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure de l'alvéole mammaire.....	4
Figure 2 : Structure et conformation du trayon.....	5
Figure 3 : Appareil de conductimétrie <i>4Q Mast</i> ®.....	34
Figure 4 : Appareil de conductimétrie <i>MAS-D-TEC</i> ®.....	36
Figure 5 : Appareil de conductimétrie <i>MMS 3010</i> ®.....	37
Figure 6 : Appareil de la conductivité électrique <i>4Q Mast</i> ®.....	43
Figure 7 : Matériels pour le test C.M.T.....	43
Figure 8 : Les différentes étapes pour la réalisation de test de la conductivité électrique.....	44
Figure 9 : Différentes étapes pour la réalisation de test de C.M.T.....	45
Figure 10 : Les différentes étapes pour la réalisation d'examen bactériologique.....	48
Figure 11 : Colonies d' <i>Escherichia coli</i> à droite et <i>Klebsiella ssp</i> à gauche.....	51
Figure 12 : Coccies Gram+ en grappe de raisin caractéristique des staphylocoques après coloration de Gram(grossissement 10×100).....	53
Figure 13 : Coccis Gram+ en chainettes caractéristiques de Streptocoques après coloration de Gram (grossissement 10×100).....	55
Figure 14 : Matériel utilisés pour l'extraction de la caséine du lait.....	56
Figure 15 : Trempage de l'acétate de cellulose et dépôt des papiers pontes dans la cuve de migration.....	58
Figure 16 : Migration ; Coloration ; Décoloration de la caséine de lait.....	59
Figure 17 : Fréquence des mammites subcliniques dépistées par C.M.T et le test de C.E.....	60

Figure 18 : Répartition des mammites subcliniques en fonction de l'âge.....	62
Figure 19 : Répartition des mammites subcliniques en fonction de race.....	63
Figure 20 : Répartition des mammites subcliniques en fonction du numéro de lactation.....	64
Figure 21 : Répartition des mammites subcliniques en fonction de stade de lactation.....	65
Figure 22 : Répartition des mammites subcliniques en fonction de la distance et l'extrémité taryons-jarret.....	67
Figure 23 : Fréquence des différentes espèces bactériennes responsables des mammites subcliniques.....	70
Figure 24 : Electrophorèse sur acétate de cellulose réalisé sur du lait sain (à gauche), et du lait de mammites subcliniques.....	71

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Composition moyenne du lait de vache.....	7
Tableau II : Quelques critères de chaque type de mammites.....	16
Tableau III : Principaux agent responsable des infections mammaires	20
Tableau IV : Types cliniques et symptômes associés.....	21
Tableau V : Lecture et notation du C.M.T et relation entre notation, comptage cellulaire et lésion mammaires sur lait individuel.....	28
Tableau VI : Interprétation des résultats de l'appareil 4QMast®	35
Tableau VII : Interprétation des résultats de l'appareil MAS-D-TEC®	37
Tableau VIII : Interprétation de résultats du MMS 3010®	38
Tableau IX : Critères d'appréciation des tests.....	47
Tableau X : Répartition des mammites subcliniques en fonction de l'âge.....	61
Tableau XI : Répartition des mammites subcliniques en fonction de la race.....	63
Tableau XII : Répartition des mammites subcliniques en fonction du numéro de lactation.....	64
Tableau XIII : Répartition des mammites subcliniques en fonction de stade de lactation.....	65
Tableau XIV : Répartition des mammites subcliniques en fonction de la distance et l'extrémité des trayons - jarrets.....	66
Tableau XV : Résultats des critères d'appréciation des tests utilisés.....	68
Tableau XVI : Identification des germes des différents prélèvements.....	69

RESUME

La mammite constitue l'une des pathologies les plus importantes en élevage bovin laitier. Après avoir abordé la pathologie mammaire et les différents types de mammites, deux méthodes de détection des mammites subcliniques chez la vache laitière ont été étudiées : le C.M.T (Californian Mastitis Test) et le test de Conductivité Électrique du lait, et deux examens de confirmation : l'examen bactériologique et L'électrophorèse de lait mammiteux.

Cette étude expérimentale a été réalisée dans la région de Kassar el Boukhari a porté sur un effectif totale de 81 vaches laitière. Les résultats ont révélé une fréquence élevée de mammites subcliniques avec 75,30% par le C.M.T et 51,87% par le test de la conductivité électrique du lait. Parallèlement, différents paramètres liés aux animaux et à l'élevage ont été étudiés. Dans le cadre de cette expérimentation, l'âge, la race, ne semblent pas avoir d'effet direct sur l'apparition des mammites subcliniques et ce contrairement au numéro et stade de lactation et la distance extrémités des trayon-jarrets.

Les examens bactériologiques ont révélé que sur 58 échantillons des laits considérés comme faux négatifs et faux positifs. Les bactéries du réservoir mammaire, dominé par les Staphylocoques et par les Streptocoques, représentent près de 80% des agents infectieux des mammites subcliniques.

L'examen bactériologique de lait confirme que le test C.M.T.est le moyen de dépistage le plus fiable. La diminution de la qualité alimentaire de lait mammiteux a été confirmée par l'électrophorèse de caséine du lait après leur extraction.

Mots clés : Mammites subcliniques, C.M.T., Test de la Conductivité Électrique, Faux positifs, Faux négatifs, Électrophorèse de caséine.

SUMMARY

Mastitis is one of the disease and the different forms of mastitis, two methods of detection of subclinical mastitis in dairy cows were studied :The C.M.T. (Californian Mastitis Test) and the Electrical Conductivity most important diseases in dairy cattle .After reviewing the breast test of milk and two of exams confirmaiton: the bacteriological examination and electrophoresis of mastitis milk.

The present hasbeen realized in the region of Kssar el Boukhari , and covered a total of 81 dairy cows.treveled a high frequency of subclinical mastitis with 75,30% by the C.M.T.and 51,87% by the Electrical Conductivity test of milk.Meanwhile, various parameters associated with animals and livestock have been studied.As part of our experiment, age, race do not seem to have a direct effect on the occurrence of subclinical mastitis, unlike the number and stage of lactation and the distance Hock-Teat end.

The bacteriological examinations revealed on 58 samples considered as false negative and false positive. Bacteria breast reservoir dominated by Staphylococci and Streptococci, represent almost 80% of the infectious agents of subclinical mastitis.

Bacteriological examination of milk confirms that C.M.T. is the most reliable test, The decrease in food quality of the mastitis milk was confirmed by electrophoresis milk casein after extraction.

Keywords: Subclinical mastitis, C.M.T, Electrical Conductivity test , false positive, false negative, electrophoresis casein.

ملخص

يعتبر مرض التهاب الضرع من أهم الامراض التي تصيب الأبقار الحلوب. بعد استعراض هذا المرض و أنواعه المختلفة نم اختبار طريقتين للكشف عن التهاب الضرع الشبه كلينيكي عند البقرة الحلوب :

اختبار C.M.T واختبار النقل الكهربائي للحليب , كما تم الاستعانة باختبارين للإثبات : الاختبار البكتيريولوجي .وعملية استشراد الحليب المفرمج .

أجريت هذه الدراسة التي خصت 81 بقرة حلوب في منطقة قصر البخاري. أظهرت النتائج نسبة مرتفعة لالتهاب الضرع الشبه كلينيكي: 75.30% باستعمال اختبار C.M.T. و 51,87% باختبار النقل الكهربائي للحليب. كما تم دراسة مختلف العوامل المرتبطة بالأبقار و تربيتها. وقد تبين من خلال هذه التجربة ان : العمر و السلالة ليس لها تأثير مباشر علي ظهور التهاب الضرع , وذلك عكس عدد ومرحلة الرضاعة و المسافة بين حلمة الضرع و العرقوب .

الاختبارات البكتيريولوجية تمت علي 58 عينة من الحليب المعتبر خاطئ السليبي و خاطئ الايجابي . البكتيريا المتواجدة في الضرع كثت مسيطرة من طرف المكورات العنقودية و المكورات العقدية بنسبة بلغت 80% من البكتيريا المتسببة في التهاب الضرع الشبه كلينيكي.

الاختبار البكتيريولوجي اثبت ان اختبار C.M.T هو وسيلة الكشف الأكثر مصداقية إن النقص في القيمة الغذائية للحليب المفرمج ثبتت عن طريق عملية استشراد جبنين الحليب بعد استخلاصه.

الكلمات المفتاحية: التهاب الضرع الشبه كلينيكي, C.M.T , واختبار النقل الكهربائي للحليب خاطئ السليبي , خاطئ الايجابي استشراد الجبنين .

INTRODUCTION

L'Algérie est le plus grand pays consommateur de lait au Maghreb, avec une consommation annuelle estimée à plus de 3 milliards de litres, soit environs de 115 litres par habitant et par an.

L'effectif de cheptel bovin en Algérie est représenté par 1 650 000 têtes dont 56% de vaches laitières. La production nationale qui dépasse les 2,5 milliards de litres par an ne couvre qu'environ 35% des besoins des consommateurs. (ONIL, 2011).

La mammites constitue un problème majeur en élevage bovin laitier. C'est l'une des pathologies les plus fréquentes et les plus coûteuses qui touchent la vache laitière. Elle est responsable d'une baisse importante de la production laitière et de l'altération de la qualité du lait.

L'une des solutions à ce problème est un dépistage précoce et performant. En effet, il permet de mettre en œuvre un traitement efficace et rapide visant à éliminer la maladie et à limiter les pertes économiques qu'elle peut engendrer. Il est reconnu que la précocité de détection des infections intra mammaires est un facteur qui favorise une guérison rapide, du fait d'une antibiothérapie plus précoce qui pourrait limiter l'apparition de complications.

Il existe actuellement de nombreuses méthodes de surveillance et de dépistage des mammites qui ont fait leurs preuves dans ce domaine.

La première partie de cette présente étude vise à évaluer la fréquence des mammites subcliniques dans l'élevage bovin laitier, en réalisant un dépistage comparatif par le Californian Mastitis Test (C.M.T) et le test de la conductivité électrique (C.E).

La seconde partie concerne l'examen bactériologique des germes responsables de la mammites, et étudier les différents facteurs de risque qui favorise l'apparition des pathologies mammaires.

La troisième étape s'intéresse à l'impact des germes pathogènes sur l'hydrolyse des caséines du lait et leur effet sur la diminution de la qualité alimentaire du lait.

Objectifs ce travail est :

- Le dépistage des animaux atteints de mammites subcliniques est réalisé à l'aide de deux méthodes : le test C.M.T (Californian Mastitis test) et le test de conductivité électrique.
- La détermination des critères d'appréciation du test de la conductivité électrique du lait par rapport au C.M.T.
- La recherche, isolement et identification des différentes espèces bactériennes responsables de mammites subcliniques notamment *Staphylococcus* ssp, *Streptococcus* ssp, *Escherichia coli* et *Klebsiella* et *Pseudomonas*.
- L'étude de profil électrophorétique du lait mammitique.

Chapitre I

Rappels anatomo-histologiques de la mamelle

1. Anatomie de la mamelle

Chez la vache, la mamelle ou le pis, en forme de sac, comporte quatre trayons cylindriques correspondant chacun à un quartier (BONNES et *al.*, 2005). Les quatre quartiers sont indépendants les uns des autres. Ils sont en effet séparés par un ligament médian de fixation et des ligaments latéraux qui les attachent à la paroi abdominale et au bassin. Les quartiers avant et arrière sont séparés par une fine membrane conjonctive. Ces séparations font que la qualité et la quantité de lait varient d'un quartier à l'autre, mais aussi que les bactéries ne peuvent pas passer d'un quartier à l'autre. (HANZEN, 2000).

2. Histologie de la mamelle

Les mamelles (mammary glands) sont des glandes cutanées dont la fonction est de sécréter le lait. Elles constituent la plus remarquable caractéristique des mammifères (BARONE, 1990).

2.1. Structure tissulaire

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

2.1.1 Le tissu tubulo-alvéolaire ou parenchyme sécrétoire

Ce tissu est formé de canalicules ou galactophores qui drainent les alvéoles. Ces derniers également appelés «acini» représentent l'unité sécrétoire de la glande mammaire. Ils sont regroupés en lobules et ces derniers sont rassemblés en lobes. Chaque alvéole est un petit sac formé de plusieurs cellules épithéliales sécrétrices appelées : lactocytes. Ces derniers sont entourés d'un réseau de cellules myoépithéliales étoilées. (DERIVAUX et ECTORE, 1980). Au cours de la tétée ou de la traite, les cellules myoépithéliales participent en se contractant à l'éjection du lait contenu dans les alvéoles (BONNES et *al.*, 2005).

2.1.2 Le stroma

Le stroma formé de tissu et conjonctif et de tissu adipeux (Fig.1). S'insinue entre les parties sécrétoires. Il constitue la majorité du tissu de glande non sécrétoire tandis que chez la femelle en lactation il se réduit au profit du parenchyme sécrétoire. (FRONCOZ, 2004).

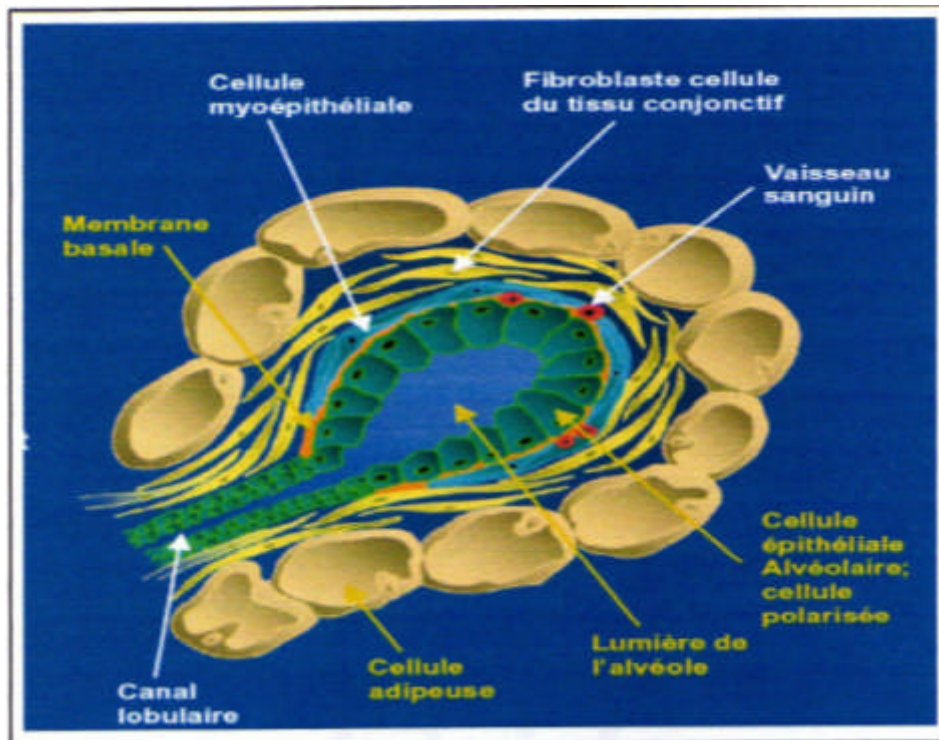


Figure 1 : Structure de l'alvéole mammaire (WATTIAUX ,1999)

3. Fonctionnement

Les tissus lobulo-alvéolaire siège de la synthèse du lait est formé pendant la gestation et fonctionne pendant la gestation.

La structure interne de la cellule aréolaire traduit une activité synthétique très relevé : Mitochondrie très développé appareil de golgi et ergastoplasme très abondant. La cellule aréolaire est capable de synthétisé l'équivalent de son poids de protéines par jour ce qui la place par mis la cellule le plus active. Cette spécialisation de cette structure particulière explique que la cellule aréolaire ne se divise plus et est incapable de revenir à une structure moins différencié. Ainsi lorsqu'elle a finie de fonctionner, elle est détruite.

La cellule aréolaire prélève dans le sang les éléments nécessaires à la synthèse du lait. Une partie des éléments nutritifs sans subir de transformation : Eau, ion, vitamine, immunoglobulines. Mais la majorité de constituant du lait est élaboré par la cellule elle-même à partir du nutriment prélevé dans le sang.

4. Anatomie et conformation du trayon

Le trayon nommé aussi «tétine » est une papille mammaire par laquelle se termine chaque quartier de la mamelle. Sa forme est conique ou plus normalement cylindrique, d'une longueur qui varie de 3 à 14 cm et d'un diamètre entre 2 et 4 cm (Fig.2) la citerne du pis est séparée du sinus du trayon par des replis annulaires. A l'extrémité inférieure du trayon se trouve le sphincter entourant le canal du trayon qui est bordé d'un anneau tissulaire appelé : la rosette de Fürstenberg (renfermant des lymphocytes). Cette dernière est impliquée dans les premières étapes de la réponse immunitaire (HANZEN, 2000).

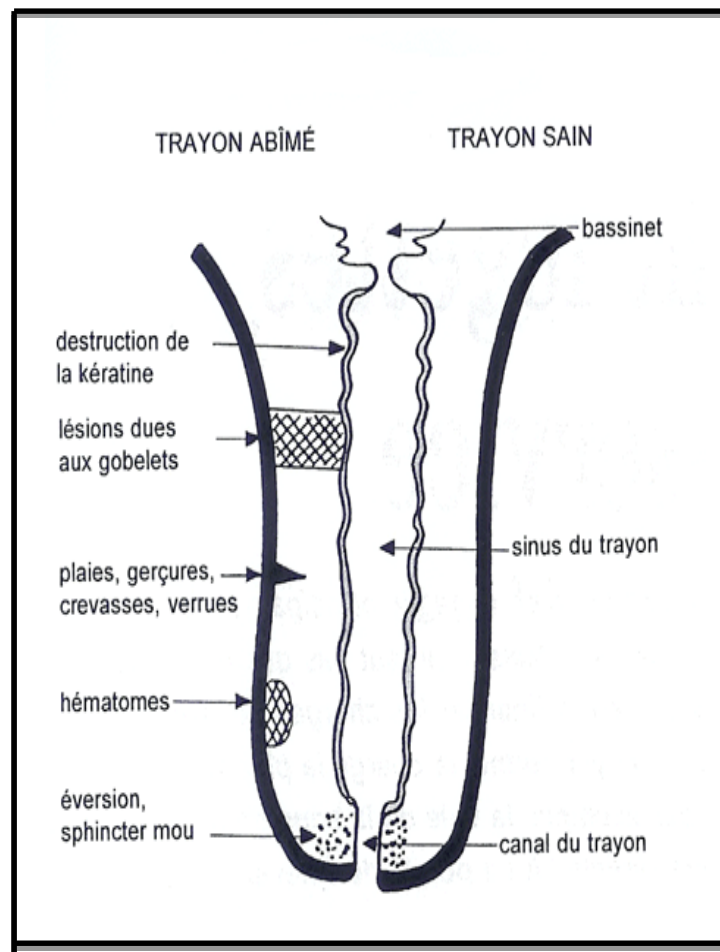


Figure2: Structure et conformation du trayon (THIBERT, 1996).

5. Lait

5.1. Définition du lait

Le mot lait, Sans indication de l'espèce, désigne en France le lait de vache; il est le produit intégrale de la traite total en interrompue d'une femelle laitière bien portant ; bien nourrie et non surmenée ; il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (CHEFTEL et *al.*,1992).

Le lai, destiné à l'alimentation du jeune animal naissant. Du point de vue physicochimique, le lait est un produit très complexe. Une connaissance approfondit de sa composition de structure et de ses propriétés physiques et chimiques est indispensable à la compréhension des transformations du lait et des produits obtenus lors des différents traitements industriels (VIGNOLA, 2002).

5.2. Composition du lait

Le lait est composé de quatre élément majeur : protéine' lipide, glucide et sel minéraux ; plusieurs élément mineur : vitamine, oligo-élément, gaz dissous lécithine, enzyme, nucléotide, certaines d'entre eux jouent un rôle en raison de leur activité biologique (ALAIS et LINDEN ,1997) le tableau (I) présente la composition moyenne du lait de la vache de race laitière.

Tableau I : Composition moyenne du lait de vache. (ALAIS et LINDEN ,1997)

	Composition g/L	État physique des composants
<ul style="list-style-type: none"> Eau 	905	Eau libre (solvant +eau liée 3,7%).
<ul style="list-style-type: none"> Glucide : lactose 	49	Solution
<ul style="list-style-type: none"> Lipide 	35	Émulsion de globule gras (3a 5μ).
-Matière grasse (proprement dite)	34	
-Lécithine (phospholipide)	0,5	
-partie insaponifiable (stérois, carotène, tocophérol)	0,5	
<ul style="list-style-type: none"> Protides 	34	Suspension micellaire de phosphcaseinate de calcium (0,08a 0,12μ) Solution (colloïdale)
-caséine	27	
-protéines solubles	5,5	
-substances azotées non protéique	1,5	
<ul style="list-style-type: none"> Sel 	09	Solution (varie) Solution ou état colloïdal (P et Ca)
-L'acide citrique (en acide)	0,2	
-L'acide phosphorique (P2O5)	2,6	
-L'acide chlorotique(NaCl)	1,7	
<ul style="list-style-type: none"> Constituants divers (Vitamines, enzymes, gaz dissous) 	Traces	
Extrait sec total(EST)	127	
Extrait sec non gras (ESD)	92	

5.2.1. Eau

Eau est le plus important. La teneur en eau est régulée par la concentration en lactose qui dépende de la vitesse de synthèse l' α -lactalbumine (BOND, 2005).

5.2.2. Matières azotées et protéines

a-matière azotées

Le lait de vache contient environ 5,3 g d'azote par kg dont 95% sous forme de protéines et 5% matière azote non protéique (LUQUET, 1986; MAHAUT et *al.*, 2000).

b.les protéines

Les protéines du lait synthétisées dans la glande mammaire sont constituées par les acides aminés amenés par le sang. Comme les protéines microbiennes représentent la source principale d'acides aminés utilisés dans la synthèse des protéines du lait (STOLL, 2003). Les protéines se divisent en deux catégories :

b.1 Les protéines majeures

Représente les protéines spécifiques de lait sont les caséines (80 à 90%) des protéines totales les principales caséines α , β et K (sont des phosphoprotéines riches en proline et pauvres en cystéine). Elles sont présentes sous forme de micelle compose d'une association des caséines α , β chevillée par une caséine K. plusieurs minéraux sont associés aux micelles de caséines, mais c'est surtout qui est le plus représenté (BOND, 2005).

b.2 les protéines mineures

Ce sont des protéines de liaison de métaux comme le fer et le cuivre (lactoferrine et transferrine) ; des glycoprotéines membranaires et des enzymes, parmi les protéines mineures on trouve les immunoglobulines et l' α -lactalbumine qui sont les plus importantes en quantité (BOND, 2005).

c. Azote non protéique

Représente en moyenne 5% de l'azote du lait et se présente sous forme de l'urée, créatine, ammoniacque, acide amine libre, des vitamines nucléotides (LUQUET, 1986).

5.2.3. Les glucides

Le sucre principal du lait et le lactose, il est assimilable grâce à la présence au niveau de l'intestin grêle d'une enzyme : «lactase». Le lactose est dégradé en acide lactique par les bactéries lactique. Ce qui est indispensable à la fabrication de fromages (FOURNIER, 2006).

Le lactose est un glucide réducteur appartenant au groupe des diholosides. Il est formé par l'union d'une molécule de α ou β - glucose et d'une molécule de β - galactose. Sa teneur s'élève en moyenne, à 50g par litre de lait. D'autres sucres sont également présents mais seulement à l'état de traces (VIESSEYRE, 1979).

5.2.4. Les lipides :(matière grasse)

La matière grasse dont la qualité varie en fonction des conditions d'élevage et présente dans le lait sous forme de globule gras de 1 à 8 micromètre de diamètre. Emulsionnées dans la phase aqueuse, le taux est en variable (environ 10 milliards de globules /ml de lait). (LINDEN et LORIENT, 1994).

Les triglycérides sont les principaux constituants de la matière grasse (97-99% de lipides totaux). Ils contiennent principalement des acides gras saturés (60-70%) ainsi que des acides gras –mono-insaturés en quantité faible (25-30%) (CHEFTEL, 1976).

A cette fraction lipidique dominante s'ajoute des lipides polaires qui sont surtout des phospholipides, ils sont principalement sous forme libre dans la membrane globulaire. Des substances liposolubles, insaponifiables principalement les carotènes et les vitamines A et D forment le reste (LINDEN et LORIENT, 1994).

5.2.5. Les minéraux

Les minéraux présents dans le lait soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme libre dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) les autres (calcium, phosphore, magnésium et soufre) existent dans les deux fractions sous forme libre (calcium et magnésium ionisés) ou complexes ester phosphorique et phospholipide). Dans la fraction colloïdale les minéraux (calcium, phosphore, soufre, et magnésium) sont associés ou liés à la caséine au sein de micelles (LUPIEN, 1995).

5.2.6. Les vitamines

Presque tous les vitamines connues sont présentent dans le lait de vache a l'exception de la vitamine C (LUPIEN, 1995).Toutefois, les teneurs sont souvent assez faibles (VEISSERZRE, 1979).

Les vitamines du lait se classent en deux catégories :

-les vitamines dites hydrosolubles : soluble dans l'eau et lactosérum (vitamine B)

-les vitamines dites liposolubles : soluble dans les graisses (vitamine A, D, E et K).

5.2.7. Enzymes

Le lait véritable tissu vivant. Contient des nombreuses enzymes (VISSEYRE, 1979).Mais leur rôle n'est pas clairement établi parmi ces enzymes on cite : la lipase, protéase, phosphatase et xanthine oxydase (LUPIEN, 1995).

5.3. Physiologie de la lactation

5.3.1 Définition

La lactation comprend l'ensemble des phénomènes physiologiques présidant à l'élaboration puis l'excrétion des constituants du lait (HANZEN, 2000).

5.3.2. Les étapes de la lactation

La lactation proprement dite comprend trois périodes : La lactogènes, La galactopoïèse, Le tarissement.

3.3.2.1. La lactogénèse

C'est le déclenchement de la sécrétion lactée qui comprend elle –même la lactogènes 1 et la lactogènes 2 (SOLTNER, 2001).

- **La lactogènes 1** : commence bien avant le vêlage. Pendant la gestation, les œstrogène stimulent les cellules de l'antéhypophyse et les préparent a sécréter la prolactine (PRL).
- **La lactogènes2** : juste après la mise-bas, la chute tu taux de progestérone par la disparition do corps jaune libère la sécrétion de l'hormone lactogène, il ya donc montée du lait.

3.3.2.2. La galactopoïèse

C'est l'entretien de la sécrétion lactée et l'optimisation de la synthèse du lait, qui est assurée par un réflexe neuro-hormonal développé par la succion du trayon par le petit et le massage exercé lors de la traite, excitant ainsi les terminaisons sensibles de la mamelle. Un influx nerveux sensitif gagne le cerveau par la moelle épinière, puis l'hypophyse et entretient la sécrétion de la prolactine (SOLTNER, 2001).

3.3.2.3. Le tarissement

Il existe différentes définitions du tarissement, plus ou moins limitatives selon le contexte. Le tarissement c'est la période pendant laquelle la vache n'est pas traite, c'est à dire la période sèche. C'est une période synonyme de grands changements alimentaires mais surtout hormonaux. (SERIEYS, 1997).

Le tarissement constitue une étape capitale chez la vache laitière qui conditionne la réussite de la future lactation (BEGUIN-COLIN, 2005).

Chapitre II

Les infections mammaires chez la vache

1. Définition

Les lésions dues à des coups ne sont pas rares. Souvent le lait fournie par la mamelle blessée ne peut être commercialise en raison des saignements tissulaires. Les infections mammaires sont néanmoins bien plus fréquentes que les lésions de pic .ces inflammations portent le nom mammites (DIE GRUNE, 2002).

Les mammites sont des inflammations, presque toujours microbienne, résultant soit d'une infection microbienne locale, soit d'une infection microbienne générale intéressant tous l'organisme (LEVESQUE, 2006).

2. Classification des mammites

2.1 En fonction de l'évolution de l'affection

On définit les différents types de mammites comme suites :

- Sub-clinique
- Clinique

- ® Suraiguë

- ® Aiguë

- ® Subaiguë

- ® Chronique

- Latente
- Non spécifique

2.1.1. Mammites sub-cliniques

Elles sont par définition asymptomatiques .l'état générale n'est pas altéré, la mamelle parait saine.la sécrétion parait normale. Cependant, l'analyse du lait permet de mettre en évidence des modifications cytologiques, microbiennes et chimiques.

- cytologiques : augmentation du nombre de cellules stomatiques.
- microbiennes : présence de germes (bactéries essentiellement).
- chimiques : diminution des éléments synthétisés (caséines, lactose, lipide) et augmentation des éléments filtrés (globuline, chlorures...). (GUERIN, 2007).

L'infection sub-clinique peut alors guérir spontanément ou rester à ce stade plusieurs mois.

Elle peut aussi s'aggraver. Dans ce cas, des signes visibles apparaissent et on parle maintenant d'un cas clinique .selon le type de pathogène présent dans le troupeau, les cas de mammites sub-clinique sont de 2 à 20 fois plus fréquents que les cas de mammite clinique (LEVESQUE, 2006).

Les germes les plus fréquents lors de la mammite sub-clinique sont : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* et parfois *Streptococcus uberis* (BERTIN, 2009).

2.1.2. Mammites cliniques

Les mammites cliniques peuvent être provoquées par une grande diversité de bactéries, notamment des streptocoques, staphylocoques (Gram+) et des coliformes (Gram-). (RYCHEMBUSH, 2003).

En générale, une vache qui souffre d'une mammite clinique a un pis gonflé, chaud et douloureux au toucher le lait contient des caillots de dimension variable ou des filaments s'coagulés, ou encore du sang et du pus .la mammite est systématique lorsque le corps entier de la vache réagit a une infection localisée dans le pis .les vaches atteints ont de la fièvre et perdent leur appétit à cause des toxines produits par les bactéries (WATTIAUX, 2000).

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

- le type suraigüe .
- le type aigu.
- Le type sub-aigu
- Le type chronique

2.1.2.1. Mammites suraigüe

Elles se traduisent par une inflammation très violente de la mamelle qui est congestionnée, douloureuse, chaude, souvent hypertrophiée.la sécrétion lactée est soit très modifiée avec un aspect séreux, aqueux, hémorragique, sanieux ou purulente, soit interrompue. L'état général est souvent très altéré : hyperthermie, abattement...

Ces mammites se caractérisent également par une très grande rapidité d'apparition et d'évolution. L'évolution souvent mortelle en absence de traitement .Ces mammites sont peu fréquentes. (GUERIN et *al.*, 2007).

On distingue deux formes caractéristiques de mammites suraiguës : la mammite gangréneuse et la mammite colibacillaire.

◊Mammite gangréneuse

Elle est due le plus souvent à des souches de staphylocoque (*Staphylococcus aureus*), productrice de l'hémolysine α . Cette toxine provoque une vasoconstriction locale prolongée qui empêche l'irrigation sanguine de la partie distale du quartier infecté entraînant la nécrose des tissus qui apparaissent de couleur noirâtre, froids et la sécrétion est alors nauséabonde.(GOURREAU et BENDALI, 2008).

◊Mammite colibacillaire

Parfois dite paraplégique car pouvant entraîner le décubitus de l'animal. Elle est due à des bactéries gram négatif, principalement *Escherichia coli* et *Klebsilla spp.* (HAZLET *al.*,1984). les symptômes généraux sont liés à l'endotoxémie et à ses conséquences surtout le syndrome fébrile (NAKAJIMAT et *al.*, 1997).

2.1.2.2. Mammites aiguës

On parle de mammite clinique aiguë lorsque l'infection mammaire dépasse les défenses locales de la vache (FAROULT, 2000).elle est plus souvent observée au cours des premières semaines après le vêlage et peut résulter d'une infection dormante pendant la période de tarissement, bien que des cas puissent survenir pendant toute la lactation (ROGER et WEAVER, 2006).

Le signe le plus évident d'une mammite aiguë est un quartier hypertrophié, induré, chaud et douloureux. Une inflammation rouge de la cincture du trayon est visible, un œdème sous cutané important est observé et la peau à l'extrémité du trayon est congestionnée (ROGER et WEAVER, 2006).

Une importante chute de la production laitière est remarquée, la sécrétion lactée présente un aspect crémeux, de couleur bleu verdâtre et d'odeur nauséabonde (FAROULT, 2000).

2.1.2.3. Mammites subaigüe

La mammite subaigüe est une inflammation perceptible au toucher, la réaction de défense immunitaire provoque la précipitation des protéines de lait, qui prend un aspect «caille» grumeleux (CAUTY et *al.*,2003).

2.1.2.4. Mammites chronique

Les mammites chroniques représentent le problème de sante mammaire le plus rependue et entraine de graves pertes économiques (DIEGRUNE, 2002).

C'est une inflammation modérée mais persistante de la mamelle, évoluant lentement, sur plusieurs mois, voire plusieurs années, parfois durant la vie entière de l'animal. Elle fait habituellement suite a une mammite aigüe ou suraigüe .L'état général de l'animal n'est pas affecté. Le lait présente de façon plus au moins régulière, des grumeaux dans les premiers jets .petit à petit, la sécrétion diminue, le quartier s'indure et finit par se tarir complètement. On note souvent l'apparition d'épisode clinique plus au moins intenses traduisant une mammite subaigüe.

Cette évolution chronique est la forme la plus caractéristique des infections dues aux *staphylocoques* ou aux *streptocoques* (WESTWEBER et LEIPOLD, 1994).

2.1.3. Infection latente

L'expression « infection latente » est parfois utilisée pour une situation ou un pathogène majeur s'est établi dans un quartier alors que la vache n'a pas encore commencé à réagir à l'infection. L'apparence du lait et le comptage des cellules stomatique (CCS) sont normaux (LEVESQUE, 2006) .

Plusieurs germes peuvent être excrétés dans le lait sans mammite, notamment *Coxiella burnetti* et *Brucella melitensis biovar abortus*, *Listeria monocytogenes*.

Signalons qu'il s'agit de germes abortifs mais que l'excrétion dans le lait est possible même en absence d'avortement ou de métrite et qu'elle est souvent intermittente (DODOUET, 2004).

Tableau II : Quelque critère de chaque type de mammite (DODOUET, 2004)

Stade	Critères		
	Présence de bactéries	Plus de 50000 cellules par mL	Signes visible
Latente	+		
Sub-clinique	+	+	
Clinique	+	+	+

2.1.4. Les mammites non spécifiques : (non infectieuses)

Il s'agit de l'inflammation de la mamelle sans présence de germes. Ainsi l'utilisation d'antibiotiques reste inutile. Elle peut être clinique ou subclinique. Les mammites non infectieuses deviennent souvent infectieuses si la cause n'est pas identifiée rapidement : tissu mammaire fragilisé et plus sensible aux infections (National Mastitis Council, 1996).

2.2. En fonction de l'agent pathogène

Une nouvelle nomenclature se permet de les classer en mammites d'environnement et tarissement et mammite de traite (contagieuse).

2.2.1. Mammites d'environnement

Les mammites de l'environnement sont souvent causées par des coliformes ou par le *Streptococcus uberis*, *Str. agalactiae*, ces microbes vivent dans le fumier et dans la litière souillée. Ils atteignent donc le trayon entre les traites (LEVESQUE, 2006).

Parmi les bactéries gram- : *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp .

Ils y a d'autres germes d'environnement tels que *Bacillus* spp, les champignons et les levures (HANZAN, 2005).

2.2.2. Mammites de tarissement

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

Ils s'avéré que *Str.uberis* et *Str.disgalactiae* ont aussi responsable de nombreuse mammites qui se produisent en début et en fin du période de tarissement (HANZEN, 2005).

2.2.3. Les mammites contagieuses

Les mammites contagieuses sont surtout causées par le *S .aureus*, qui se transmet assez facilement d'une vache à l'autre, Surtout au moment de la traite.

Ce microbe cause souvent des mammites chroniques (LEVESQUE, 2006).

3. Etiologies

3.1 Facteurs favorisants

3.1.1. Facteurs liés à l'animal

3.1.1.1. L'âge ou numéro de lactation

Les vaches âgées ayant assuré plusieurs lactations sont plus réceptives aux nouvelles infections que les vaches jeunes. Cette relation est due en partie à la dégradation progressive de l'état des mamelles et des trayons (SERIEYS, 1997).

3.1.1.2. Conformation de la mamelle

Les mamelles décrochées qui exposent les trayons aux contaminations bactériennes, aux blessures et aux traumatismes s'infectent plus fréquemment que les mamelles hautes, équilibrées et bien suspendues (SERIEYS, 1985).

3.1.1.3. Trayons

Les trayons en forme de cylindres sont plus souvent infectés que ceux en forme d'entonnoir, la forme en bouteille étant plus défavorable (HANZEN, 2010)

3.1.1.4. Perte de lait

Les vaches qui perdent leur lait dans les jours qui suivent l'arrête de la traite ou dans les jours qui précèdent le vêlage ont quatre fois plus de risque d'être infectées pendant la période sèche (SMITH et TODHUNTER, 1985).

3.1.1.5. Antécédents infectieux

Les vaches déjà infectées dans un ou plusieurs quartiers au moment de l'arrête de la traite sont beaucoup plus sujette aux nouvelles infections pendant la période sèche

que les vaches non. Il y a une relation entre le nombre de quartiers déjà infectés chez une vache et le risque de nouvelle infection dans ses quartiers non encore infecté (SERIEYS, 1997).

3.1.1.6. Stade de lactation

Au tarissement, l'accumulation des fluides et l'augmentation de la pression dans la mamelle entraînent la dilatation du canal du trayon et favorisent ainsi l'entrée et la présence d'agents pathogènes de l'environnement. Pendant la lactation, la mamelle est exposée à l'infection après chaque traite, le sphincter du trayon mettant deux heures à se renfermer totalement (COLIN, 2000).

3.1.2. Facteurs liés à l'élevage

3.1.2.1. Machine à traire

La machine à traire peut (GIRODON, 2001) :

- Diminuer la résistance de la vache aux infections par un traumatisme tel qu'un vide trop élevé un fonctionnement inadéquat du manchon entraîne des lésions : soit une éversion du canal du trayon, soit une congestion ou un œdème du canal.
- Provoquer la perte de l'élasticité du trayon entraînant des lésions dans sa partie supérieure.
- Provoquer un dépôt de matières grasses provenant du lait au niveau du manchon trayeur, ce qui augmente la population microbienne.
- Entraîner un vide en fin de traite provoquant ainsi le reflux du lait vers la mamelle avec la possibilité d'aspiration éventuelle de bactéries.
- Contaminer une vache saine avec les germes d'une autre vache ou ceux de l'environnement.

3.1.2.2. Hygiène et conditions d'élevage

Il est évident que le manque d'hygiène est un facteur de risque très important dans l'apparition des infections mammaires. Il serait utile de mettre en œuvre le trempage du trayon après la traite dans un antiseptique approprié qui prévient à lui seul 40% des nouvelles infections (GIRODON, 2001). Les infections mammaires sont plus fréquentes lorsque l'aération est insuffisante, la densité des animaux est trop

importante, lors d'un défaut de drainage du bâtiment ou lorsque les abreuvoirs ou les mangeoires sont ouverts sur l'aire de couchage (SERIEYS, 1997).

3.1.2.3. La saison

L'infection mammaire par les coliformes et *staphylococcus uberis* est au maximum pendant l'été. Ceci est dû à une exposition maximale des trayons aux coliformes présents dans la litière, dont la croissance augmente par suite de la température et de l'humidité élevée (SMITH et TORDHUNTER, 1985).

3.1.2.4. Stabulation

Les vaches en stabulation libre avec une litière confortable dans l'aire de repos, ont une incidence plus faible de mammites que celles en stabulation libre sur sol dur, ou celles en stabulation entravée dans les étables traditionnels. De même que la fréquence des lésions des trayons est plus fréquente en stabulation entravée qu'en stabulation libre et lorsque la litière est suffisante (EKESBO, 1996; GROMMER et al., 1972).

3.1.2.5. Facteurs nutritionnels

Les phagocytes dont l'activité est bactéricide et associée à un métabolisme oxydatif extrêmement actif, sont particulièrement dépendants d'apports suffisants en vitamine E et sélénium (SERIEYS, 1997). Le fer joue un rôle important dans la prévention des mammites, il est relié à la lactoferrine (KATHOLM, 1983 ; NUIJENSJ. et al, 1996). Une carence en zinc (KINCAIDR, 1984), cuivre et cobalt ont été régulièrement constatées dans les troupeaux laitiers à forte incidence des mammites (MEISSONIERL, 1992).

3.2. Facteur déterminant : le germe

De nombreux germes ont été rencontrés dans la mammité, et chacun d'eux sera envisagé comme provoquant une mammité spécifique :

Streptococcus agalactiae, *S-uberis*, *S-disgalactiae*, *Staphylococcus aureus* et les micro-organismes environnementaux (*Escherichia coli* et autre coliforme) provient du sol, de la litière, de l'eau, dont la contamination se fait par les déjections. (Tableau III).

Tableau III : Principaux agent responsable des infections mammaires (BAILLARGEON, 2005).

	Agents pathogènes majeurs	
	Contagieux	Environnementaux
Source d'infection	Quartiers infectés	Litière sale, erreurs de la traite, mauvaise fermeture du trayon
Propagation	Pendant la traite	En dehors de la période de la traite
Caractéristique de l'infection	Généralement chronique	Généralement de courte durée
Détection	Dans le lait par CCS (subclinique)	Signes visibles et souvent sévères (clinique)
Organisme	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Mycoplasma bovis</i>	Gram + : <i>streptococcus uberis</i> Gram - : coliforme (<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiela</i> , <i>Enterobacter</i>)
	Agents pathogènes mineurs	
Organisme courants	<i>Levures :</i> <i>Actiomyces pyogenes</i>	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Cyclobacterbovis</i>

3.2.1. Les mammites provoquées par *Staphylococcus aureus* :

Les *Staphylococcus aureus* vit à l'extérieur du pis .a la surface de la mamelle et provoque de nombreuses mammites cliniques et subcliniques.

S.aureus est reconnue comme l'agent le plus souvent isolé du lait .Cet organisme persiste très longtemps dans la glande mammaire, ce qui explique sa forte prévalence. Plusieurs facteurs permettent à *S. aureus* de suivre dans la glande mammaire :

- * Colonisation du parenchyme.
- * Formation d'abcès.
- * Production de toxines : hémolysines, leucocydines ,enterotoxines.

* Production d'enzymes.

* Résistance à la phagocytose (FECTEAU, 2000).

3.2.2. Les mammites provoquées par les Streptocoques

Parmi les quels on distingue :

- **Streptococcus agalactiae**

L'infection de la glande mammaire par *Streptococcus agalactiae* provoque une mammite spécifique chez la vache (BLOND, 1976).

Cet organisme vit uniquement dans le pis de la vache et ne survit que quelque minute à l'air libre (WATTIOUX, 2006).

20 à 30% des cas, on considère que le principal réservoir de *Str.agalactiae* est la glande mammaire. *Str.agalactiae* est un organisme qui se multiplie rapidement en surface de l'épithélium mammaire et n'envahit pas le parenchyme.

- **Streptococcus uberis et Streptococcus dysgalactiae**

30 à 40% des cas .les affections mammaires provoquées par ces deux organismes se trouvent dans l'environnement de la vache, et dans le sol et l'eau contaminée par les matières fécales (WATTIOUX, 2006).

Ils prennent de l'importance depuis un certain nombre d'année, notamment dans les effectifs ou l'infection à *S.agalactiae* a été jugulée ou amenée à une fréquence très réduite (HENDERSON, 1976).

3.2.3 Les mammites provoquées par les bactéries Coliformes

La mammite due aux coliformes est considérée habituellement comme une infection accidentelle, ordinaire d'un environnement contaminé. L'absence de lavage de mamelle avant la traite, l'emploi de gobelets trayeur. Des soutes ou de tube a infusion contaminés.

3.2.4 Les mammites provoquées par les Mycoplasmes :

Mycoplasme *M. bovis* et le principale agent responsable des mammites a mycoplasmes chez les vaches laitières. Partout dans monde néanmoins, isolement de onze autre espèces de mycoplasme à partir des cultures de l'ait.

La contamination des animaux se fait à partir des animaux porteurs.

Le mycoplasme pénètre dans la glande mammaire par voie ascendante via le sphincter du canal du trayon. *M. bovis* peut survivre jusqu'à un mois dans l'environnement, la contamination se fera donc vache a vache par du matériel contaminé. Principalement au moment de la traite mais aussi lors d'un traitement intra mammaire. (FRANCOZ, 2004).

4. Symptomatologie

4.1. Symptômes fonctionnels

Ils sont des perturbations qualitatives et quantitatives :

-Qualitative

Il s'agit essentiellement de modifications de l'aspect du lait : apparition de grumeaux, c'est-à-dire de caillots de fibrine, dans la sécrétion .l'apparition de ces grumeaux constitue le premier symptôme observé par l'éleveur lors de la préparation de la mamelle a la traite.

-Quantitative

Il y a diminution de quantité de lait produit dans la majorité des cas, les symptômes fonctionnels seul présents. Parfois l'inflammation est suffisamment importante pour se traduit par une symptomatologie local, voire générale.

4.2. Symptômes locaux

Ils sont perceptibles à l'inspection et à la palpation du quartier atteint.

Mammite aiguë: le quartier est tuméfié, chaud, douloureux et parfois rouge .ce sont les signes de l'inflammation.

Mammites chronique : le quartier est atrophié, voire sclérosé avec présence de « noyau induré » (on parle de mamelle noueuse).

4.3. Symptômes généraux

Ils ne sont présents que lors de mammites aiguë et surtout lors de la mammite suraiguë. Il s'agit le plus souvent d'un syndrome fébrile avec hyperthermie, perte d'appétit, arrêt de la rumination. Des troubles locomoteur sont parfois présent avec parésie voire paraplégie.

Ce sont les signes d'une intoxication .lors de mammites suraiguë l'altération de l'état générale sévère et constante. Lors de la mammite aigue elle est constante et peu importante (GUERIN *et al.*, 2007).

Tableau IV: Types cliniques et symptômes associés (GUERIN, 2007).

Symptômes Mammites		Généraux	Locaux	Fonctionnels
		Mammites clinique ≤10% des infections mammaires	Suraiguë	+
Aiguë	±		+	+
chronique	0		+ ou 0	+
≥90% des infections mammaires	Sub-clinique	0	0	0

+ : Présence de manifestation

- : Absence de manifestation

5. Importance économique et sanitaire

L'impact des mammites va bien au-delà de la barrière de la ferme et pose un problème pour toute filière :

5.1 Pour le producteur

Les mammites représentent une perte financière non négligeable à apprécier dans les formes sub-cliniques car elles passent le plus souvent inaperçue pour l'éleveur (DEDERT, 2001) : pertes en lait, en médicaments et honoraire vétérinaires. L'importance de ces pertes dépend de plusieurs facteurs tels que le germe impliqué, le stade de lactation, ainsi que le type de mammites (HANZEN, 2000).

Les pertes moyennes de lait ont été estimées à 524 Kg par vache et par an. (MTAALLACH, 2002).

5.2 Pour le transformateur

Les conséquences majeures des mammites sont liées à la diminution en protéines insolubles : la caséine de lait de mammité subit de nombreuses altérations chimiques et biochimiques (RISCH, 1978).

5.3 Pour le consommateur

La présence de résidus d'antibiotiques donne aux produits laitiers une saveur indésirable (LEROUXY, 1999).

Mais le danger essentiel réside dans l'apparition de souches bactériennes anti bio résistantes pouvant contaminer l'homme ou déclencher des allergies (TOLLEFSON, 1998).

Par ailleurs, la sécurité alimentaire du consommateur se trouve atteinte par la présence dans le lait cru de germes pathogènes tels que :

Staphylococcus aureus dont les toxines peuvent entraîner des troubles digestifs graves.

Listeria dont les formes graves peuvent entraîner des avortements, des méningites et sont parfois mortelle .Heureusement, les mammites à *Listeria* sont très peu fréquentes (TOLLEFSON, 1998).

Chapitre III

Diagnostic des mammites sub-clinique

Le diagnostic des mammites sub-cliniques revêt une importance considérable pour plusieurs raisons :

- Elles contribuent à élever les taux cellulaires du lait de mélange.
- Elles constituent des sources de contagion pour les quartiers sains
- Elles peuvent passer du stade sub-clinique au stade clinique (GUERIN et *al.*, 2007).

Les signes fonctionnels sont fondamentaux car ils apparaissent précocement : il y a diminution de la production laitière de 5 à 20%, transformation progressive du lait en un liquide de filtration (diminution des éléments fabriqués par l'acinus : graisse, caséine, lactose, citrate et phosphates de calcium, augmentation des éléments filtrés : albumine, azote non protidique, chlorure de sodium) et le lait est modifié par les répercussions de l'inflammation (hyperleucocytose, pus).

De nombreuses méthodes et techniques ont été proposées pour mettre en évidence les modifications de la composition de la sécrétion (GUERIN et *al.*, 2007).

1-Diagnostic cellulaires

1.1. Mesure direct du taux cellulaire (Méthodes directs)

1.1.1. Comptage direct :(CCSi)

Les comptages cellulaires somatiques individuels sont utilisés comme indicateur des infections mammaires depuis les années 60, il a été inclus comme une composante de la définition d'une mammite (PYORALAS, 2003).

Le comptage des polynucléaires neutrophiles se faisait au microscope à immersion, après coloration des échantillons au bleu de méthylène. Cette méthode a été délaissée au profit des méthodes automatisées qui sont plus rapides tel que le comptage électronique (BADIVIAN, 1994).

1.1.2. Numération par compteur Coulter (Coulter counter®)

Il s'agit d'un comptage électronique de particules (cellules) par mesure des variations de conductivité électrique liées au passage de cellules somatique entre 2

électrodes. Les cellules sont au préalable stabilisées (tannage des parois cellulaires) par addition de formaldéhyde et sont placées en suspension dans un liquide électrolytique. Les globules gras du lait (qui comporte une paroi) sont au préalable dissouts par addition d'un détergent tensio-actif.

Ces compteurs à particules sont encombrants et difficilement adaptables en ligne avec d'autres appareils. C'est pourquoi ils sont actuellement supplantés par les appareils de numération par fluoro-opto-electronique qui permettent une cadence analytique plus élevée (GUERIN et *al.*,2007).

1.1.3. Numération par fluoro-opto-electronique (fossomatic®)

Les échantillons de lait sont au préalable chauffés au bain marie à 40°C puis agités (dilution, dispersion de la matière grasse, dissolution des protéines) les mesures doit intervenir dans les 30 min suivant le chauffage.

Cette technique largement utilisée aujourd'hui utilise la coloration des noyaux des cellules stomatique et la lecture par microscopie en épi fluorescence, grâce à un appareillage qui réalise automatiquement :

-la coloration des noyaux cellulaires au bromure d'éthidium (BET, agent intercalent qui se fixe sur l'ADN de la chromatine).

* soit par étalement de l'enchantions sur la tranche d'un disque(ou entrainement dans un fluide vecteur) .c'est la cryométrie sur disque. On obtient un film de lait de 10µ d'épaisseur sur le pourtour du disque rotatif qui sert de porte-objet pour le microscope (technique utilisée par les appareils fossomatic®180, 215, 250, 360 et 400).

* soit par entrainement de la suspension cellulaire à l'aide d'un fluide vecteur et accélération au travers une cellule capillaire. C'est la cryométrie de flux. (Selon la fiche technique de l'appareil fossomatic®5000).

-l'exposition à la lumière d'excitation du colorant (400-530nm pour le BET, lampe au xénon) et la lecture (microscope automatique a fluorescence).chaque noyau excité par le faisceau lumineux émet une fluorescence rouge captée par le microscope lorsque le noyau passe sous l'objectif. Les impulsions lumineuses des cellules soumises au faisceau d'excitation, sont amplifiées, numérisées et traitées

automatiquement. Par le biais d'une équation de calibrage on obtient une estimation de concentration cellulaire.

Les bactéries émettent une fluorescence plus faible et diffuse qui permet de les différencier des cellules somatiques.

L'appareil permet d'analyser 180 (fossomatic 180) à 500 (fossomatic 5000) échantillons par heure (GUERIN et *al.*, 2007).

1.2. Mesure indirect du taux cellulaire (Méthodes indirectes)

Parmi les techniques indirectes, on distingue les méthodes basées sur une réaction de gélification induite par l'addition d'un détergent ou d'un alcali (test de Whiteside, California Mastitis test et dérivés), le test de la catalase et les colorimétriques (réaction Feulgen positif).

1.2.1. Le Californian Mastitis test

Le californian mastitis test (CMT) est le plus pratique et le plus répandu. Le principe de ce test est le suivant : le mélange à parties égales d'un agent tensioactif (solution de Na-Teepol renfermant 96g de Na-Lauryl-Sulfate / 5 litre) et de lait provoque la lyse des cellules du lait et la libération de l'ADN de leurs noyaux. L'ADN constitué de longs filaments, forme alors un réseau qui enrobe les globules gras ainsi que d'autres particules. Plus les cellules sont nombreuses, plus le réseau est dense et plus l'aspect de flocculat pris par le mélange est intense. L'addition au Teepol d'un indicateur de PH coloré (pourpre de bromocrésol) facilite la lecture de la réaction. (FRESCOZ, 2004).

- **Réalisation du test**

Après lavage, essuyages et extraction des premiers jets de lait des quatre trayons, l'opérateur remplit chaque coupelle d'un plateau qui en comporte quatre, avec 2ml de lait teepol à 10% (une coupelle par trayon). Il mélange les deux liquides par un mouvement de rotation du plateau dans un plan horizontal. La lecture doit être immédiate. Il existe différentes clés d'interprétation de ce test qui, en fait, dépend beaucoup quant à son résultat, de l'opérateur et des circonstances de réalisation (un bol sale ou acide peut même le rendre négatif). De plus, il ne doit pas être réalisé sur le colostrum ou la sécrétion de période sèche. (HANZEN, 2001).

La gélification (tableau V) dépend de la qualité d'ADN et par conséquent du nombre des cellules présentes (POUTRE et *al.*, 1999).

Tableau V : Lecture et notation du C.M.T et relation entre notation, comptage cellulaire et lésion mammaires sur lait individuel (SCHALM et NOOLANDER, 1975 ; FRENCOZ et *al.*, 2004).

Réaction	Couleur	Notation	résultats		Mamelle	
			PH	Taux cellulaire ($\times 10^3$)/ml	Intensité de l'inflammation	Lésions
Aucun flocculat	Gris	0 ou -	6,5- 6,5	200	Néant	Mamelle saine ou infection latente
Léger flocculat transitoire	Gris	1 ou +/-	6,6 - 6,7	200 à 500	Inflammation légère	Mamelle normal chez une vache à sa 7 ^{ème} lactation
Léger flocculat persistant	Gris à violet	2 ou +	6,7-6,8	500 à 1000	Inflammation d'origine traumatique ou infectieuse	Mammite subclinique
Flocculat épais adhérent	Violet	3 Ou ++	6,8-7,0	1000 à 5000	Inflammation étendue	Mammite subclinique et infection bien installée
Flocculat type blanc d'œuf gélification	Violet foncé	4 Ou +++	Plus de 7,0	Plus de 5000	Inflammation intense	Mammite clinique

- **Application du test**

Ce test a surtout une valeur ponctuelle comme complément de détermination du taux cellulaire lorsqu'ils' agit de décider de la réforme d'un animal ou du traitement spécifique de l'un ou l'autre quartier. il permet également de vérifier la guérison de l'animal. Réalisé systématiquement lors de la traite, il en allonge la durée et suppose la notation d'un nombre important d'information. Enfin, il permet de déterminer l'importance des pertes de production laitière.

Le CMT, lorsqu'il est réalisé régulièrement, présente les mêmes indications que le CCI. Il a l'avantage, par rapport à celui-ci, d'être moins coûteux, de pouvoir être réalisé par tous les éleveurs et de délivrer une image plus précise des infections en donnant des résultats quartier par quartier. (FRENCOSZ et *al.*, 2004).

- **Variantes**

Le CMT présente des variantes tels le Michigan Mastitis test (MMT) dans laquelle le réactif est un mélange de soude caustique, d'alkylaryl sulfonate de soude et de bleu de méthylène. Il a été également adapté pour un emploi en laboratoire c'est le Wisconsin Mastitis Test (WMT) développé aux États-Unis ou le Brabant Mastitis test (BMT) mis au point en Hollande. Ces derniers consistent à déterminer le temps d'écoulement par un tube capillaire (20 mm de longueur et 1,3 mm de diamètre) d'un mélange constitué de 0,6 ml de lait et de 0,4 ml de Na-Teepol 10% ou de sulfate sodique à 2%. Le temps de d'écoulement est fonction du degré de gélification du mélange c'est-à-dire du taux de DNA et donc du nombre de cellules du lait. (FRENCOSZ, 2004).

1.2.2. Test de l'activité NA Gasique

Le principe de ce test est basé sur la mesure de l'activité enzymatique de la N-acétyl- β -glucosaminidase dans le lait. Cette activité enzymatique est directement proportionnelle au nombre de cellules dans le lait. En effet, une forte activité dans le lait indique un taux cellulaire élevé. Ce test s'effectue sur un lait frais et le résultat s'obtient le jour même (RADOSTITIS, 1997).

1.3. Facteurs d'interprétation des résultats

Les facteurs susceptibles de modifier le taux cellulaire du lait se caractérisent par leur multiplicité et par l'influence réciproque qu'ils exercent. Ils sont de nature physiologique ou pathologique. L'infection constitue néanmoins le facteur déterminant, les autres facteurs ayant moins d'importance. (HANZEN, 2001).

1.3.1. L'infection

Les organismes colonisant la glande mammaire sont généralement divisés en pathogènes mineurs ou commensaux et en pathogènes majeurs. La présence d'un CCI supérieur à 600.000 peut être imputée à l'action de l'un à l'autre pathogène majeur sans cependant qu'un diagnostic étiologique puisse être posé de cette manière. Par

ailleurs, le CCI étant habituellement déterminé sur un échantillon de lait provenant des 4 quartiers, il en résulte un effet de dilution qui risque de considérer comme non infectée une vache atteinte d'un seul quartier. (HANZEN, 2001).

1.3.2. Les facteurs génétiques

Les races de montagne ont un taux cellulaire significativement plus bas que les races de plaine. Les vaches pie rouge ont un taux cellulaire plus élevé que les vaches pie noir. Cependant, en générale l'influence de ce facteur est négligeable comparativement à celle exercée par d'autres facteurs.

1.3.3. L'âge de l'animal

En absence d'infection, les concentrations cellulaires sont significativement plus faibles chez les primipares que chez les pluripares.

La plupart de recherches concluent à la présence d'une réaction cellulaire plus importante mais d'amplitude néanmoins limitée des vaches plus âgées tant vis-à-vis des pathogènes majeurs que mineurs. Si le troupeau est indemne d'infection, il ne semble cependant pas y avoir de variation en fonction de l'âge. Sans doute l'augmentation habituellement constatée est-elle liée à l'augmentation du risque d'exposition à des pathogènes et donc du nombre de vache infectées. (GUERIN et *al.*, 2007).

1.3.4. Le stade de lactation

En dehors des phases colostrales et de tarissement, le taux cellulaire ne présente que peu de variation mise à part une tendance à l'augmentation se manifestant à partir du 130^{ème} jour de lactation des variations cycliques apparaissant périodiquement toutes les 4 semaines ont été décrites mais non complètement élucidées. Elles pourraient constituer une réponse de la glande à une infection passagère.

On peut également noter qu'une chute brutale de la production laitière entraîne habituellement une augmentation du taux cellulaire. (FRENCOSZ et *al.*, 2004).

La période de tarissement se caractérise par une phase d'induction d'une semaine, une phase d'état durant jusqu'une semaine environ avant le vêlage et une phase pré-colostrale débutant une semaine avant la parturition.

Au cours de la phase d'induction, on observe une augmentation brutale et rapide du taux cellulaire qui peut atteindre des valeurs de plusieurs millions de cellules. Ce taux se maintient pendant la phase d'état pendant laquelle le macrophage constitue le principal représentant cellulaire, et ne diminue que pendant la phase pré-colostrale pour atteindre la valeur d'un million de cellules au moment du vêlage sans doute en réponse à une sécrétion accrue.

Le colostrum se caractérise par la présence d'un grand nombre d'érythrocytes pouvant parfois se traduire par une hémolactation et par la présence d'un nombre élevé de poly-morpho-nucléaires dont le nombre diminue au cours de la première semaine. (FRENCOSZ et *al.*, 2004).

1.3.5. Environnement

Il concerne la traite et son hygiène qui lors de déficiences contribuent à augmenter le taux cellulaire et la fréquence de mammites, le climat et les saisons et plus particulièrement l'effet négatif exercé par les temps chauds (augmentation du taux cellulaire en été) ou froids et humides, les conditions de logement, les erreurs quantitatives (excès de concentrés contaminés, fourrages moisissés) de la ration. (HANZEN, 2001).

1.3.6. Les hormones

L'effet de l'ocytocine, de la vasopressine et de l'adrénaline s'exerce essentiellement au moment du let down. Aucune donnée précise n'est disponible en ce qui concerne la thyroxine, hormone de croissance et l'insuline.

Une influence oestrogénique marquée et prolongée se traduit par une réduction de la production laitière et une augmentation du taux cellulaire, celle-ci constituant la réponse à l'action des oestrogènes sur les capillaires se traduisant par une augmentation de leur perméabilité et de la diapédèse.

Pareilles modifications quoique non significatives ont également été observées au cours de la phase œstrale.

Les avis sont contradictoires en ce qui concerne l'ACTH et les corticoïdes qui peuvent néanmoins déprimer l'action phagocytaire des poly morpho nucléaires (HANZEN, 2001).

1.3.7. Les conditions de prélèvement des échantillons d'analyse

Il existe des variations journalières du taux cellulaire. Celui-ci est minimal 1 à 2 heures avant la traite et maximal 4 heure après la traite. de même, il est habituellement plus élevé le soir que le matin .Idéalement donc les prélèvements seront effectués sur l'avant traite du matin. En pratique et dans le but d'éliminer ces variations, ils sont effectués par échantillons répétés au cours de la traite du matin et du soir. Des variations d'un jour à l'autre peuvent également être observées surtout chez les vaches infectées. (FRESCOZ et *al.*, 2004).

1.3.8. Les conditions de conservation des échantillons de lait

En cas de conservation à une température de (21°C), l'échantillon est inutilisable au-delà de 16 heures. Conserves entre 3 et 5°C, les échantillons sont utilisables pendant 3 jours. la congélation à - 20°C pendant 3 jours réduit le taux cellulaire de 30 à 57%. L'addition de bichromate de potassium à l'échantillon permet de le conserver à température ordinaire et pendant 14 jours pour une analyse par un Coulter conter. Ce même additif ne modifie pas au cours de la semaine suivant le prélèvement le taux cellulaire déterminé par le fossomic que l'échantillon soit conservé à 5 ou 22°C. Fixés au formaldéhyde, les prélèvements restent utilisables par le Coulter conter pendant 24 heures s'ils sont conservés à 21°C et pendant 3 jours s'ils sont conservés à 4°C, car l'emploi de conservateur rend l'analyse bactériologique impossible sur le même échantillon. (HANZEN, 2001).

2. Diagnostic chimique

2.1. Mesure de pH

De nombreux tests de dépistage des mammites consistent à la recherche d'une éventuelle acidité du lait. A la récolte, le pH du lait est de 6,5 à 7,5 (en cas d'infection il se rapproche du pH sanguin et ceci lors de mammite chronique). Lors de mammite aiguë, le lait est hyper acide avec un pH < 6,5, du à une fermentation interne de lactose. parmi les principaux tests on cite : le test de l'alizarol, le test au bleu

bromothymol(papier indicateur coloré)et le test au pourpre de bromocresol(DONARIVEIO, 1996).

2.2. Test de whiteside

Le test whiteside sert à distinguer un lait normal d'un lait à taux cellulaire anormalement élevé. Le test est qualitatif contrairement au CMT qui est semi quantitatif.

On mélange 5 gouttes de lait avec deux gouttes de soude caustique sur une lame. Il est aussi possible de mélanger 10 ml de lait avec 2ml de soude. Si le lait est normal, il se forme un trouble homogène. Si le lait est anormal, il se forme des flocons ou des flammèches (ROSSEN, 1979).

De même que le CMT, il peut y avoir des faux positifs car le taux cellulaire peut être élevé chez les vaches venant de vêler. (ROSEN, 1979).

Ce test n'apporte pas plus d'information que le CMT. On peut être l'utiliser si on pense qu'il y a une mammite et que le CMT est négatif.

2.3 La Conductivité électrique

2.3.1 Définition

La conductivité électrique est la capacité d'un corps ou d'une substance à transmettre le courant électrique. Elle se mesure en milli siemens par centimètre (mS/cm). Cette propriété est majoritairement due aux ions, essentiellement chlorure, phosphate, citrates et bicarbonates, potassium, sodium, calcium, et magnésium (MANSELL et SEGUYA, 2003). Une relation linéaire entre la conductivité électrique (en mS/cm) et la concentration en ion chlorure (mg/100 mL de lait) a été mise en évidence. L'équation est la suivante (PURI et PARKACH, 1963) :

$$\text{Conductivité} = 0.685 + 0,1039(\text{Cl}^-)$$

La conductivité du lait d'un quartier sain est en général comprise entre 4 et 5,5 mS/cm à 25°C (BILLON et *al.*, 2001).

2.3.2. Mécanismes d'augmentation de la conductivité électrique du lait

Les concentrations en lactose et en ions K⁺ dans le lait diminuent lors d'une mammite alors que les concentrations en ions Na⁺ et Cl⁻ augmentent (HMANN et ZECCONI, 1998). Ces variations de concentration en ions dans le lait marmiteux sont principalement dues aux dommages cellulaires, en particulier au niveau des

jonctions serrées des cellules épithéliales, à l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins et à l'altération du système de pompage ionique. Les transporteurs d'ions peuvent ne plus être fonctionnels à cause des toxines bactériennes présentes dans le milieu. Le résultat est que les ions Na^+ et Cl^- diffusent dans le lait selon un gradient de concentration, et les ions K^+ et le lactose diminuent en concentration de manière similaire, à l'origine d'une augmentation de la conductivité électrique du lait (BILLON et *al.*, 2001).

2.3.3 Principaux appareils de mesure de la conductivité électrique

2.3.3.1. Le 4Q Mast®

❖ Description

Il s'agit d'un appareil électronique portable (Fig.3), constitué d'un écran de lecture à cristaux liquides (LCD), et d'une poignée avec un interrupteur : marche / arrêt. Le mode d'emploi préconise de faire l'analyse sur les premiers jets de lait. Au fond du récipient se trouve deux électrodes permettant l'analyse. Cet appareil ne mesure pas directement la conductivité de lait, mais sa résistivité qui est l'inverse de la conductivité. Les mesures se font sur chacun des quartiers et les valeurs sont lisibles sur l'écran et sont gardées en mémoire (Anonyme, 2012).



Figure 3 : Appareil de conductimétrie 4Q Mast® (Anonyme, 2012).

❖ Principe d'utilisation

Lors de la mise en marche de l'appareil, quatre zones de mesure apparaissent à l'écran. Une des zones clignote et indique quel quartier il faut prélever. Extraire les premiers jets de lait jusqu'au trait de jauge. Attendre environ 1 minute et appuyer de nouveau sur l'interrupteur pour afficher le résultat. On dilue le lait, on rince le récipient avec de l'eau tiède, puis on procède de la même manière pour les quartiers suivants (Anonyme, 2012).

❖ Résultats et interprétation

L'interprétation des résultats **4QMast®** est présentée dans le tableau VI

Tableau VI : Interprétation des résultats de l'appareil **4QMast®** (d'après la notice d'utilisation).

Valeurs chiffrées	Interprétation
Inférieure à 250 unités	Quartier infecté (mammites subclinique)
Entre 250 et 300 unités	Etat intermédiaire (prendre en compte d'autre valeur)
Supérieure à 300 unités	Quartier sain

2.3.3.2 .le **MAS-D-TEC®**

❖ Description

Il s'agit d'un analyseur électronique portable (Fig.4) permettant une détection rapide des mammites subcliniques chez la vache. Le lait est analysé lors de son passage à travers l'appareil et le résultat apparaît sous forme d'une diode lumineuse rouge qui s'allume devant une valeur chiffrée (Anonyme, 2012).



Figure 4 : Appareil de conductimétrie *MAS-D-TEC*®

❖ Principe d'utilisation

Le principe d'utilisation du *MAS-D-TEC*® repose sur la mesure de la conductivité électrique dans un échantillon de lait de faible volume recueilli directement au pis de la vache.

Lors l'utilisation du *MAS-D-TEC*®, il faut éliminer les premiers jets et placer l'instrument sous le trayon, traite 1 à 2 jets du lait à l'intérieur de l'appareil, appuyer sur le bouton dans les trois secondes suivants l'écoulement puis lire le résultat :

- S'il y a un repère lumineux en zone blanche : aucun problème.
- S'il y a un repère lumineux en zone rouge : présence de mammites.
-

❖ Résultats et interprétation

L'interprétation des résultats de l'appareil *MAS-D-TEC*® est présentée dans le tableau (VII).

Tableau VII : Interprétation des résultats de l'appareil *MAS-D-TEC*[®] (d'après la notice d'utilisation)

Position de la diode	Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Interprétation
0 à 4	<7000	Quartier sain
5 à 9	>7000	Quartier infecté (mammite subclinique)

2.3.3.3 Le *MMS 3010*[®]

❖ Description

Il s'agit d'un appareil portable qui permet la détection des mammites subcliniques au pied de l'animal (Fig.5). Il possède un manche au bout duquel se trouve un plateau composé de quatre coupelles contenant chacune deux électrode en graphite et une sonde de température.

A proximité de chaque coupelle se trouve un voyant qui permet de visualiser le résultat. On obtient aussi une mesure de la conductivité pour une température de 25°C ((Anonyme, 2012).

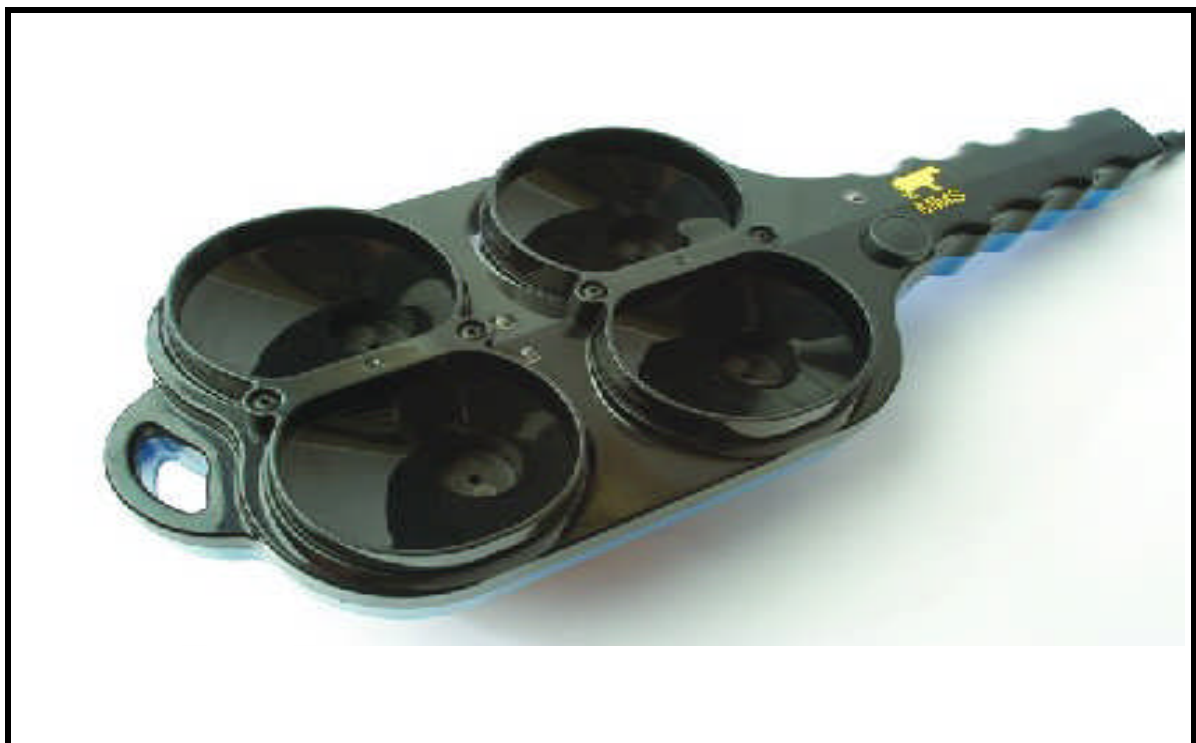


Figure 5: Appareil de conductimétrie *MMS 3010*[®]

❖ Principe d'utilisation

L'appareil se met en marche en appuyant une fois sur l'interrupteur. Les voyants sont alors de couleur orange. On remplit chaque coupelle jusqu'au trait indicateur (maximum 5 ml). On effectue le test sur les premiers jets selon les recommandations du fabricant. Le résultat s'affiche dès que le niveau du lait est suffisant dans la coupelle (Anonyme, 2012).

❖ Résultats et interprétation

L'interprétation des résultats du *MMS 3010*® est présentée dans le tableau (VIII)

Tableau VIII : Interprétation de résultats du *MMS 3010*® (d'après la notice d'utilisation)

Couleur de diode	Conductivité (mS/cm)	Interprétation
Verte	< 6,5	Quartier sain
Rouge	> 6,5	Quartier infecté (mammite subclinique)

3. Diagnostic biochimique

Les modifications biochimiques de la composition du lait résultent d'une double modification de synthèse et de filtration de la glande mammaire. La mise en évidence des modifications de taux de matière grasse, lactose et protéines a fait l'objet de nombreuses recherches.

3.1. Les protéines

L'état inflammatoire de la mamelle se traduit par une augmentation de la perméabilité vasculaire et une réduction de la capacité de synthèse protéique (α et β -caséine, α -lactalbumines, β -macroglobuline) de la cellule mammaire.

Les protéines plasmatiques (BSA : bovine sérumalbumine, antitrypsine, immunoglobuline) passent dans le lait. Il en résulte que la composition protéique du lait se trouve peu modifier et tend à être semblable à celle du plasma lors de mammites.

3.2 Les enzymes

Il provient des cellules mammaires, des cellules phagocytaires ou du sang. Leur diversité est réelle :NAGase(N-acetyl-b-d glucosaminodase), hydrolase , β -glucoronidase, α -manosidase, β -galactosidase, catalase, transaminases,...bien peut revêtent une importance pratique.

3.3 Le lactose

L'inflammation du quartier entraine une diminution du taux de lactose dans le lait.

3.4 Les ions

L'inflammation du quartier entraine une augmentation de sa concentration en ions Na et Cl. Il en résulte une augmentation de la conductivité qui varie également en sens inverse du taux butyreux.

4. Diagnostic microbiologique

4.1. Protocole de réalisation

4.1.1. Prélèvement en fin traite

La seule méthode certaine de détection des mammites est l'examen bactériologique d'un prélèvement convenablement récolté (COLES, 1979).

Le prélèvement d'échantillon de lait pour examen bactériologique, commence par le nettoyage et la désinfection du pis et du trayon puis élimination des premiers jets dans un récipient, il suffit dans la plupart du temps de nettoyer et de désinfecter correctement l'extrémité du trayon avec un tampon de ouate imbibé d'alcool. Le flacon doit être stérile et identifié (n° de l'animal, numéro de prélèvement et situation du quartier) et maintenu horizontalement en évitant tout contact avec le trayon, traite 5 à 10 ml par jet horizontal. Prélever un échantillon pour chaque quartier. Pour la mise en évidence de certains agents pathogènes. Puis envoyé au laboratoire (ROSENBERGER, 1979).

Le transport du prélèvement au laboratoire doit être rapide, pour les mêmes raisons : il ne doit pas excéder 3 heures si l'échantillon est maintenu à la température ambiante et 24 heures s'il est placé dans la glace (THILLEROT, 1980).

4.1.2. Réfrigération du lait

Le lait doit être réfrigéré aussi vite que possible à une température inférieure à 4°C pour prévenir la multiplication bactérienne. A 37°C, il faut 6 à 7 minutes pour doubler la population bactérienne présente dans le lait. Les coliformes peuvent dans des conditions optimales doubler leur nombre toutes les vingt minutes. Certaines bactéries dites psychotroques (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Listeria*..) présentes dans l'air et l'environnement de l'étable peuvent néanmoins se multiplier à une température inférieure à 7°C. (HANZEN, 2001).

4.1.3. Isolements et identification de germe

Cette recherche peut être faite par le praticien moyennant un minimum d'équipement. Les germes responsables des mammites se répartissent en cinq groupes.

- Les coques Gram +,
- Les Coliformes Gram-,
- Les Actinomyces,
- Les autres (*Nocardia*, *Prototheca*).

Leur isolement peut être effectué par étalement de 0.01 à 0.05 ml de lait sur un gélose au sang renfermant ou non de l'esculine (0,1%). Le milieu d'Edwards (gélose agar et sang, esculine, cristal violet) est adapté aux différents streptocoques.

Le milieu de Mc Conkey permet le diagnostic différentiel entre les Entérobactériacées et les Streptocoques fécaux. (GOURREAU et BENDALI, 2008).

La recherche des mycoplasmes suppose l'emploi de milieux plus spécifiques. Une première lecture peut être réalisée au bout de 18 à 24 heures, des conclusions définitives ne pouvant être apportées qu'au bout de 48 heures. L'identification des germes se fait par le test de base en bactérioscopie, la coloration de Gram.

5. Prophylaxie

Pour maîtriser les mammites dans les meilleures conditions économiques, il faut d'une part éliminer les infections en place mais aussi prévenir les nouvelles infections.

Les mesures de prévention sont basées sur l'hygiène et s'intègrent dans la routine d'élevage par :

- L'entretien régulier de l'installation de traite et le contrôle annuel par un technicien spécialisé ;
- Le lavage et l'essuyage des trayons avec des lavettes individuelles ou un système douchette, serviette ou papier;
- La désinfection des trayons après la traite;
- Le respect des normes de densité animale et d'ambiance dans le bâtiment;
- L'entretien des aires de couchage et de promenade des vaches en lactation, tarées et parturientes.

L'élimination des infections existantes consiste à détecter les animaux malades, à traiter les cas clinique en lactation, à traiter les cas subclinique au tarissement et à reformer les animaux incurables (GOURREAU et BENDALI, 2008).

Cette étude expérimentale a été réalisée dans la région de kssar el boukhari, distance respectivement de 60 km au sud de la wilaya de Médéa. Elle s'est déroulée de la période allant du 20 Décembre 2012 au 28 mai 2013 .

1. Matériel

1.1. Effectifs de l'étude

La présente étude a été réalisée au niveau de la wilaya de Médéa (kssar el boukharie).

Les analyses ont concerné au totale 81 vaches laitières, soit 320 quartiers testés, dont 11 non fonctionnels.

L'identification de l'animal a porté sur les paramètres suivants :

- *La race* : Holstein, Montbéliarde, Fleckvieh, brunes des alpes et normande.
- *L'âge* : Vaches âgées entre 2 et 6 ans.
- *Le stade et le numéro de lactation.*
- *La note d'état corporel.*

Les informations relatives aux fermes ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire destiné au vétérinaire de la ferme et rapportées dans l'annexe A. Celles relatives aux vaches étudiées ont été rapportées dans l'annexe B.

1.2. Prélèvement

Les échantillons de laits utilisés dans le cadre de cette étude proviennent de lait de vaches laitières de différentes races, elles ne présentent aucun signe d'atteinte clinique de la mamelle. Chaque quartier a été échantillonné individuellement.

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

1.3. Dépistage des mammites sub-cliniques : application de plusieurs tests

1.3.1. Test de la conductivité électrique

Le matériel nécessaire à la réalisation de ce test est :

- L'eau de Javel : Hypochlorites de sodium.
- Papier absorbant pour l'essuyage de la mamelle.
- L'appareil de mesure de la conductivité électrique du lait *4Q Mast*®.

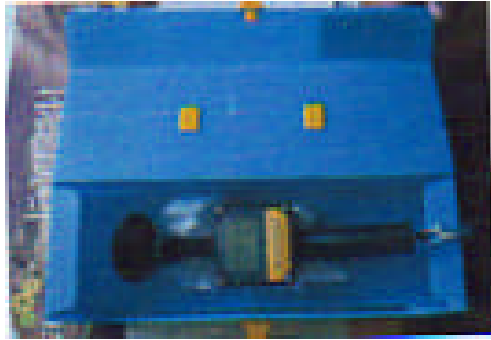


Figure 6: Appareil de la conductivité électrique 4Q Mast®. (Photographie originale)

1.3.2. Test du C.M.T

Le matériel nécessaire à la réalisation de ce test est :(Fig.7)

- Plateau à quatre coupelles.
- Lequide tensio-actifs(teepol a 10%).
- Seringues.
- Compresse stériles.
- Alcool à 70°.



Figure7 : Matériels pour le test C.M.T. (photographie originale)

2. Méthodologie

2.1. La Réalisation de test de la conductivité électrique

Pour procéder à ce test il faut suivre les étapes suivantes (Fig.8) :

- ❖ Lavage de la mamelle avec de l'eau tiède additionnée d'eau de javel.
- ❖ essuyage de la mamelle à l'aide d'un papier absorbant.
- ❖ Élimination des premiers jets.
- ❖ Recueillir le lait dans le récipient correspondant de l'appareil jusqu'au trait de jauge.
- ❖ Lecture des résultats.



Figure 8 : Les différentes étapes pour la réalisation de test de la conductivité électrique. (Photographie originale)

2.2. La réalisation d test du C.M.T

Pour procéder à ce test il faut suivre les étapes suivantes (Fig.9) :

- ❖ Nettoyage des mains avec d l'eau de Javel.
- ❖ Nettoyage de toute la surface des mamelles avec de l'eau javellisée tiède.

- ❖ Séchage complète des mamelles avec des lavettes individuelles pour éviter l'écoulement de l'eau qui peut souiller les échantillons.
- ❖ Désinfecter l'extrémité de chaque trayon à l'aide d'une compresse stérile imbibée d'alcool à 70°.
- ❖ Élimination des premiers jets dans un récipient contenant un désinfectant du fait qu'ils peuvent contenir des grumeaux, signe d'une mammite.
- ❖ Recueillir 2 ml de lait de chaque quartier dans la coupelle correspondante sur le plateau.
- ❖ Ajouter à l'aide d'une seringue 2 mL de teepol à 10% dans chaque coupelle.
- ❖ Mélanger les 2 liquides par un mouvement de rotation du plateau sur un plan horizontale pendant 30 secs.
- ❖ Lecture des résultats.



Figure 9 : Les différentes étapes pour la réalisation de test de C.M.T

(Photographie originale)

2.3. Interprétation des résultats de C.M.T

Voir le degré de gélification (formation des flocculat par précipitation du lait), de lait mélangé avec le réactif teepol.

-aucun flocculat donc(-).

-léger flocculat transitoire donc (+/-).

-léger flocculat persistant donc (+).

-flocculat épais adhérent donc (++)

-flocculat type blanc d'œuf ou gélification donc (+++).

3. Étude des critères d'appréciation des tests utilisés

Ces critères sont calculés en prenant comme test de référence le C.M.T.

- **Sensibilité (Se)**

Elle correspond à la probabilité pour qu'un lait mammitieux (positif) détecté par la méthode testée (C.E) soit également qualifié mammitieux par la méthode de référence (C.M.T), donc à limiter le nombre d'échantillons faussement négatifs.

- **Spécificité(Sp)**

Elle correspond à la probabilité pour qu'un lait considéré sain par la méthode testée (C.E) soit également jugé sain par la méthode de référence (C.M.T), donc à limiter le nombre d'échantillons faussement positifs.

- **Valeur prédictive positive (VPP)**

C'est la proportion des laits détectés mammitieux par la méthode testée (C.E), confirmés par le test C.M.T. (vrais positifs) parmi le nombre totale des laits détectés mammitieux (score positif) par le test de C.E.

A% des laits suspectés par la méthode testés, sont effectivement jugés positifs par le C.M.T., avec $A=VPP$.

- **Valeur prédictive négative(V.P.N)**

C'est la proportion des laits non détectés mammites avec la méthode testés(C.E), confirmés par le test C.M.T. (vrais négatifs) parmi le nombre totale des laits non repérés infectés (score négatif) par le test C.E.

B% des laits non détectés par la méthode testés, sont effectivement non mammites par le C.M.T., avec B=VPN.

Les résultats des tests ont été jugés à travers quatre critères : la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative, dont le mode de calcul est indiqué dans le tableau IX.

Tableau IX : Critères d'appréciation des tests.

Critère	Définition	Calcul
Se	$\frac{\text{Lait jugé mammites (résultat positifs) par la MR (C.M.T) et la MT(C.E)}}{\text{Totalité des laits jugés mammites (avec un score positif) par la MR (C.M.T)}}$	$\frac{VP}{(VP+FN)}$
Sp	$\frac{\text{Lait jugé sains par la MR et la MT}}{\text{Totalité des laits jugés sains par la MR}}$	$\frac{VN}{(VN+FP)}$
VPP	$\frac{\text{Laits jugés mammites (résultat positifs) par la MR et la MT}}{\text{Totalité des laits jugés mammites (avec un score positif) par la MT}}$	$\frac{VP}{(VP+FP)}$
VPN	$\frac{\text{Laits jugé sains par la MR et la MT}}{\text{Totalité des laits jugés sains par la MT}}$	$\frac{VN}{(VN+FN)}$

VP : Vrai positif, **FP** : Faux positif, **VN** : vrai négatif, **FN** : Faux négatif, **MR** : Méthode de référence, **MT** : Méthode testée, **Se** : Sensibilité, **Sp** : Spécificité, **VPP** : Valeur prédictive positive, **VPN** : Valeur prédictive négative.

3. Examen bactériologiques

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

3.1.1. Matériel

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

3.1.2. Méthodologie

Pour procéder à ce test il faut suivre les étapes suivantes (Fig.10) :

- ❖ Nettoyage des mains avec de l'eau de Javel.
- ❖ Désinfecter l'extrémité de chaque trayon avec du coton imbibé d'alcool à 70°C pendant 10 à 20 secondes.
- ❖ Remplir aux trois quarts deux flacons stériles pour chaque quartier infecté ; les flacons doivent être ouverte au dernier moment et inclinés à 45°.



Figure10 : Les différentes étapes pour la réalisation d'examen bactériologique. (Photographie originale)

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

Les deux prélèvements, correspondant à chaque quartier, sont destinés respectivement au laboratoire de microbiologie pour analyses bactériologiques.

3.1.3. Conservation

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

Ils sont réfrigérés à 2°C pendant 2-3 heures, le temps d'être acheminés vers le laboratoire ou les analyses doivent débiter immédiatement.

3.2. Analyses bactériologiques

3.2.1. Matériel et réactifs utilisés

a-Appareillage

- Étuve bactériologique
- Bain Marie
- Agitateur magnétique
- Microscope photonique
- Autoclave
- Anses à ensemercer
- Portoirs
- Écouvillons
- Réfrigérateur
- Pipettes Pasteur
- Pipettes graduées (1 ml, 10 ml)
- Tubes à essais
- Bec bunsen
- Lames et lamelles
- Boîtes de Pétri

b-milieu de culture et réactifs

- Gélose nutritive
- Gélose Chapman
- gélose Hektoen

- Bouillon BHIB
- Plasma de lapin
- Eau oxygénée
- Violet de Gentiane
- Lugol
- Alcool à 96°
- Fuschine
- Eau physiologique
- Eau distillé stérile

3.2.2 Recherche des Entérobactéries :

a-Enrichissement

Dépôt d'un ml de lait dans le bouillon BHBI et incubation à 37°C pendant 24 à48 heures.

b-Isolement

Gélose Hektoen : Milieu d'isolement des bactéries Gram -

Technique

Ensemencement en épuisement d'une goutte de lait et incubation à 37°C pendant 24 à48 heures.

Lecture

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



Figure 11: Colonies d' *Escherichia coli* à droite et *Klebsiella ssp* à gauche

c-Purification

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

d-identification

d-1-Caractères morphologiques

-Etat frais :

Une goutte de suspension bactérienne (fragment de colonies dans l'eau physiologique) est déposée au centre d'une lame propre et recouverte par une lamelle en évitant de créer des bulles d'air; l'observation se fait au microscope optique au grossissement X40 sur la base de la forme (bacille pour les entérobactéries), la mobilité et le type regroupement.

-Coloration de Gram :

- Frottis : Une goutte de suspension bactérienne est fixée à la chaleur.
- Coloration avec le violet de Gentiane pendant 2 à 3 minutes.
- Lavage à l'eau.
- Fixation de la coloration avec le lugol pendant 1 minute.
- Décoloration avec l'alcool pendant 30 secondes.
- Lavage à l'eau.
- Recoloration avec la fushine pendant 1 minute.

- Lavage à l'eau puis séchage du frottis.

Observation : appliquer une goutte d'huile d'immersion sur le frottis puis observer au microscope optique au grossissement X100.

Lecture :-Germs de couleur violette → Gram+

- Germs de couleur rose → Gram-(comme pour les Entérobactéries).

3.2.3 Recherche des staphylocoques

a-Enrichissement

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

b-Isolement

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

Principe

Ce milieu contient un inhibiteur, le chlorure de sodium en fortes concentration (75 g.L⁻¹) ce qui permet un isolement sélectif de *Staphylococcus* spp. Tolérant les fortes concentrations en NaCl.

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

Technique

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

Lecture

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

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

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

c- Purification

Les colonies nettement différentes ensemencées dans le même milieu.

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

d-1-Caractères morphologiques

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

-Coloration de gram : Bactéries violettes → Gram +

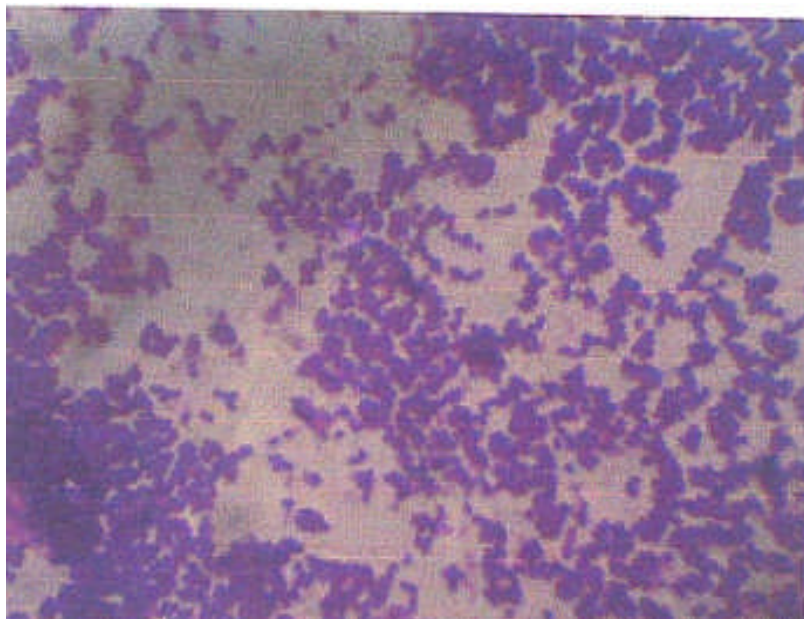


Figure 12 :Coccies Gram+ en grappe de raisin caractéristique des staphylocoques après coloration de Gram (grossissement 10×100).(Photographie originale)

d-2-Caractères biochimiques

-Épreuve de catalase_

Principe

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

Technique

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

Lecture

Dégagement de bulle de gaz → bactéries catalase + (comme pour les staphylocoques).

Pas de dégagement de gaz → bactérie catalase -.

Ce test permet en outre de distinguer les staphylocoques des streptocoques.

-Recherche de la Staphylocoagulase libre

Principe

La Staphylocoagulase est une enzyme qui peut coaguler le plasma de lapin et qui est utilisée pour distinguer *Staphylococcus aureus* qui possède cette enzyme des autres staphylocoques qui en sont dépourvus.

Technique

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

Lecture

Elle doit se faire toutes les heures.

Coagulation du plasma → coagulase+

Pas de coagulation → coagulase -

3.2.4. Recherche de Streptocoque

a- Enrichissement

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

b- Isolement

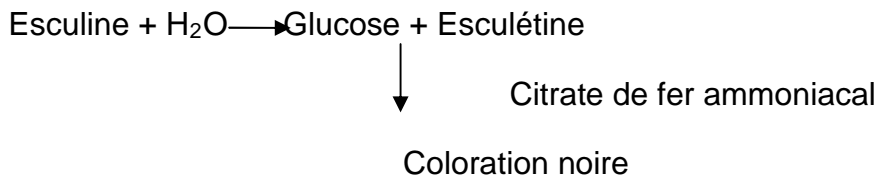
-Milieu d'isolement : Gélose bile esculine azide (BEA) ou Gélose D-Coccosel, milieu d'isolement sélectif des streptocoques D (entérocoques et non entérocoques).

Principe

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

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

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



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

Technique

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

Lecture

- Apparition de petites colonies sur le milieu → Streptocoques D.
- Colonies entourées d'un halo noir → esculine⁺.

c-purification

d-1-Caractères morphologiques

États frais : Coccies isolés ou en chainettes.

Coloration de gram : Bactéries de couleur violettes. → Gram +

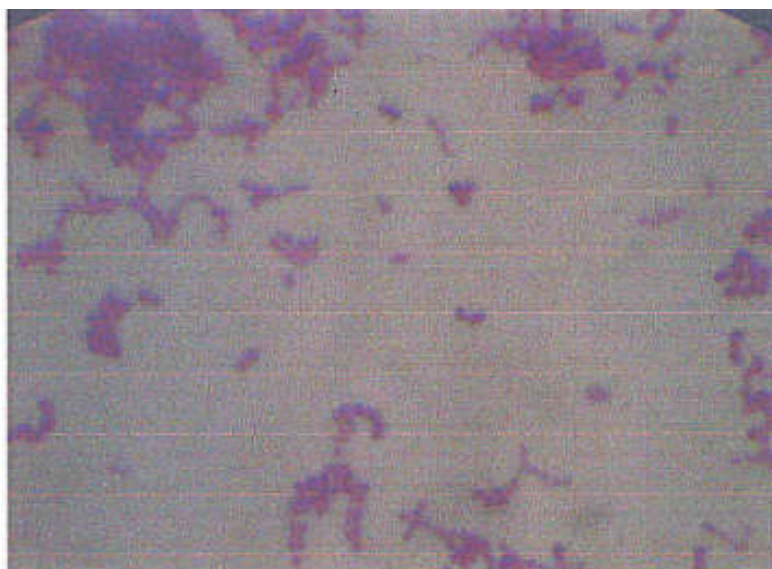


Figure 13 : Coccis Gram+ en chainettes caractéristiques de Streptocoques après coloration de Gram (grossissement 10×100). (Photographie originale)

4. Analyses biochimiques

4.1. Extraction de la caséine de lait

4.1.1. Matériel et réactifs

Le matériel nécessaire à la réalisation de ce test est le suivant:(Fig.14)

- | | |
|----------------|-------------------------|
| -Tube à essai | -Centrifugeuse |
| -Papier filtre | -Agitateur magnétique |
| -Entonnoir | -Eau distillée |
| -Mortier | -Acide trichloracétique |



Figure 14 : Matériel utilisés pour l'extraction de la caséine du lait.
(Photographie originale)

4.1.2. Méthode de travail

- Centrifugation de prélèvement de lait à 3000 tours/minute pendant 10minute.
- Ecrémage (enlever le surnagent).
- Acidification du lait écrémé en y ajoutant de l'acide trichloracétique à 12% à quantité égale (même volume d'acide et le lait).
- filtrage de la caséine du surnagent avec papier filtre disposé sur l'entonnoir.

-Addition à la caséine filtrée de l'eau distillée (lavage) et centrifugation à 3000tours/minute pendant 10 minutes.

-Elimination de l'eau distillée puis deuxième lavage.

-Séchage de culot à l'étuve.

-Récupération de la caséine et concassage à l'aide du mortier.

4.2. Electrophorèse de la caséine du lait

4.2.1. Définition

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

Principe

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

4.2.2. Matériel et réactifs

- plaque d'acétate de cellulose

-Cuve de migration

-Générateur de courant (micro-hotte 220V)

-Agitateur

-Masque applicateur (puits)

-Applicateur avec cavaliers

-Embase d'alignement

-Tampon (contient un tampon tris-barbital-barbital-sodique à 8,6-9 dissoudre un sachet de tampon sec dans 750 ml d'eau distillé et bien mélanger)

-Colorant (rouge ponceau)

- Ponts papier pour chambre
- Papier buvard
- Micropipette

4.2.3. Méthodologie (ANONYME, 2004)

Pour procéder à ce test il faut suivre les étapes suivantes (Fig.15) :

- Peser la poudre de caséine
- Reconstituer 0,4 mg de poudre de caséine dans 5ml d'eau distillé et agitation jusqu' à obtention d'une suspension aqueuse homogène
- Tremper l'acétate de cellulose dans un tampon pendant 20minutes (plonger la plaque lentement et uniformément pour ne pas l'abimer)
- Verser environ 100 ml de tampon dilué dans chaque compartiment de la cuve de migration
- Humidifier deux ponts papiers jetables dans le tampon et en déposer sur chaque pont support, en veillant à ce qu'il soit bien en contact avec le tampon et qu'aucune bulle d'air ne reste en dessous
- Couvrir la chambre pour éviter que le tampon ne s'évapore



Figure : 15 Trempage de l'acétate de cellulose et dépôt des papiers ponts dans la cuve de migration. (Photographie originale)

- Remplir chaque puits de masque applicateur avec 3 μ l d'échantillon en utilisant la micropipette
- Amorcer l'applicateur en abaissant les embouts dans les puits échantillons 3 ou 4 fois
- Enlever la plaque du tampon et la sécher entre deux papiers buvards. Placer la plaque sur l'embase d'alignement, acétate de cellulose vers le haut, en faisant correspondre le bat de la plaque avec la ligne de séparation signalé par CENTRE DEPOT. Le repère d'identification doit être avec l'échantillon numéro 1.
- Déposer l'échantillon sur la plaque en abaissant les embouts de l'applicateur dans les puits puis transférer l'applicateur sur l'embase d'alignement ; appuyer sur le bouton pendant 5 secondes.
- Placer la ou les plaques dans la cuve, acétate de cellulose vers le bat. Placer un poids dessus pour assurer un bon contact avec les ponts papiers. Couvrir la chambre et attendre 20 secondes qu'elles s'équilibrent.
- Faire migrer pendant 15 minutes, à 320 volts
- Une fois l'électrophorèse terminée, enlever la plaque de la cuve et la placer dans 40-50 ml de colorant pendant 6 minutes
- Décolorer dans 3 bains de 2 minutes d'acide acétique à 5%ou jusqu'à ce que le fond de la bande de la plaque soit blanc.



Figure 16 : Migration ; Coloration ; Décoloration. (Photographie originale)

1. Étude de la fréquence des mammites subcliniques en fonction des facteurs de risques

Pour le C.M.T, on considère comme «malade», une vache ayant au moins un quartier positif.

Pour le test C.E, on considère comme «malade», une vache ayant au moins un quartier avec une résistivité inférieure à 300 unités.

Dans tous les parties qui suivent, l'analyse statistique des résultats a été réalisée par :

- Le test χ^2 pour les paramètres : numéro de lactation et le stade de lactation.
- Le test exact de Fischer pour les paramètres : âge, race, extrémité des trayons-jarrets

1.1. Fréquence des mammites subcliniques dépistées par C.M.T. et par le test de la C.E.

Parmi les 81 vaches testées :

- 61 d'entre elle se sont avérées positives par le C.M.T, soit 75,30%.
- 42 vaches sont avérées positives par le test C.E, soit 51,85%. (Fig.17).

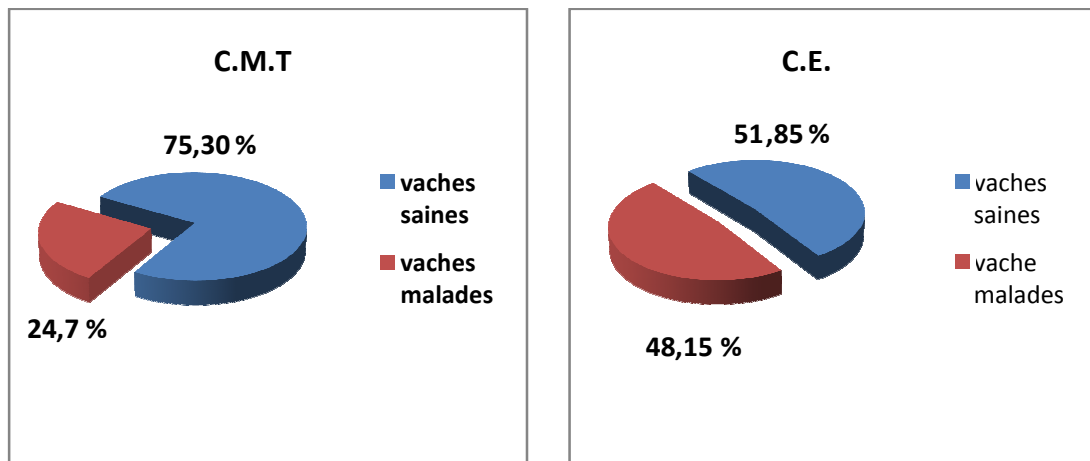


Figure17: Fréquence des mammites subcliniques dépistées par C.M.T et le test de C.E.

- Dans le cadre de notre expérimentation, les mammites subcliniques sont mieux détectées au moyen du C.M.T (75,30%) par comparaison au test de la C.E (51,85%).

Cette différence de fréquences peut s'expliquer par la subjectivité dans la lecture du C.M.T. ainsi que les résultats faussement positifs sur le lait en début et fin de lactation obtenus avec le C.M.T.

Par ailleurs, la persistance d'une réponse cellulaire après guérison bactériologique a souvent été évoquée. SERIEYS. (1997).

La fréquence des mammites subcliniques reste importante pour les deux tests, elle est comparable à celle rapportée par AGCHARIOU et GUERAD. (2010) qui est de 60% par C.M.T.pour les régions d'Akbou et sour ElGhouzlan, mais reste nettement supérieure à celle rapportée par RIHANI(2009) avec 10,38% par le test de la C.E Pour la région de Blida.

(GHAZI, 1997) et (FRANANE, 2000) ont rapporté des fréquences respectives de 47% et 45% pour les régions de l'ouest.

1.2. Fréquence des mammites subcliniques en fonction de l'âge.

La répartition des mammites subcliniques en fonction de l'âge pour les vaches dépistées positives par les deux tests est rapportée dans le tableau X et représentée dans la figure18.

Tableau X : Répartition des mammites subcliniques en fonction de l'âge.

Age (années)	C.M.T		C.E	
	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)
2	6	9,83	4	9,52
3	8	13,11	6	14,29
4	16	26,22	10	23,80
5	23	37,70	18	42,86
6	8	13,11	4	9,52
Totale	61	100	42	100

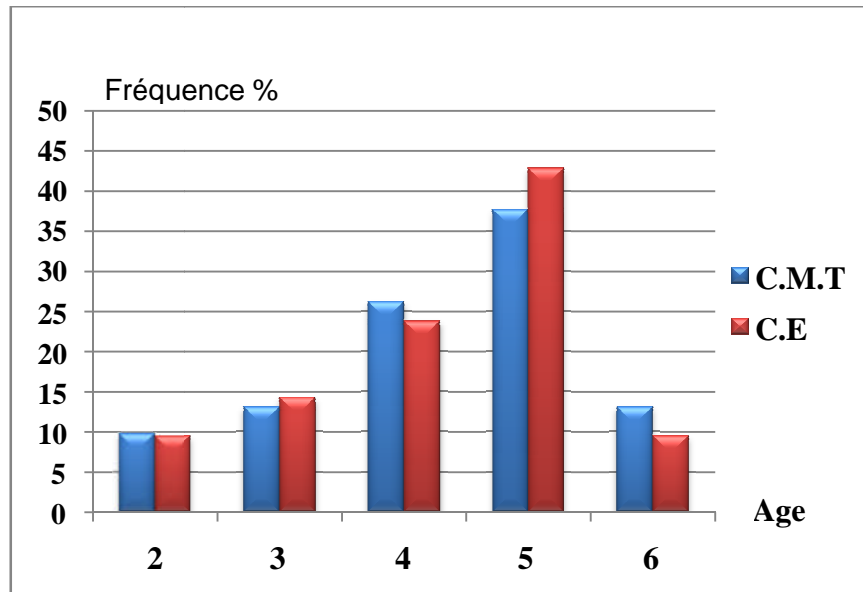


Figure 18: Répartition des mammites subcliniques en fonction de l'âge.

Au risque $\alpha=5\%$. $(P)= 0,03 < 0,05$. les analyses sont statistiquement significative.

La fréquence des mammites subcliniques plus élevée chez les vaches âgées de 4 et 5 ans s'explique par le nombre largement plus important dans cette étude.

- Dans cette présente étude, l'âge n'a pas d'effet sur la répartition des mammites subcliniques aussi bien avec le C.M.T. qu'avec le test C.E.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par CRAPLET et *al.* (1993) et AGCHARIOU et GUERAD. (2010) .et qui ont signalé que la sensibilité des vaches aux mammites n'est pas liée directement aux facteurs d'âge mais avec l'affaiblissement de système immunitaire et au relâchement de ligament suspenseur qui entraîne des défauts de conformation.

D'autre part les résultats contradictoires aux résultats d'OLIVIER et *al.* (1956) et WILTON et *al.* (1972) qui ont constaté que les infections mammaires augmentaient avec l'âge de la vache.

1.3 Fréquence des mammites subcliniques en fonction de race

La répartition des mammites subcliniques selon la race pour les vaches dépistées positives par les deux tests est rapportée dans le tableau XI et représentée dans la figure 19.

Tableau XI: Répartition des mammites subcliniques en fonction de la race.

Race	C.M.T		C.E	
	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)
Holstein	25	40,98	18	42,86
Fleekvieh	12	19,67	9	21,42
Montbéliarde	12	21,31	10	23,81
Normande	9	14,75	3	7,14
Brune des alpes	2	3,28	2	4,76
Totale	61	100	42	100

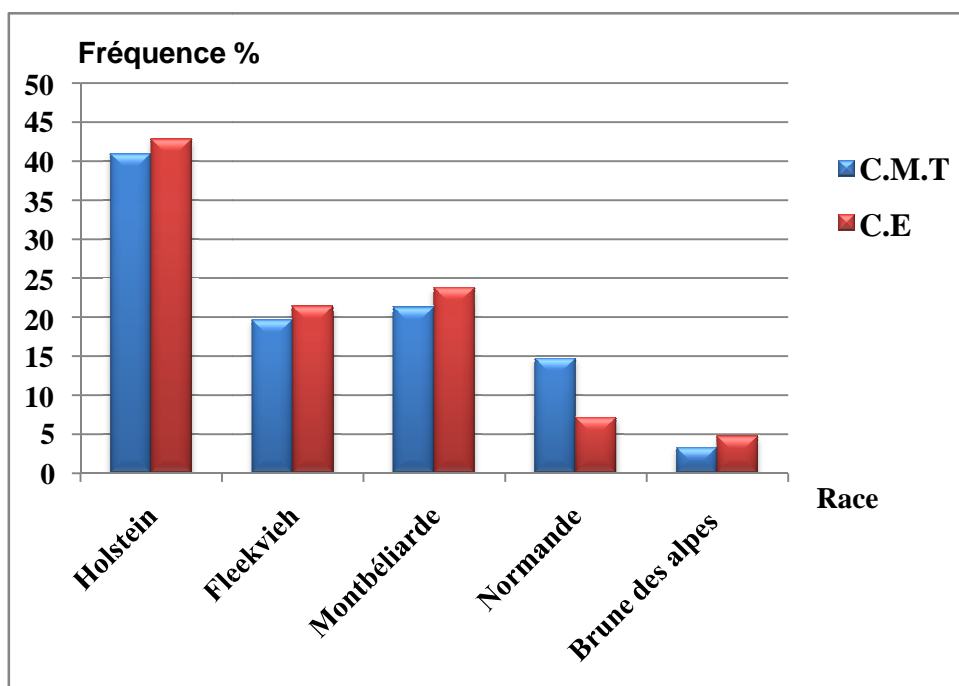


Figure19 : Répartition des mammites subcliniques en fonction de race.

Au risque $\alpha=5\%$. $(P)= 0,11 > 0,05$. les analyses sont statistiquement non significative.

La fréquence des mammites subcliniques plus élevée chez les vaches de race Holstein s'explique par leur nombre important lors de l'étude.

- Dans les conditions de ce travail, la race n'a pas un effet direct sur l'apparition des mammites subcliniques.

Nos résultats s'opposent à ceux de BAKKEN. (1982), BARNOUIN. (1999), et KEBBAL. (2002) qui ont montré que la race avait un effet direct sur l'apparition des mammites, surtout les races laitières qui sont plus prédisposées, particulièrement la race Holstein.

1.4 Fréquence des mammites subcliniques en fonction de numéro de lactation.

Les vaches dépistées positives par le C.M.T et par le test de la C.E. sont réparties, en fonction du nombre de leur lactation tableau XII les résultats sont représentés dans la figure 20.

Tableau XII : Répartition des mammites subcliniques en fonction du numéro de lactation.

Numéro de lactation	C.M.T		C.E	
	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)
Lactation 1	15	24,59	10	23,81
Lactation 2	21	34,43	14	33,33
Lactation 3	25	40,98	18	42,86
Totale	61	100	42	100

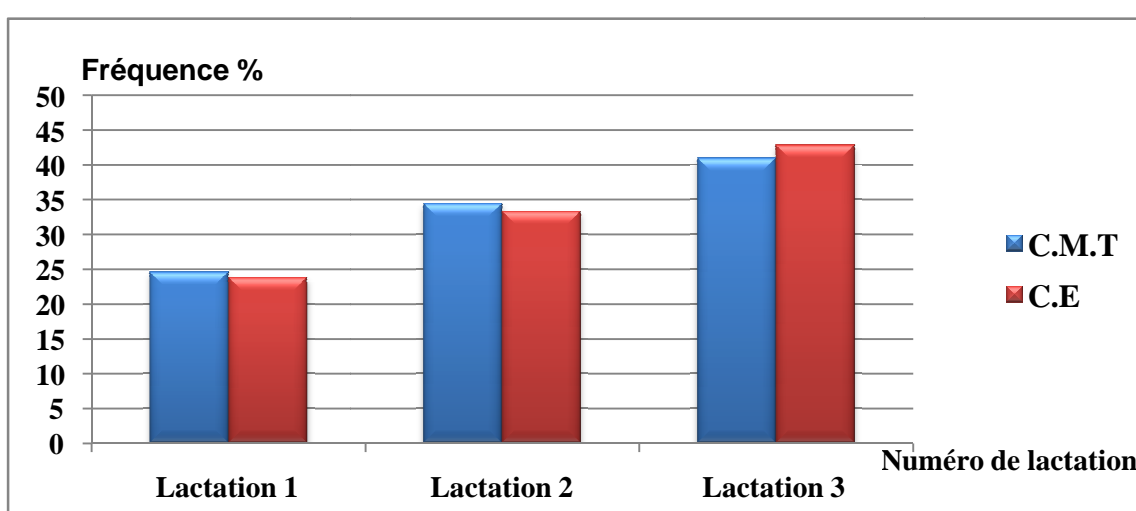


Figure 20 : Répartition des mammites subcliniques en fonction du numéro de lactation

Au risque $\alpha=5\%$. $(P)= 0,84 > 0,05$. les analyses sont statistiquement non significative.

- Dans le cadre de notre expérimentation, le numéro de lactation a un effet direct sur la répartition de mammites subcliniques pour les deux tests.

Les résultats obtenus sont similaires à ceux rapportés par WILTON et *al.* (1972), SERIEYS. (1985), KEBBAL. (2002) et AGCHARIOU et GUERAD. (2010) qui ont montré que les multipares (assuré plusieurs lactations) sont plus touchées par les mammites subcliniques que les primipares (1^{ère} lactation). cette relation due en partie de dégradation progressive de l'état des mamelles et des trayons.

1.5 Fréquence des mammites subcliniques en fonction de stade de lactation.

La répartition des vaches dépistées en fonction de leur stade de lactation est rapportée dans le tableau XIII et représentée en figure 21.

Tableau XIII : Répartition des mammites subcliniques en fonction de stade de lactation.

Stade de lactation	C.M.T		C.E	
	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)
Début	22	36,07	17	40,48
Milieu	12	19,67	6	14,28
Fin	27	44,26	19	45,24
Totale	61	100	42	100

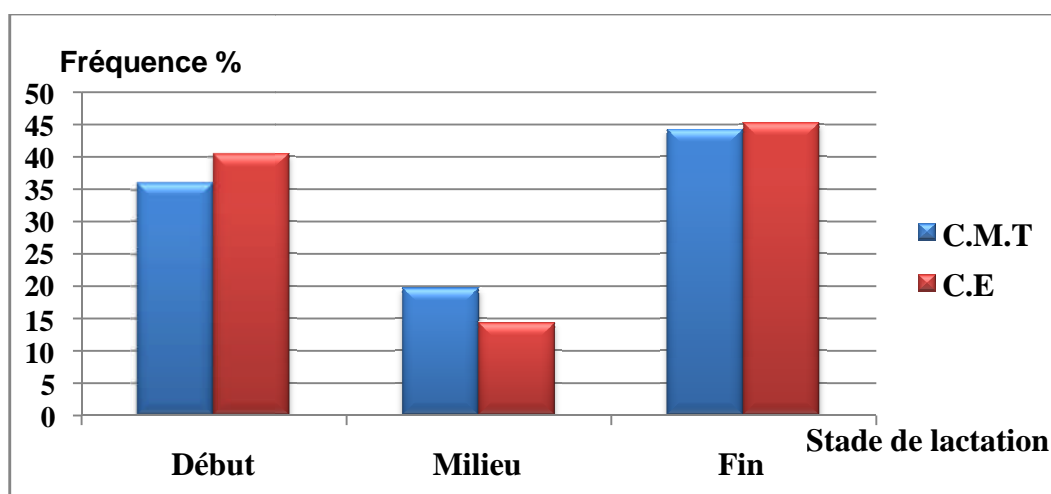


Figure 21 : Répartition des mammites subcliniques en fonction de stade de lactation

Au risque $\alpha=5\%$. $(P)= 0,08 > 0,05$. les analyses sont statistiquement non significative.

- Dans les conditions de notre expérimentation le stade de lactation à un effet direct sur la répartition des mammites subcliniques pour les deux testes.

Les résultats obtenus sont similaires à ceux rapportés par BURVENICH et *al.* (1995) COLIN. (2000) et AGCHARIOU et GUERAD. (2010), qui ont constaté que le stade de lactation a un effet sur l'apparition des mammites subcliniques, avec deux périodes à risque qui sont le début de lactation et de tarissement (fin de lactation). supposent qu'au cours de la lactation, il ya une augmentation de la pression pathogène liée principalement aux germes d'origine mammaire. Pendant la période sèche, il ya une accumulation des fluides et l'augmentation de la pression dans la mamelle entraînent la dilatation du canal du trayon et favorise l'entrée des agents pathogènes de l'environnement. Et dans cette période (tarissement) on ne traite pas la vache, donc les germes ne sont pas éliminés et ces derniers ont le temps de se développer et de provoquer une mammite.

D'autre part nos résultats contradictoires aux résultats à ceux de MTAALLAH. (1999) et KABBAL. (2002) qui ont montrés que la vache qu'elle soit en début, au milieu ou en fin de lactation, avait un risque proportionnellement identique de faire une mammite.

1.6 Fréquence des mammites subcliniques en fonction de la distance et l'extrémité des trayons - jarrets.

La répartition des vaches dépistées en fonction de la distance et l'extrémité des trayons – jarrets est rapportée dans le tableau XIV et représentée en figure 22.

Tableau XIV : Répartition des mammites subcliniques en fonction de la distance et l'extrémité des trayons - jarrets.

Distance et extrémité des trayons- jarrets	C.M.T		C.E	
	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)	Nombre de vaches malades	Fréquence (%)
Bonne	27	44,26	16	38,10
Mauvaise	34	55,74	26	61,90
Totale	61	100	42	100

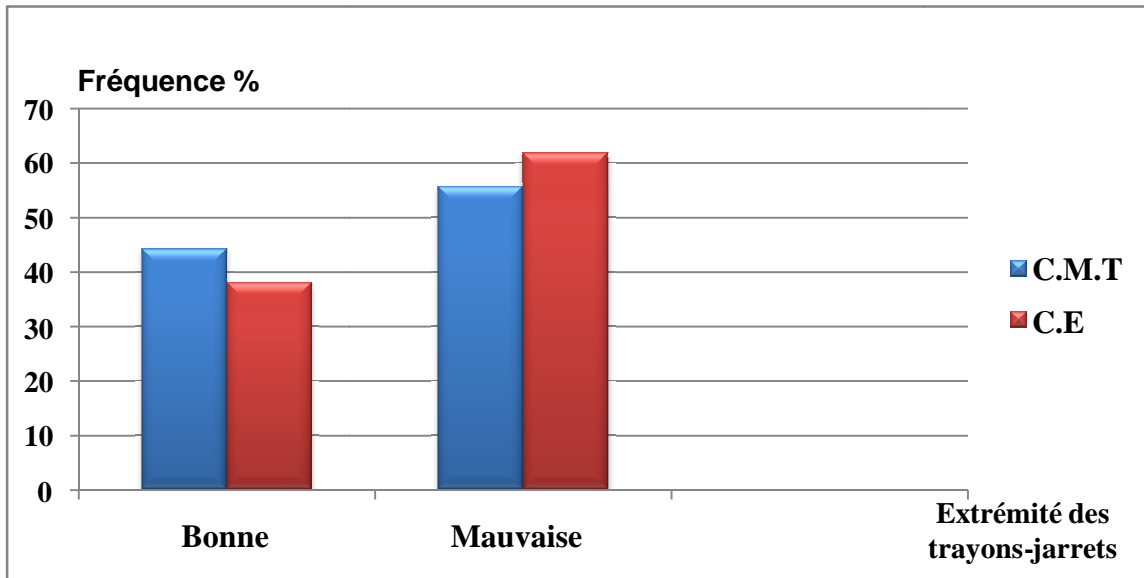


Figure22 : Répartition des mammites subcliniques en fonction de la distance et l'extrémité taryons-jarret

Au risque $\alpha=5\%$. $(P)= 0,18 > 0,05$. les analyses sont statistiquement non significative.

- Dans les conditions de notre expérimentation, la distance extrémité des trayons-jarrets a un effet direct sur la répartition des mammites sucliniques aussi bien par le C.M.T. que par le test de la C.E.

Les résultats sont contradictoires à ceux rapportés par YOUNG et *al.* (1960), SERIEYS. (1997) , mais concordent avec ceux rapporté par GHOURI. (2006), pour qui un déséquilibre de la mamelle avec des extrémités des trayons en dessous des jarrets prédisposent la vache aux mammites subcliniques.

2. Interprétation des résultats des critères d'appréciation des tests utilisés.

Les résultats obtenus par le C.M.T et par le test de C.E. du lait sont détaillés dans l'Annexe C.

L'interprétation des résultats des testes selon les critères d'appréciation est représentée dans le tableau XV.

Tableau XV : Résultats des critères d'appréciation des tests utilisés.

		Test C.E. (n= 81)	
		Laits négatifs	Laits positifs
C.M.T.	Laits négatifs	VN=15	FP=5
	Laits positifs	FN=24	VP=37
Sensibilité (VP/VP+FN)		0,61	
Spécificité (VN/VN+FP)		0,75	
Valeur Prédictive Positive (VP/VP+FP)		0,88	
Valeur Prédictive Négative (VN/VN+FN)		0,40	

n=effectifs de l'étude.

Les critères d'appréciation des tests de la C.E. montrent que :

- La **Sensibilité** est de 0,61 : ceci signifie que le test géré avec les seuils proposés par la méthode de dépistage permet de déceler 61% de laits infectés.
- La **Spécificité** est de 0,75: elle correspond à la probabilité qu'un lait non infecté soit effectivement un lait sain. Ce qui signifie que 75% des laits sains sont considérés comme tels par le test de référence.
- La **Valeur Prédictive Positive** est de 0,88 elle correspond à la proportion des «Vrais positifs» (repérés positifs par le test). Cette proportion est satisfaisante, car elle exprime 88% des réactions du test correspond à un score positif.
- La **Valeur Prédictive Négative** est de 0,40, correspond à la proportion des «Vrais négatifs» (non repéré positifs par le test, avec un score positif par le C.M.T.). Cette proposition est moyenne, car elle exprime que 40% des réactions négatives par les tests correspondant à des laits sains.

3. Résultats des analyses bactériologiques :

Les examens bactériologiques ont révélé que sur 58 échantillons des laits considérés comme faux négatifs (test positif par le C.M.T. et négatifs par la C.E) et les faux positifs (test négatif par le C.M.T. et positifs par la C.E).

- Parmi les 58 échantillons analysés 44 ont été positifs (76%).
- Parmi les 47 échantillons de lait considérés comme (faux négatifs) 41 échantillons ont été positifs par examen bactériologique (87%).
- Parmi les 11 échantillons de lait considérés comme (faux positifs) 3 échantillons ont été positifs par examen bactériologique (27%).

Le tableau XVI Comprend les résultats obtenus au laboratoire de laiterie de Kssar el boukhari. La figure 23 comprend la Fréquence des différentes espèces bactériennes responsables des mammites subcliniques .

Tableau XVI : Identification des germes des différents prélèvements.

Numéro de prélèvement	Quartier infecté	Germes mise en évidences
03552528853	PG	Staphylocoque coagulase – Streptocoques (esculine+)
1404062916	AG-AD PG-PD	Staphylocoque coagulase – <i>Escherichia coli</i>
07963203	AD	Staphylocoque coagulase + Streptocoques (esculine+)
54877849	AD-PD PG	Staphylocoque coagulase – <i>Escherichia coli</i> Streptocoques (esculine+)
0353043018	AG-PD	Staphylocoque coagulase –
0352783516	PD	Staphylocoque coagulase – Streptocoques (esculine+)
5627138732	AD	Pseudomonas
5612952924	AD	Staphylocoque coagulase –
480237583	AG-AD	Streptocoques (esculine+)
1604914	AG	Staphylocoque coagulase +
2234614	AD-PD PG	<i>Escherichia coli</i> Streptocoques (esculine+)
0152514	AG	Staphylocoque coagulase –
0763518	PD	Streptocoques (esculine+) Staphylocoque coagulase –
5351844437	AD-PD PG	Staphylocoque coagulase –
5379660011	AD-PG	<i>Escherichia coli</i> Staphylocoque coagulase +
5380353863	PD-PG	Staphylocoque coagulase –
35418223301	AG-AD	Staphylocoque coagulase –
5351844437	PG-PD	Staphylocoque coagulase +
3918370436	AD-PD	Staphylocoque coagulase – <i>Escherichia coli</i>
3802700077	PD	Pseudomonas
5628853992	AG-AD	Staphylocoque coagulase +
5617794583	AG-PG	Staphylocoque coagulase +Staphylocoque coagulase +
07807203	AD	Staphylocoque coagulase –
2344166	AD-PD PG	Staphylocoque coagulase +

AD : Antérieur droit, **AG** : Antérieur gauche, **PD** : Postérieur droit, **PG** : Postérieur gauche

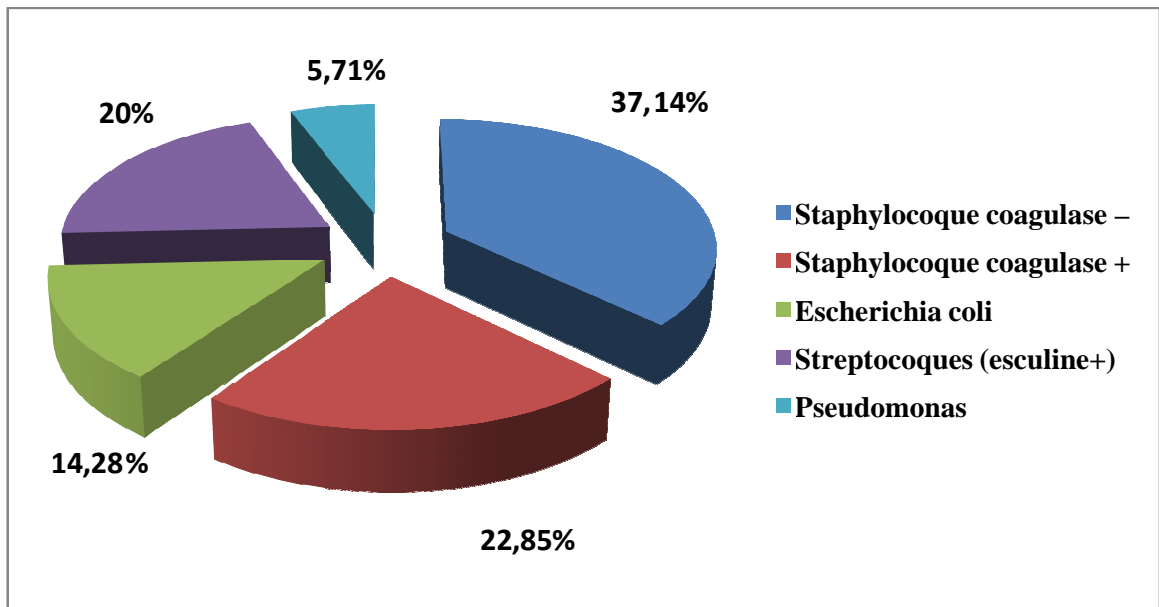


Figure23 : Fréquence des différentes espèces bactériennes responsables des mammites subcliniques .

Le tableau XVI ressort le nombre de prélèvement analysés et la fréquence des différentes espèces responsable de mammites subcliniques.

- La première constatation de la figure 23 est la somme de la proportion des staphylocoques et des streptocoques réunis qui dépasse les 79% et représente la grande majorité des germes responsables de mammites subcliniques.

Ces résultats ont été largement notée dans nombre de travaux nationaux et internationaux, parmi les quelle :(KEBBAL, 2002) , (GHOURI, 2006), et (ASNOUN, 2012).

- Les SCN (Staphylocoques coagulase -) ont représenté 37% des bactéries isolées. Ce sont les agents étiologiques les plus fréquemment rencontrés dans le cas des mammites subcliniques.

Ces résultats sont similaires avec à ceux rapportés par MESSADLI. (2003), TAPONEN. (2008).

- Classé parmi les agents pathogènes majeurs, *S.aureus*, après les SCN, le germe le plus fréquemment isolé des quartiers infectés, probablement en relation avec des déficiences en matière d'hygiène. Il a été isolé avec une fréquence plus de 22%. Il se trouve en grand nombre dans le lait cru. Son réservoir est constitué par les glandes mammaires infectées.

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par (MESSADLI, 2003) et (GHOURI, 2006).

- *Escherichia coli* est considéré comme un germe de l'environnement et il est présent en abondance sur tous les supports des étables et dans l'eau. Il a été isolé avec une fréquence de 14% dans la présente étude; le mauvais entretien de la litière et la mauvaise hygiène de la stabulation et des vaches en générale pouvait expliquer sa présence.

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par KEBBAL. (2002), GHOURI. (2006) et ASNOUN. (2012).

4. Résultats des analyses biochimiques

4.1. Electrophorèse sur acétate de cellulose du lait mammitique sub-clinique.

Les résultats sont illustrés par la figure 23.

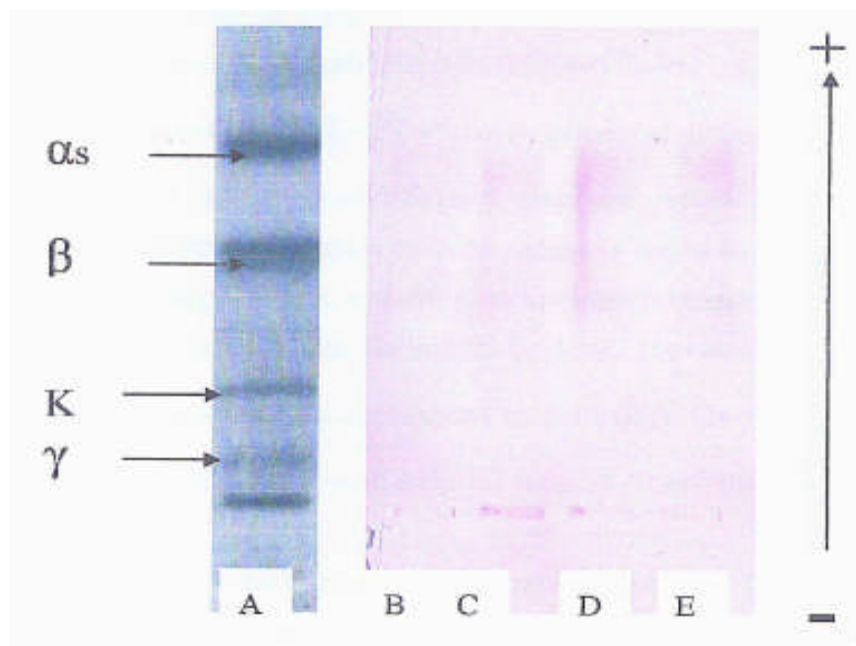


Figure 24 : Electrophorèse sur acétate de cellulose réalisé sur du lait sain (à gauche), et du lait de mammites subcliniques. (Photographie originale)

A : Bande correspondant à la caséine du lait sain.

B : Bande correspondant à la caséine du lait mammitique aux Staphylocoques coagulase- (prélèvement numéro 5351844437 AD).

C : Bande correspondant à la caséine du lait mammitique aux Staphylocoques coagulase + (prélèvement numéro 5351844437 PG).

D : Bande correspondant à la caséine du lait mammitique aux Streptocoques (prélèvement numéro 480237583 AG).

E : bande correspondant à la caséine du lait mammitique aux entérobactéries (prélèvement numéro 2234614 PD).

4.2. Discussion

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

L'électrophorèse sur acétate de cellulose comprend :

-La bande A : Elle représente le profil électrophoretique du lait cru sain, les différentes caséines en l'occurrence α_s , β , κ et γ sont nettement et distinctement représentées.

La bande B,C,D et E :Elles représentent le profil électrophoretique du lait atteint de mammites subcliniques ,les différents caséines ne sont présentes qu'en forme de trace, difficilement distinctes ce qui témoigne d'une activité protéolytique très marquée ;cela due à des protéases alcalines secrétées par les différents bactéries responsables de ces mammites, ces protéases entraînant une hydrolyse des caséines en particulier α_s et β .

Ces résultats concordent parfaitement avec les travaux de SAIDOUN et SADAWI. (2006).

-Cette protéolyse est particulièrement remarquable dans le lait marmiteux dû aux Staphylocoques et en particulier les Staphylocoques coagulase – où les caséines ont pratiquement disparues.

CONCLUSION

La mammite représente l'une des pathologies les plus dominantes en élevage bovins laitier en Algérie. Elle constitue un facteur limitant responsable d'une baisse de la production laitière et de pertes économiques considérables. (ONIL, 2011).

Le dépistage précoce des mammites subcliniques chez la vache reste un outil très important dans la lutte contre la problématique posée. Il permet en effet, de prévenir l'apparition des mammites cliniques, l'instauration précoce d'un traitement approprié et le maintien d'un bon niveau de production laitière.

Dans cette étude, les résultats des tests réalisés ont révélé une fréquence importante des mammites subcliniques en élevage bovin laitier. Cette fréquence était de 75,30% avec le test de C.M.T et 51,85% avec le test de la Conductivité Électrique. 87% des échantillons considérés comme positifs par le C.M.T. ont été positifs par analyses bactériologiques.

Les critères d'appréciation pour le test de la conductivité électrique par rapport au C.M.T. (test de référence) ont montré une *Sensibilité* ainsi qu'une *Valeur Prédicative Négative* de 0,40 et une *Spécificité* ainsi qu'une *Valeur Prédicative Positive* de 0,88.

Les bactéries du réservoir mammaire, dominé par les Staphylocoques mais également par les Streptocoques, représentent près de 80% des agents infectieux des mammites subcliniques.

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

Même si le test de la Conductivité Électrique du lait constitue un moyen rapide, peu onéreux et d'utilisation simple au niveau de la ferme, Le test C.M.T. demeure le moyen de dépistage le plus fiable le plus économique et le moins contraignant en Algérie.

En perspectives il serait intéressant de réaliser les étapes suivantes :

- Identification génétique des souches pathogènes causales de mammites

- Réalisation d'une électrophorèse en SDS PAGE
- Suivre une étude sur les bonnes pratiques d'hygiène au niveau de la traite et de l'élevage
- Proposition de nouvelles techniques rapides pour la de détection des laits mammites.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AGCARIOU K., GUERAD A.2010.**Détection des mammites subcliniques par les méthodes du C.M.T. et du papier pH dans les régions d'AKBOU et Sour EL Ghozlan. Mémoire de fins d'études. USDB.
2. **ANONYME, 2004.** Instruction for use Titan III serum protein électrophoresis Helena-Bliosciences.Europe-Sunderland.
3. **ANONYME, 2012.** Site internet de la société Draminski®.
AdresseURL :<http://www.draminski.es/var/corporate/storage/image/products/cattle/draminski-4QMast-wy-krywacz-Mastitis-z-odczytem-4-cwiartek/1060-38-pol-PL/draminski-4qMast-.jpg>.
4. **ANONYME, 2012.** Site internet de la société Kitvia®
AdresseURL :<http://www.Kitvia.com/image/masdtec.jpg>.
5. **ASNOUNE, B.** Prévalence of major bacteria causing subclinical Mastitis in dairy cows in Northeastern Algeria.
6. **BADIVANT, 1994.** Maitrise de taux cellulaire du lait. Racienc de médecine vétérinaire, numéro spécial : qualité du lait, 1994.491-527.
7. **BAILLARGEON, 2005.**Pfizer Santé Animale. Le producteur Québécois.
8. **BAKKEN G, 1982.** The Relationship between environmental conditions and bovine udder disease in Norwegian dairy herds.Ada.Argi.Ssand, 32 :23-31.
9. **BARNOUIN J., CHASSAGNE M., FAYE B.1994.** Les infections intra mammaires chez la vache laitière dans l'enquête éco-pathologique, Bretagne.INRA.Prod.Anim. 1994 ,7 :55-65.
- 10.**BARONE R, 1990.** Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome IV : Chapitre IV, p 449-486.
- 11.**BERTIN C, 2009.** L'AFSSA explore des laits mammitieux des vaches laitières Rhone-alpine, AFSSA, n° 1349.P 42-44.
- 12.**BILLON P, 2001.**La détection des mammites par la mesure de la conductivité électrique du lait .Bulletin des GTV, 2001, 12 :35-39.

13. **BONNE G., DESCILAUDE, DAGRIL J., GEDOUD R, JUSSIUM LELOCHO, MONTMENLE L, ROBIN G., 2005.** Reproduction des animaux d'élevage, 2^{ème} édition.
14. **BOND C., 2005.** La lactation.
15. **CAUTY I., JEAN M.P, 2003.** La conduite de troupeau laitière, P49-221.
16. **CHEFTEL J.CH, HENRI.CH, 1992.** Introduction a la biochimie et a la technologie des aliments.
17. **COLIN M, 2005.** Reproduction animaux domestiques. P168-172.
18. **DEDERT A, 2001.** Traitement des mammites en élevage biologique : essai sur le terrain d'une huile essentielle, Thèse de diplôme de Docteur Vétérinaire, ENV Nantes.
19. **DERIVEAU, ECTOR. 1980.** Physiologie de la gestation et obstétrique vétérinaire.
20. **DIE GRUNE, 2002.** Santé mammaire.
21. **DUDOUET CH, 2004.** La reproduction des bovins allaitants, 2^{ère} édition 282-285.
22. **DUREL, POUTREL, 2006.** Le diagnostic bactériologique des mammites par le vétérinaire praticien, solutions pratiques et limites, Bulletin des GTV, 2006, n°33; p 43-53.
23. **FAROULT H, 2000.** Institut de l'élevage, maladies des bovins 3^{ème} éditions avril, les affections du trayon et de mamelle, P55.
24. **FERANANE H, 2000.** Les mammites d'origines bactériennes chez les bovins laitiers dans l'ouest Algérien. Mémoire de magister, ISV, Centre Universitaire de Tiaret.
25. **FISCHER J.M., 1991.** Conséquence des mammites subcliniques bovines sur la quantité et la qualité du lait dans un grand troupeau. Thèse Doctorat Vétérinaire. ENV Alfort.
26. **FOURNIER A, 2006.** La vache.
27. **GHOURI I., 2006.** Étude des mammites subcliniques avec suivi des vaches pendant le tarissement dans la région de la Mitidja. Mémoire de Magister. USDB.
28. **GIRODON S ., 2001.** Maitrise des infections intra mammaires dans les troupeaux bovins laitiers : Méthode pour l'élaboration d'un plan de lutte. Thèse pour diplôme d'état vétérinaire. Nantes.
29. **GOURREAU J.M, 1995.** Accidents et maladies du trayon. Manuel pratique, édition France Agricole.
30. **GOURREAU J.M., BENDALI F, 2008.** Institut d'élevage. Maladies des bovins, manuel pratique, P 48-53.
31. **GUERIN P., FAUBLEE G, 2007.** Mammites des vaches laitières.

32. **HAMMANN J., ZECCONI A, 1998.**Évaluation of electrical conductivity of milk as a mastitis indicator. Bulletin of the IDF, 334 :P26.
33. **HANZEN CH, 2000.** Propédeutique et pathologies de la reproduction male et femelle. Biotechnologie de la reproduction. Pathologie de la glande mammaire, 3^{ème} partie, 4^{ème} édition OC, université de Liège.
34. **HANZEN CH, 2010.** La pathologie infectieuse de la glande mammaire, étiopathogénie et traitement, approche individuelle et du troupeau.
35. **HANZEN CH, 2005.** Lait et production laitière .Cours faculté médecine vétérinaire.
36. **HANZEN CH., PULVINAGE PH, 2008.** La pathologie infectieuse de la glande mammaire : approche individuelle.
37. **KATHOLM J.1983.** The influence of iron. on infection. Vetrinaertidsskrift, (1983), 66 (1) :2-6.
38. **KEBBAL S. 2002.** Méthodes de diagnostic des mammites et facteurs de risque, enquête dans la région de la Mitidja. Mémoire de Magister .USDB.
39. **LEVESQUE P, 2006.**La classification des mammites, P30.
40. **LE ROUX Y, 1999.** Les mammites chez la vache laitière, P51.
41. **LINDEN G., LORIENTD, 1994.** Biochimie agro-alimentaire valorisation alimentaire de la production agricole. E D.Masson-Paris P 101-109.
42. **LUPIENJ, 1995.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine organisation des unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome, P 272.
43. **LUQUET F ,1986.**Lait et produits laitiers, Vache, Brebis, Chèvre
44. **MAHAUT M., JEANTRE R., BRUIE G, 2000.** Initiation à la technologie fromagère.P1-21.
45. **MATHIEU J, 1998.** Initialisation a la physico-chimie du lait, édition Tec Doc.
46. **MEISSONIER L.E., DAVID C., CHAMSOUR A ., 1992.** Nutrition,maadies métaboliques et mammites chez les vaches laitières.Colloque de la société Francaise de la laiterie.Paris,(1992).
47. **MEKADEMI K, 2006.** Contribution à l'étude des mammites cliniques et sub-cliniques dans la région de la Mitidja .Mémoire de Magister, Départ.Vétérinaire, Blida.
48. **MTAALAH B., OUBEY Z., HAMMAMI H ,2002.** Estimation des pertes de production en lait et des facteurs de risque des mammites subcliniques à partir des numération cellulaires du lait de tank en élevage bovins laitier. Revue Méd.Vét 153,4,251-260.

49. **NAKAJIMAT, 1997.** Elevated level of tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 activities in the sera and milk of cows naturally occurring coliform mastitis. *Res.Vet.Sci* 1997;62 :297-298.
50. **ONIL, 2011.** Office National Interprofessionnel du lait.
51. **POUTREL B 1986.** Amélioration de la qualité du lait par la lutte contre les mammites bovines. *Med Nut* : Tome 5, 318-613.
52. **POUTREL B 1999.** Cellules somatiques du lait. Journées Nationales GTV-INRA, P34.
53. **PYROLAS, 2003.** Indicateur of inflammation in the diagnostic mastitis, *Vet.Res.*2003, 34 :565.
54. **RADOSTITIS OM., BLOOD D.C., GAY C.C.1997.** A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses veterinary medicine : 15,576.
55. **RIHANI Y.A, 2009.** Mammites subcliniques chez la vache laitière. Mémoire de fins d'études, USDB.
56. **RISCH, 1978.** Prophylaxie des mammites de la vache laitière par antiseptie mammaire en période sèche. Thèse Doctorat Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire.
57. **ROGER W ., WEAVER D , 2006.** Guide pratique de la médecine bovine, P174, 175.
58. **ROSSEN BERGER.G, 1997.** Séminaire technique sur la production laitière. 2 juillet 1987, INAV Hassan II, Rabat.
59. **SAIDOUN C., SADAoui M.A, 2006.** Profil électrophorétique des laits issus de vaches atteintes des mammites sub cliniques. Mémoire Docteur Vétérinaire –fac. Sciences Agro-vétérinaire et biologie-Blida.
60. **SERIEYS F. 1985.** Concentration cellulaire du lait individuel de vache : influence de l'état d'infection mammaire, de numéro de lactation, du stade de lactation, et de la production laitière. *Ann. Rech.Vet.*, 16 :255-261.
61. **SERIEYS F. 1997.** Le tarissement des vaches laitières. Une période clé pour la santé, la production et la rentabilité du troupeau. Edition France Agricole, P 224.
62. **SOLTNER D, 2001.** La reproduction des animaux d'élevage. Inhibition du réflexe d'éjection du lait. *Science et technologie agricole.*
63. **STOLL W, 2003.** Vache laitière, P 19.
64. **THIBERT B, 1996.** De la mamelle aux mammites .A la pointe de l'élevage bovin, Avril 1996.

- 65. TOLLEFSON L., ANGULO F.J., FEDORKA P.J, 1998.** National surveillance for antibiotic resistance in zoonotic enteric pathogens. *Veterinary clinics of North America*, p141-150.
- 66. VIESSEYRE R, 1975.** Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation de lait. P37.
- 67. VIGNOLA C, 2002.** Science de la technologie du lait. P1.
- 68. WALTER S, 2006.** Évitez les mammites chez la vache laitière.
- 69. WATTIAUX M.A, 1998.** Sécrétion de lait.
- 70. WATTIAUX M.A, 1999.** Reproduction et sélection génétique. Chapitre 12 : évaluation de la condition corporelle. Institut Bab Cock pour la recherche et le développement international du secteur laitier. University Wisconsin-Madison.
- 71. WATTIAUX M.A, 2000 .**Lactation et récolte de lait. P 77-78.
- 72. WALTION J.W., VAN VLECJ L.D EVERETT R.W, 1972 .**Génétique and environmental aspect of udder infections. *J. Dairy Sci.*1992, 55 :183-193.
- 73. YOUNG CN., LEATES J.E., LECEE J., G, 1960.** Génétic and phénotypic relationships between clinical mastitislaboratory eriteric and udder height. *J.Dairy Sci.*43, 54,62.

Annexe A

Renseignement relatifs de la ferme

	Présentation de la ferme
Localité	Ksars el boukhari
Propriétaire	M ^r TAHAR
Présence de vétérinaire	Visite
Nombre de vaches laitières	300
Type de stabulation	Mixte
Type de production	Laitière
Hygiène de l'étable	bonne
Produits utilisés et fréquence	Eau Javellisée Biocide 1fois /semaine
Type de la litière	paille
Fréquence de renouvellement de la litière	Chaque jour
Mode de traite	Machine
État de la machine à traite	Neuve
Hygiène de la machine à traite	Hyprochlore® Hypracide®
Nombre de traite par jour	2 fois/jours
Essuyage de la mamelle après le lavage	oui
Désinfection de l'extrémité du trayon avant antibiothérapie	alcool
Régime alimentaire en lactation	Concentré, Fourrage vert
Régime alimentaire au tarissement	Paille, concentré spéciale au tarissement
Transition	oui
Mode de tarissement	provoqué
Durée moyenne du tarissement	2 mois
Produit utilisés lors de mammites cliniques	Mastalone® Cloxalène® SYNULOX®
Dépistage des mammites subcliniques	Oui (C.E)

C.E : conductivité électrique

Annexe B

Fiche d'identification des vaches par exploitation

vache	N° d'identification	Race	Age (année)	N° de lactation	Stade de lactation (mois)	Distance extrémité des trayons-jarrets
01	03552528853	Holstein	5	2 ^{ème} lactation	2	Bonne
02	1404062916	Holstein	3	1 ^{ère} lactation	4	Mauvaise
03	5636842064	Holstein	5	3 ^{ème} lactation	8	Mauvaise
04	07970203	Holstein	3	1 ^{ère} lactation	7	Bonne
05	07963203	Holstein	2	1 ^{ère} lactation	2	Bonne
06	0115979277	Holstein	6	3 ^{ème} lactation	3	Mauvaise
07	0352854398	Holstein	5	3 ^{ème} lactation	7	Mauvaise
08	5800510460	Holstein	3	1 ^{ère} lactation	5	Mauvaise
09	5454877849	Holstein	4	2 ^{ème} lactation	3	Bonne
10	07807203	Holstein	2	1 ^{ère} lactation	4	Bonne
11	3546053372	Holstein	5	3 ^{ème} lactation	20jours	Mauvaise
12	16342167	Holstein	5	2 ^{ème} lactation	2	Mauvaise
13	0353043018	Holstein	5	3 ^{ème} lactation	5	Bonne
14	6950562978	Holstein	5	2 ^{ème} lactation	9	Mauvaise
15	0352783516	Holstein	4,5	2 ^{ème} lactation	7	Bonne
16	5627138732	Holstein	4	2 ^{ème} lactation	4	Bonne
17	0115979277	Holstein	5	3 ^{ème} lactation	8	Mauvaise
18	07979203	Holstein	6	3 ^{ème} lactation	2	Mauvaise
19	03526999138	Holstein	5	2 ^{ème} lactation	2	Bonne
20	4407214192	Holstein	3	1 ^{ère} lactation	6	Mauvaise
21	3534844929	Holstein	5	3 ^{ème} lactation	3	Bonne
22	0116141259	Holstein	5	3 ^{ème} lactation	8	Mauvaise
23	5627138732	Holstein	5	2 ^{ème} lactation	7	Mauvaise
24	8567537622	Holstein	4	2 ^{ème} lactation	6	Mauvaise
25	07805203	Holstein	3	1 ^{ère} lactation	9	Bonne
26	5612952924	Holstein	4	1 ^{ère} lactation	1	Mauvaise
27	065000107005	Holstein	5	3 ^{ème} lactation	2	Bonne
28	065000106001	Holstein	6	3 ^{ème} lactation	7	Mauvaise
29	487714850	Holstein	4	2 ^{ème} lactation	9	Mauvaise
30	480237583	Holstein	4	2 ^{ème} lactation	8	Mauvaise
31	1254717	Fleedkvieh		1 ^{ère} lactation	3	Mauvaise

Annexe B

Fiche d'identification des vaches par exploitation

vache	N° d'identification	Race	Age (année)	N° de lactation	Stade de lactation (mois)	Distance extrémité des trayons-jarrets
32	9701618	Fleckvieh	2	1ère lactation	4	Bonne
33	1181518	Fleckvieh	3	1ère lactation	1	Bonne
34	0024314	Fleckvieh	5	1ère lactation	5	Bonne
35	0943439087	Fleckvieh	4	2ème lactation	7	Mauvaise
36	1604914	Fleckvieh	6	3ème lactation	6	Bonne
37	7709114	Fleckvieh	5	2ème lactation	2	Mauvaise
38	0941331100	Fleckvieh	4	2ème lactation	8	Bonne
39	5060917	Fleckvieh	3	1ère lactation	3	Mauvaise
40	2234614	Fleckvieh	5	3ème lactation	4	Mauvaise
41	0152514	Fleckvieh	5	3ème lactation	7	Mauvaise
42	07811203	Fleckvieh	6	3ème lactation	5	Bonne
43	5328308140	Fleckvieh	3	1ère lactation	7	Mauvaise
44	0763518	Fleckvieh	2	1ère lactation	9	Bonne
45	2038217	Fleckvieh	5	3ème lactation	15 jours	Bonne
46	0942259529	Fleckvieh	4	1ère lactation	6	Bonne
47	0941703792	Fleckvieh	4	2ème lactation	7	Mauvaise
48	451916517	Fleckvieh	3	1ère lactation	4	Mauvaise
49	0943486355	Normande	4	2ème lactation	2	Bonne
50	5351844437	Normande	3	1ère lactation	3	Mauvaise
51	5379660011	Normande	6	3ème lactation	5	Mauvaise
52	538073863	Normande	4	2ème lactation	8	Bonne
53	5380353836	Normande	2	1ère lactation	2	Bonne
54	3541823301	Normande	5	3ème lactation	7	Mauvaise
55	4457679388	Normande	4	2ème lactation	6	Bonne
56	4415348923	Normande	4	2ème lactation	1	Mauvaise
57	4961747229	Normande	2	1ère lactation	3	Mauvaise
58	5351844437	Normande	5	2ème lactation	9	Mauvaise
59	1039117	Normande	2	1ère lactation	4	Mauvaise
60	3918370436	Normande	6	2ème lactation	8	Bonne
61	351327749	Montbéliarde	5	3ème lactation	3	Mauvaise
62	7402249152	Montbéliarde	5	3ème lactation	7	Mauvaise

Annexe B

Fiche d'identification des vaches par exploitation

vache	N° d'identification	Race	Age (année)	N° de lactation	Stade de lactation (mois)	Distance extrémité des trayons-jarrets
63	0663266237	Montbéliarde	2	1ère lactation	9	Mauvaise
64	3926834248	Montbéliarde	2	1ère lactation	3	Bonne
65	2538504680	Montbéliarde	4	2ème lactation	3	Bonne
66	2543843493	Montbéliarde	3	1ère lactation	8	Mauvaise
67	0109023537	Montbéliarde	5	3ème lactation	7	Mauvaise
68	3802700077	Montbéliarde	4	2ème lactation	4	Bonne
69	2524593564	Montbéliarde	5	3ème lactation	5	Bonne
70	620622368	Montbéliarde	4	2ème lactation	7	Mauvaise
71	5628853992	Montbéliarde	4	2ème lactation	3	Bonne
72	7639391740	Montbéliarde	2	1ère lactation	4	Bonne
73	7120239475	Montbéliarde	4	2ème lactation	6	Bonne
74	7402359946	Montbéliarde	5	3ème lactation	7	Mauvaise
75	2917378407	Montbéliarde	5	3ème lactation	5	Bonne
76	5617794583	Montbéliarde	6	3ème lactation	3	Bonne
77	1270530952	Montbéliarde	2	1ère lactation	2	Mauvaise
78	159393316	Brune des alpes	4	2ème lactation	8	Mauvaise
79	539774814	Brune des alpes	5	3ème lactation	5	Bonne
80	2344166	Brune des alpes	4	2ème lactation	7	Bonne
81	3547166	Brune des alpes	4	3ème lactation	8	Bonne

Vache	C.M.T. par quartier		C.M.T. par vache	C.E. par quartier		C.E. par vache
	AG	AD		AG	AD	
	PG	PD		PG	PD	
01	-	-	+	340(-)	340(-)	-
	+	-		340(-)	350(-)	
02	+	++	+	320(-)	300(-)	-
	++	+		310(-)	310(-)	
03	++	-	+	300(-)	340(-)	+
	+++	+		230(+)	320(-)	
04	+	+	+	290(+)	290(+)	+
	-	+		320(-)	330(-)	
05	-	+	+	340(-)	300(-)	-
	-	-		340(-)	320(-)	
06	++	-	+	290(+)	310(-)	+
	-	+++		320(-)	280(+)	
07	++	-	+	290(+)	300(-)	+
	+	+		300(-)	300(-)	
08	-	-	-	310(-)	310(-)	-
	-	-		350(-)	330(-)	
09	-	+	+	340(-)	320(-)	-
	++	+		300(-)	310(-)	
10	-	-	-	260(+)	270(+)	+
	-	-		300(-)	330(-)	
11	++	+	+	290(+)	300(-)	+
	++	++		290(+)	280(+)	
12	+	-	+	290(+)	300(-)	+
	+++	+		280(+)	290(+)	
13	+	-	+	310(-)	310(-)	-
	-	++		330(-)	310(-)	
14	++	-	+	290(+)	340(-)	+
	-	-		300(-)	340(-)	
15	-	-	+	360(-)	370(-)	-
	-	+		350(-)	320(-)	
16	-	•	-	310(-)	•	-
	-	-		330(-)	330(-)	
17	+	++	+	300(-)	240(+)	+
	+	+++		290(+)	250(+)	

Vache	C.M.T. par quartier		C.M.T. par vache	C.E. par quartier		C.E. par vache
	AG	AD		AG	AD	
	PG	PD		PG	PD	
18	-	+++	+	300(-)	280(+)	+
	-	-		340(-)	350(-)	
19	-	+	+	290(+)	280(+)	+
	-	+		290(+)	270(+)	
20	-	-	-	310(-)	330(-)	-
	-	-		300(-)	340(-)	
21	•	++	+	•	290(+)	+
	-	+		290(+)	280(+)	
22	-	+	+	300(-)	260(+)	+
	+++	++		240(+)	260(+)	
23	-	+++	+	310(-)	300(-)	-
	-	-		310(-)	300(-)	
24	++	+	+	280(+)	290(+)	+
	+	++		290(+)	290(+)	
25	+	+	+	280(+)	290(+)	+
	-	+		290(+)	280(+)	
26	-	+	+	330(-)	310(-)	-
	-	•		350(-)	•	
27	-	-	-	270(+)	300(-)	+
	-	-		290(+)	300(-)	
28	++	-	+	240(+)	300(-)	+
	+	++		260(+)	290(+)	
29	-	+	+	310(-)	290(+)	+
	+	++		310(-)	300(-)	
30	++	+	+	300(-)	310(-)	-
	-	-		320(-)	320(-)	
31	+	-	+	290(+)	290(+)	+
	++	+++		290(+)	240(+)	
32	-	-	-	380(-)	320(-)	-
	-	-		380(-)	340(-)	
33	-	+	+	290(+)	310(-)	+
	-	-		300(-)	310(-)	
34	-	-	-	330(-)	360(-)	-
	-	-		340(-)	350(-)	

Vache	C.M.T. par quartier		C.M.T. par vache	C.E. par quartier		C.E. par vache
	AG	AD		AG	AD	
	PG	PD		PG	PD	
35	-	-	+	300(-)	300(-)	+
	++	+		290(+)	290(+)	
36	+	•	+	320(-)	•	-
	-	-		320(-)	350(-)	
37	-	-	-	290(+)	280(+)	+
	-	-		290(+)	300(-)	
38	+	-	+	260(+)	310(-)	+
	++	+++		270(+)	230(+)	
39	-	-	-	310(-)	330(-)	-
	-	-		330(-)	350(-)	
40	-	+	+	310(-)	300(-)	-
	+	++		320(-)	300(-)	
41	-	-	+	330(-)	330(-)	-
	++	+		320(-)	330(-)	
42	-	+	+	300(-)	250(+)	+
	+	++		310(-)	240(+)	
43	+	++	+	320(-)	310(-)	+
	+++	-		250(+)	300(-)	
44	-	-	+	350(-)	330(-)	-
	-	+		350(-)	350(-)	
45	•	+	+	•	290(+)	+
	-	-		320(-)	290(+)	
46	-	-	-	300(-)	310(-)	-
	-	-		320(-)	370(-)	
47	+	+	+	300(-)	290(+)	+
	-	++		310(-)	290(+)	
48	-	-	-	370(-)	350(-)	-
	-	-		370(-)	310(-)	
49	+	++	+	290(+)	250(+)	+
	•	+++		•	240(+)	
50	-	+	+	370(-)	360(-)	-
	+	++		350(-)	350(-)	
51	-	+	+	330(-)	300(-)	-
	+	-		310(-)	310(-)	

Vache	C.M.T. par quartier		C.M.T. par vache	C.E. par quartier		C.E. par vache
	AG	AD		AG	AD	
	PG	PD		PG	PD	
52	-	-	+	320(-)	350(-)	-
	+	+		300(-)	310(-)	
53	-	-	-	340(-)	320(-)	-
	-	-		330(-)	340(-)	
54	++	+	+	300(-)	300(-)	-
	-	+		320(-)	310(-)	
55	-	-	-	340(-)	370(-)	-
	-	-		340(-)	360(-)	
56	+	++	+	290(+)	280(+)	+
	-	-		290(+)	310(-)	
57	+++	-	+	240(+)	330(-)	+
	++	+		260(+)	290(+)	
58	-	-	+	370(-)	350(-)	-
	+	+		340(-)	340(-)	
59	-	-	-	310(-)	320(-)	-
	-	-		310(-)	310(-)	
60	-	+	+	370(-)	340(-)	-
	-	+		370(-)	370(-)	
61	-	-	+	310(-)	320(-)	+
	+	++		300(-)	290(+)	
62	•	+++	+	•	240(+)	+
	++	+		280(+)	290(+)	
63	++	+	+	300(-)	300(-)	+
	++	+		310(-)	280(+)	
64	-	-	-	340(-)	370(-)	-
	-	-		350(-)	340(-)	
65	-	+	+	320(-)	290(+)	+
	-	-		330(-)	340(-)	
66	+	++	+	300(-)	270(+)	+
	+	+		290(+)	290(+)	
67	+++	-	+	230(+)	300(-)	+
	++	+		270(+)	290(+)	
68	-	•	+	360(-)	•	-
	-	+		360(-)	320(-)	

Vache	C.M.T. par quartier		C.M.T. par vache	C.E. par quartier		C.E. par vache
	AG	AD		AG	AD	
	PG	PD		PG	PD	
69	++	+++	+	270(+)	230(+)	+
	+	+++		270(+)	240(+)	
70	-	-	-	290(+)	340(-)	+
	-	-		340(-)	340(-)	
71	+	++	+	360(-)	300(-)	-
	+	++		340(-)	310(-)	
72	-	+	+	320(-)	310(-)	-
	-	-		320(-)	320(-)	
73	-	-	-	350(-)	360(-)	-
	-	-		340(-)	340(-)	
74	-	-	-	320(-)	310(-)	-
	-	-		300(-)	320(-)	
75	-	+	+	320(-)	300(-)	+
	+	-		280(+)	300(-)	
76	+	-	+	300(-)	300(-)	-
	+	-		310(-)	330(-)	
77	-	++	+	310(-)	290(+)	+
	+	++		300(-)	290(+)	
78	-	-	-	350(-)	370(-)	-
	-	-		360(-)	380(-)	
79	-	++	+	290(+)	240(+)	+
	-	++		300(-)	250(+)	
80	-	-	-	300(-)	290(+)	+
	-	-		290(+)	280(+)	
81	+	++	+	320(-)	290(+)	-
	•	-		•	300(-)	

Annexe D

Résultats de comparaison de la méthode testée(C.E) par rapport à la méthode de référence (C.M.T.)

Vache	Résultats de la méthode de référence (C.M.T.)	Résultats de la méthode testée (C.E.)	Résultats de comparaison entre les deux méthodes (C.M.T.) et (C.E.)
1	+	-	FN
2	+	-	FN
3	+	+	VP
4	+	+	VP
5	+	-	FN
6	+	+	VP
7	+	+	VP
8	-	-	VN
9	+	-	FN
10	-	+	FP
11	+	+	VP
12	+	+	VP
13	+	-	FN
14	+	+	VP
15	+	-	FN
16	-	-	VN
17	+	+	VP
18	+	+	VP
19	+	+	VP
20	-	-	VN
21	+	+	VP
22	+	+	VP
23	+	-	FN
24	+	+	VP
25	+	+	VP
26	+	-	FN
27	-	+	FP
28	+	+	VP
29	+	+	VP

30	+	-	FN
31	+	+	VP
32	-	-	VN
33	+	+	VP
34	-	-	VN
35	+	+	VP
36	+	-	FN
37	-	+	FP
38	+	+	VP
39	-	-	VN
40	+	-	FN
41	+	-	FN
42	+	+	VP
43	+	+	VP
44	+	-	FN
45	+	+	VP
46	-	-	VN
47	+	+	VP
48	-	-	VN
49	+	+	VP
50	+	-	FN
51	+	-	FN
52	+	-	FN
53	-	-	VN
54	+	-	FN
55	-	-	VN
56	+	+	VP
57	+	+	VP
58	+	-	FN
59	-	-	VN
60	+	-	FN
61	+	+	VP
62	+	+	VP
63	+	+	VP
64	-	-	VN
65	+	+	VP

66	+	+	VP
67	+	+	VP
68	+	-	FN
69	+	+	VP
70	-	+	FP
71	+	-	FN
72	+	-	FN
73	-	-	VN
74	-	-	VN
75	+	+	VP
76	+	-	FN
77	+	+	VP
78	-	-	VN
79	+	+	VP
80	-	+	FP
81	+	-	FN